

**PENGARUH JENIS CAIRAN PENYARI DALAM
MASERASI TERHADAP KADAR KUMARIN TOTAL
DAN ANALISIS PROFIL KLT-DENSITOMETRI
EKSTRAK BUAH MENKUDU (*Morinda citrifolia* L.)**

**EFFECT OF SOLVENT TYPES EXTRACTED
MACERATION ON THE TOTAL COUMARIN
CONTENT AND ANALYSIS OF TLC-
DENSITOMETRY PROFILE OF NONI FRUIT
EXTRACT (*Morinda citrifolia* L.)**

**JUMASNA
N011 18 1021**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**PENGARUH JENIS CAIRAN PENYARI DALAM MASERASI TERHADAP
KADAR KUMARIN TOTAL DAN ANALISIS PROFIL KLT-
DENSITOMETRI EKSTRAK BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L.)**

**EFFECT OF SOLVENT TYPES EXTRACTED MACERATION ON THE
TOTAL COUMARIN CONTENT AND ANALYSIS OF TLC-
DENSITOMETRY PROFILE OF NONI FRUIT EXTRACT (*Morinda
citrifolia* L.)**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

JUMASNA

N011 18 1021

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**PENGARUH JENIS CAIRAN PENYARI DALAM MASERASI TERHADAP
KADAR KUMARIN TOTAL DAN ANALISIS PROFIL KLT-
DENSITOMETRI EKSTRAK BUAH MENKUDU (*Morinda citrifolia* L.)**


JUMASNA


N011 18 1021

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc. Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001


Dra. Rosany Taveb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002

Pada Tanggal, 03 Februari 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH JENIS CAIRAN PENYARI DALAM MASERASI
TERHADAP KADAR KUMARIN TOTAL DAN ANALISIS PROFIL KLT-
DENSITOMETRI EKSTRAK BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L.)**

**EFFECT OF SOLVENT TYPES EXTRACTED MACERATION ON THE
TOTAL COUMARIN CONTENT AND ANALYSIS OF TLC-
DENSITOMETRY PROFILE OF NONI FRUIT EXTRACT (*Morinda
citrifolia* L.)**

Disusun dan diajukan oleh:


**JUMASNA
N011 18 1021**


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 28/01/2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc. Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001


Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt.
NIP. 19561011 198603 2 002

Plt Kepala Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Firzan Nainu, S.Si., M.Biomed.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19820610 200801 1 012

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini;

Nama : Jumasna
Nim : N011 18 1021
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul “Pengaruh Jenis Cairan Penyari Dalam Maserasi Terhadap Kadar Kumarin Total Dan Analisis Profil Klt-Densitometri Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)” adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 02 Februari 2022

Yang menyatakan,



Jumasna

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang diajukan untuk memenuhi persyaratan untuk menyelesaikan studi dan memperoleh gelar sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.


Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi ini banyak mengalami kendala, namun berkat bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak dan berkah dari Allah SWT sehingga kendala tersebut dapat diatasi. Dengan segala kerendahan hati, ucapan rasa syukur dan terima kasih tak terhingga kepada:

1. Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc. Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Dra. Rosany Tayeb, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, kritik, dan bantuan dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt. dan Bapak Aminullah, S.Si., M.Pharm., Sc., Apt. selaku penguji yang telah memberikan saran untuk perbaikan penelitian ini.
3. Bapak Drs. Syaharuddin, M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah banyak membantu dalam memberikan nasehat selama 3 tahun terakhir dalam penyelesaian studi.
4. Staf Dosen yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan kepada penulis selama mengikuti studi.

5. Ayahanda Arifin dan Ibunda Hasnawati tercinta yang selalu memberikan dukungan dan restunya kepada penulis selama penyusunan skripsi
6. Kak Satria, Kak Darwis, Kak Anggi dan Kak Isto selaku senior Farmasi yang telah banyak memberikan bantuan, saran, dan dukungan dalam penyusunan skripsi.
7. Delly Mayari Devara, Awal Ramdani, Nurul Khafifah, Nurfarhanah, Fitrah Mahardika, Nur Sakinah Yunus, Nur Wilna, dan Geng Mengkudu untuk doa dan semangat yang telah diberikan.
8. Rekan-rekan Korps. Asisten Farmakognosi Fitokimia dan teman Angkatan "GEMF18ROZIL" atas suka cita, solidaritas dan dukungan kepada penulis
9. Semua yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu semoga amal baik akan kembali kepada kalian dan mendapat balasan yang berlipat ganda

Penulis menyadari bahwa ada banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu kritik dan saran senantiasa penulis harapkan demi perbaikan skripsi ini, dan dapat membawa manfaat dalam bidang Farmasi kedepannya.

Makassar, 2 Februari 2022



Jumasma

ABSTRAK

JUMASNA. Pengaruh Jenis Cairan Penyari Dalam Maserasi Terhadap Kadar Kumarin Total Dan Analisis Profil Klt-Densitometri Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) (dibimbing oleh Muhammad Raihan dan Rosany Tayeb).

Buah mengkudu memiliki beberapa senyawa metabolit di dalamnya seperti skopoletin (7-hidroksi-6-metoksi kumarin) yang merupakan golongan kumarin. Skopoletin merupakan kumarin fenolik yang berasal dari jalur fenilpropanoid yang dapat menurunkan tekanan darah. Salah satu hal yang mempengaruhi proses ekstraksi yaitu jenis cairan penyari sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis cairan penyari yang paling tepat dan profil ekstrak buah mengkudu dengan KLT Densitometri terhadap perolehan kadar kumarin totalnya yang dimaserasi dengan beberapa jenis cairan penyari. Ekstraksi dilakukan secara maserasi menggunakan 5 variasi cairan penyari yaitu metanol, etanol, aseton, kloroform dan heksan. Hasil ekstraksi menunjukkan %rendemen sebesar $3,653 \pm 0,518$ %, $3,74 \pm 0,33$ %, $3,81 \pm 0,278$ %, $0,503 \pm 0,015$ %, $0,53 \pm 0,015$ % untuk pelarut metanol, etanol, aseton, kloroform dan heksan. Kadar kumarin total diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} 382,5 nm. Kadar kumarin total pada ekstrak metanol, etanol, aseton, kloroform, dan heksan secara berturut-turut yakni $2,654 \pm 0,386$ mg/g, $3,112 \pm 0,169$ mg/g, $2,740 \pm 0,072$ mg/g, $6,512 \pm 0,059$ mg/g, dan $3,032 \pm 0,300$ mg/g dan perbedaan jenis cairan penyari menunjukkan kadar kumarin total yang berbeda signifikan ($p < 0,05$). Profil ekstrak pada KLT-Densitometri menggunakan PCA (*Principle component analysis*) menunjukkan tiga pengelompokan yang berbeda.

Kata Kunci: Buah mengkudu, kumarin, skopoletin, cairan penyari

ABSTRACT

JUMASNA. Effect Of Solvent Types Extracted Maceration On The Total Coumarin Content And Analysis Of Tlc- Densitometry Profile Of Noni Fruit Extract (*Morinda citrifolia* L.) (Supervised by Muhammad Raihan and Rosany Tayeb).

Noni fruit contain several metabolites, such as scopoletin (7-hydroxy-6-methoxy coumarin) which belong to coumarin group. It is a phenolic coumarin derived from the phenylpropanoid pathway, which can lower blood pressure. Type of solvent is an important parameter that could affect the extraction process, thus this study aimed to determine the most appropriate solvent and the profile of noni fruit extract by TLC Densitometry on the total coumarin recovery levels macerated with several types of solvents. Extraction was carried out by maceration using 5 variations of the solvents, namely methanol, ethanol, acetone, chloroform, and hexane. The obtained extract showed % yield of $3,653 \pm 0,518$ %, $3,74 \pm 0,33$ %, $3,81 \pm 0,278$ %, $0,503 \pm 0,015$ %, $0,53 \pm 0,015$ % for methanol, ethanol, acetone, chloroform, and hexane, respectively. Total coumarin content was measured by UV-vis spectrophotometer using λ_{max} at 382.5 nm. The total coumarin content for methanol, ethanol, acetone, chloroform, and hexane was $2,654 \pm 0,386$ mg/g, $3,112 \pm 0.169$ mg/g, $2,740 \pm 0,072$ mg/g, $6,512 \pm 0.059$ mg/g, and $3,032 \pm 0,300$ mg/g respectively and different type of solvents showed significant difference in total coumarin levels ($p < 0.05$). Extract profile on Extract profile on TLC-Densitometry using PCA (Principal component analysis) showed three different groupings.

Keywords: Noni fruit, coumarin, scopoletin, and solvent

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Mengkudu	5
II.2 Simplisia	7
II.3 Ekstraksi	8
II.4 Skrining Fitokimia	16
II.5 Spektrofotometri UV-Vis	17
II.6 KLT-Densitometri	19
BAB III METODE PENELITIAN	21
III.1 Alat dan Bahan	21
III.2 Metode Penelitian	21

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
BAB V PENUTUP	25
V.1 Kesimpulan	25
V.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	30

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Buah Mengkudu	5
2. Struktur senyawa skopoletin dan skopolin	6
3. Proses maserasi	10
4. Perkolator	11
5. Rangkaian alat refluks	12
6. Rangkaian alat sokhlet	13
7. Rangkaian alat microwave assisted extraction	14
8. Rangkaian alat supercritical fluid extraction	15
9. Rangkaian alat ultrasound assisted extraction	15
10. Rangkaian alat accelerated-assisted extraction	16
11. Diagram skematis spektrofotometer UV-Vis	19

DAFTAR SINGKATAN

μm	= mikrometer
nm	= nanometer
UV	= Ultra Violet
Vis	= Visibel
Bpj	= Bagian Per Juta
KLT	= Kromatografi lapis tipis
AUC	= <i>Area under curve</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja Penelitian	42
2. Panjang Gelombang Maksimum	43
3. Kadar Kumarin Total dan % Rendemen	44
4. Analisis Statistik	46
5. Perhitungan	54
6. Dokumentasi penelitian	61
7. Reaksi	64

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Tanaman mengkudu terutama buahnya memiliki beberapa senyawa metabolit didalamnya, seperti lignan, oligosakarida dan polisakarida, flavonoid, iridoid, asam lemak, katekin, beta sitosterol, damnakantal, alkaloid, antrakuinon, kumarin, fito-sterol, karotenoid, dan monoterpen (Joshi et al., 2021; Potterat and Hamburger, 2007). Adapun golongan kumarin yaitu skopoletin (7-hidroksi-6-metoksi kumarin) yang merupakan kumarin fenolik yang berasal dari jalur fenilpropanoid. Beberapa penelitian melaporkan bahwa kumarin dan turunannya merupakan antikoagulan oral yang utama, salah satunya yaitu skopoletin juga dikenal sebagai kelompok kumarin sederhana yang berasal dari 1,2-benzopiron yang ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi (Firmansyah *et al.*, 2021; Jain dan Joshi, 2012; Li dan Wu, 2016). Aktivitas senyawa skopoletin pada buah mengkudu dilaporkan memiliki efek melebarkan pembuluh darah, dan menurunkan tekanan darah; anti bakteri dan anti jamur; analgesik; penghambat histamin; mengobati rematik; alergi; gangguan tidur; sakit kepala migran; depresi; dan penyakit Alzheimer (Pandiselvi *et al.*, 2019). Selain itu, efek skopoletin dilaporkan dapat mencegah peradangan pada gusi serta sebagai agen teraupetik yang efektif untuk mengatasi peradangan gastro-esofagus, sehingga skopoletin menjadi salah satu metabolit utama pada buah mengkudu yang digunakan

untuk pengobatan gangguan saluran cerna bagian atas (Aldi *et al.*, 2019; Mahattanadul *et al.*, 2011).

Pada proses ekstraksi harus mempertimbangkan jenis cairan penyari yang tepat dengan menerapkan prinsip “*like dissolve like*”, cairan penyari yang polar akan mengekstraksi zat polar dan zat nonpolar dengan cairan penyari non polar (Rasul, 2018). Studi kelarutan terkait skopoletin didapatkan bahwa senyawa ini dapat larut dalam cairan penyari organik seperti aseton, asetonitril, etanol, dimetil sulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), etil asetat, kloroform, metanol, dan n-heksana (Firmansyah *et al.*, 2021; Rahmi *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2016). Selain skopoletin, terdapat jenis kumarin yang lain dalam buah mengkudu yaitu skopolin (Choi *et al.*, 2021). Skopolin merupakan bentuk glikosida dari skopoletin dan berdasarkan penelitian sebelumnya, skopolin telah berhasil diisolasi dari fraksi kloroform:metanol (9:1) (Li dan Wu, 2016; Pan *et al.*, 2009)

Menurut penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa ekstrak buah mengkudu dengan menggunakan etanol 96% diperoleh kandungan skopoletin sebesar $57,94 \pm 0,79$ bpj (Sholehah, 2010). Selain itu pada penelitian lainnya dengan sampel ubi jalar untuk melihat kadar skopoletin, diperoleh bahwa ekstrak etanol memiliki kadar skopoletin tertinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol (Hasanah *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian Muenmuang *et al.* (2017), kandungan senyawa skopoletin tertinggi diperoleh pada ekstrak metanol, kemudian ekstrak etanol dan tidak

ada skopoletin pada ekstrak n-heksan. Penelitian yang dilakukan oleh Khoerun (2021) menunjukkan bahwa cairan penyari seperti aseton, etil asetat, dan n-heksan mampu mengekstraksi senyawa komponen utama (pembanding skopoletin) dalam buah mengkudu, dimana ketiga ekstrak dari cairan penyari tersebut menunjukkan kemiripan profil kimia yang dianalisis secara *Principal Component Analysis (PCA)*.

Metode KLT-Densitometri merupakan salah satu metode instrumental yang dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif, analit KLT-Densitometri dilakukan dengan cara membandingkan nilai R_f analit dan standar. Sedangkan penentuan kuantitatif analit dilakukan dengan cara membandingkan luas area noda analit dengan luas area noda standar pada fase diam yang diketahui konsentrasinya atau menghitung densitas noda analit dan membandingkannya dengan densitas noda standar, sehingga dapat digunakan dalam perhitungan kadar senyawa (Wulandari, 2011).

Sampai saat ini, belum ada data yang menunjukkan pengaruh variasi jenis cairan penyari terhadap kadar kumarin total pada buah mengkudu. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian dengan melihat pengaruh variasi jenis cairan penyari terhadap kadar kumarin total yang dihitung sebagai skopoletin dan analisis profil KLT-Densitometri ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang diekstraksi secara maserasi.

I.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana pengaruh jenis cairan penyari terhadap kadar kumarin total pada buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang diekstraksi secara maserasi?
2. Bagaimana profil ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang dianalisis dengan KLT Densitometri hasil maserasi menggunakan beberapa jenis cairan penyari?

I.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini yaitu :

1. Untuk mengetahui jenis cairan penyari yang paling tepat dalam ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan metode maserasi terhadap perolehan kadar kumarin totalnya.
2. Untuk mengetahui profil ekstrak buah mengkudu dengan KLT-Densitometri yang dimaserasi dengan beberapa jenis cairan penyari.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

II.1.1 Taksonomi Tanaman

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Sub Class	: Sympatalae
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: Morinda
Spesies	: <i>Morinda citrifolia</i> L. (Carrillo Lopez and Yahia, 2011)



Gambar 1. Buah mengkudu
(Sumber: koleksi pribadi)

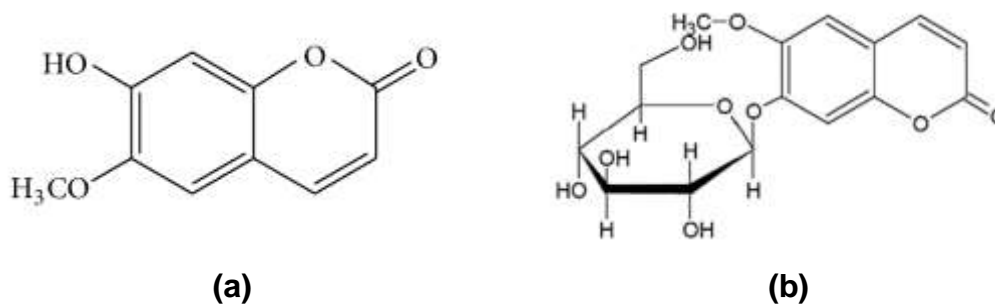
II.1.2 Morfologi Tanaman

Mengkudu termasuk ke dalam pohon ataupun semak dengan tinggi 3 sampai 10 meter. Daun mengkudu berbentuk *opposite* dengan bentuk

pertulangan daun menyirip dan mengkilap. Jenis daun berbentuk elips, panjangnya mencapai 20 – 45 cm, lebar 7- 25 cm. Panjang tangkai daun 1,5 hingga 2 cm. Bunga tanaman ini tergolong bunga sempurna, mahkota bunga berwarna putih. Buah mengkudu berwarna putih kekuningan, berdaging dengan panjang 5-10 cm, diameter sekitar 3-4 cm, lunak dan busuk saat matang (Sharma *et al.*, 2014). Contoh tanaman dapat dilihat pada gambar 1.

II.1.3 Senyawa Fitokimia

Bagian tanaman mengkudu seperti batang, kulit kayu, akar, daun dan buah digunakan secara tradisional. Bagian tanaman ini terutama buahnya dilaporkan memiliki kandungan senyawa alkaloid (xeronin), polisakarida (asam glukoronat, glikosida), skopolin dan skopoletin (Norma Ayunda *et al.*, 2020). Ekstraksi buah mengkudu dengan menggunakan cairan penyari metanol memberikan persentasi skopoletin dan total fenolik tertinggi (Muenmuang *et al.*, 2017). Menurut Mohd Zin *et al.*, (2007) bahwa terdapat senyawa flavonoid dalam ekstrak buah mengkudu yaitu katekin dan epikatekin. Adapun senyawa utama dari mengkudu yaitu skopoletin dan skopolin, struktur senyawa tersebut dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Struktur senyawa skopoletin (a) struktur senyawa skopolin (b)
(Mehul *et al.*, 2011; Pan *et al.*, 2009)

II.1.4 Aktivitas Farmakologi

Hasil penelitian dengan menggunakan ekstrak buah mengkudu terbukti menurunkan tekanan darah tinggi. Ekstrak buah mengkudu dapat menurunkan tekanan darah sistolik dengan rata-rata penurunan tekanan darah sebesar 58,5 mmHg. Ekstrak buah mengkudu mampu menurunkan hipertensi secara signifikan dibandingkan obat antihipertensi (kaptopril), yang dimana didalam buah mengkudu mengandung senyawa aktif yaitu skopoletin. Nilai pengikatan skopoletin memiliki afinitas yaitu -7,6. Sedangkan obat antihipertensi (kaptopril) hanya memiliki nilai afinitas -5,7. Semakin rendah nilai afinitas ikatan maka semakin kuat ikatan senyawa aktifnya ke sel sasaran, sehingga buah mengkudu dapat menjadi alternatif dalam pengobatan hipertensi (Hijriansyah *et al.*, 2020).

Basar *et al.*, (2010), dilaporkan bahwa ekstrak buah mengkudu mengurangi sensitivitas nyeri sebanding dengan obat analgesik seperti tramadol. Ekstrak dari buah mengkudu juga menyebabkan penghambatan pelepasan matrix metalloproteinase-9 dari monosit. Hal ini menunjukkan bahwa buah mengkudu efektif dalam mengurangi rasa sakit dan kerusakan sendi yang disebabkan oleh arthritis. Efek antiinflamasi lainnya dari ekstrak buah mengkudu karena penghambatan siklooksigenase dan lipoksigenase.

II.2 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan apapun. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari,

diangin-anginin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain. Suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60°C (Depkes RI, 2008).

Adapun jenis jenis simplisia antara lain (Depkes RI, 2008) :

1. Simplisia segar adalah bahan alam yang belum dikeringkan.
2. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya atau zat nabati lain yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya.
3. Serbuk simplisia nabati adalah bentuk serbuk dari simplisia nabati dengan ukuran derajat kehalusam tertentu. Sesuai dengan derajat kehalusannya, dapat berupa serbuk sangat kasar, kasar, agak kasar, halus dan sangat halus.
4. Serbuk simplisia nabati tidak boleh mengandung fragmen jaringan dan benda asing yang bukan merupakan komponen asli dari simplisia yang bersangkutan antara lain telur nematoda, bagian dari serangga dan hama serta sisa tanah

II. 3. Ekstraksi

II.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut

dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Zhang *et al.*, 2018).

Tujuan dari suatu proses ekstraksi adalah untuk memperoleh suatu bahan aktif yang tidak diketahui, memperoleh suatu bahan aktif yang sudah diketahui, memperoleh sekelompok senyawa yang struktur sejenis, memperoleh semua metabolit sekunder dari suatu bagian tanaman dengan spesies tertentu, mengidentifikasi semua metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu makhluk hidup sebagai penanda kimia atau kajian metabolisme (Endarini, 2016). Ekstraksi bahan alam berlangsung melalui tahapan berikut:

1. Pelarut menembus ke dalam padatan matriks;
2. Zat terlarut larut dalam pelarut;
3. Zat terlarut terdifusi keluar dari matriks padat;
4. Zat terlarut yang diekstraksi dikumpulkan (Zhang *et al.*, 2018).

II.3.2 Metode Ekstraksi

II.3.2.1 Metode Dingin

1. Maserasi

Metode maserasi merupakan metode yang dilakukan perendaman pada bagian tanaman secara utuh atau yang sudah digiling kasar dengan pelarut dalam bejana tertutup pada suhu kamar selama sekurang-kurangnya 3 hari dengan pengadukan berkali-kali sampai semua bagian tanaman yang dapat larut melarut dalam cairan pelarut. Pelarut yang digunakan adalah alkohol atau kadang-kadang juga air. Campuran ini

kemudian disaring dan ampas yang diperoleh dipress untuk memperoleh bagian cairnya saja. Cairan yang diperoleh kemudian dijernihkan dengan penyaringan atau dekantasi setelah dibiarkan selama waktu tertentu. Keuntungan proses maserasi diantaranya adalah bahwa bagian tanaman yang akan diekstraksi tidak harus dalam wujud serbuk yang halus, tidak diperlukan keahlian khusus dan lebih sedikit kehilangan alkohol sebagai pelarut seperti pada proses perkolasi atau sokhletasi. Sedangkan kerugian proses maserasi adalah perlunya dilakukan penggojogan/pengadukan, pengepresan dan penyaringan, terjadinya residu pelarut di dalam ampas, serta mutu produk akhir yang tidak konsisten (Endarini, 2016). Metode ini paling cocok untuk digunakan dalam kasus senyawa kimia tumbuhan yang tidak tahan panas (termolabil) (Julianto, 2019).

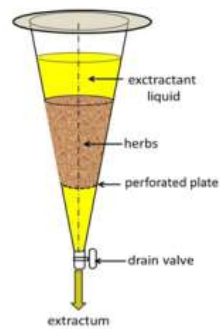


Gambar 3. Proses Maserasi (Julianto, 2019)

2. Perkolasi

Perkolasi adalah prosedur yang paling sering digunakan untuk mengekstrak bahan aktif dalam tumbuhan. Sebuah perkolator adalah wadah sempit berbentuk kerucut terbuka di kedua ujungnya. Sampel tumbuhan padat dibasahi dengan sejumlah pelarut yang sesuai dan

dibiarkan selama kira-kira 4 jam dalam wadah tertutup. Selanjutnya bagian atas perkolator ditutup. Pelarut ditambahkan hingga merendam sampel. Campuran sampel dan pelarut dapat dimaserasi lebih lanjut dalam wadah percolator tertutup selama 24 jam. Saluran keluar perkolator kemudian dibuka dan cairan yang terkandung di dalamnya dibiarkan menetes perlahan. Pelarut dapat ditambahkan sesuai kebutuhan, sampai ukuran perkolasi sekitar tiga perempat dari volume yang diperlukan dari produk jadi (Juliando, 2019)

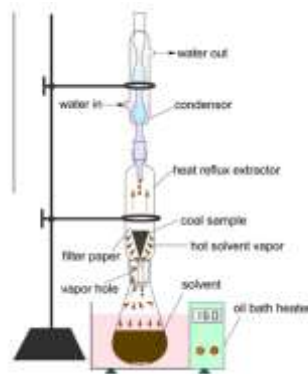


Gambar 4. Perkolator (Juliando, 2019)

II.3.2.2 Metode Panas

1. Refluks

Ekstraksi dengan metode reflux lebih efisien daripada perkolasi atau maserasi dan membutuhkan waktu ekstraksi dan pelarut yang lebih sedikit. Metode ini tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang termolabil (Zhang *et al.*, 2018). Metode refluks merupakan metode dimana sampel dimasukkan bersama dengan pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap akan terkondensasi dan kembali ke dalam labu (Seidel, 2006)

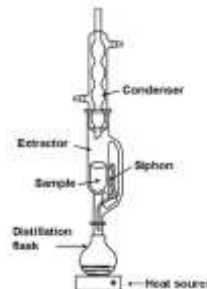


Gambar 5. Rangkaian Alat Refluks (Tian *et al.*, 2016)

2. Sokhletasi

Pada ekstraksi secara sokhletasi, bagian tanaman yang sudah digiling halus dimasukkan ke dalam kantong berpori (*thimble*) yang terbuat dari kertas saring yang kuat dan dimasukkan ke dalam alat sokhlet untuk dilakukan ekstraksi. Pelarut yang ada dalam labu akan dipanaskan dan uapnya akan mengembun pada kondenser. Embunan pelarut ini akan merayap turun menuju kantong berpori yang berisi bagian tanaman yang akan diekstrak. Kontak antara embunan pelarut dan bagian tanaman ini menyebabkan bahan aktif terekstraksi. Ketika ketinggian cairan dalam tempat ekstraksi meningkat hingga mencaapai puncak kapiler maka cairan dalam tempat ekstraksi akan tersedot mengalir ke labu selanjutnya. Proses ini berlangsung secara terus-menerus (kontinyu) dan dijalankan sampai tetesan pelarut dari pipa kapiler tidak lagi meninggalkan residu ketika diuapkan. Keuntungan dari proses ini jika dibandingkan dengan proses-proses yang telah dijelaskan sebelumnya adalah dapat mengekstrak bahan aktif dengan lebih banyak walaupun menggunakan pelarut yang lebih sedikit.

Hal ini sangat menguntungkan jika ditinjau dari segi kebutuhan energi, waktu dan ekonomi (Endarini, 2016).



Gambar 6. Rangkaian Alat Sokhlet (Luque dan Priego, 2010)

3. Infusa

Infusa dibuat dengan maserasi bagian tanaman dengan air dingin atau air mendidih dalam jangka waktu yang pendek. Pemilihan suhu infus tergantung pada ketahanan senyawa (Endarini, 2016). Cara ini sesuai untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun (Hanani, 2015).

4. Dekokta

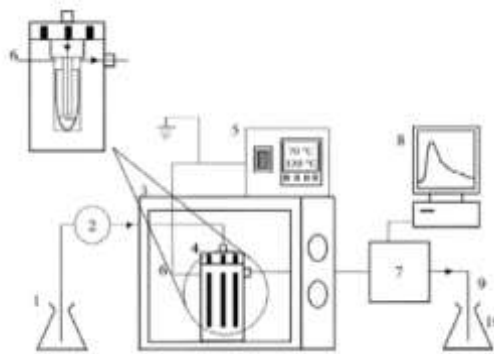
Pada proses dekoksi, bagian tanaman yang berupa batang, kulit kayu, cabang, ranting, rimpang atau akar direbus dalam air mendidih dengan volume dan selama waktu tertentu kemudian didinginkan dan ditekan atau disaring untuk memisahkan cairan ekstrak dari ampasnya. Proses ini sesuai untuk mengekstrak bahan bioaktif yang dapat larut dalam air dan tahan terhadap panas (Endarini, 2016).

II.3.2.3 Metode Ekstraksi Modern

1. *Microwave-assisted extraction*

Pada metode ini, energi gelombang elektromagnetik diserap oleh material dan diubah menjadi energi panas. Energi gelombang mikro berkisar

300 MHz hingga 300 GHz. Untuk tujuan ekstraksi, kadar air pada sampel akan menjadi panas karena adanya gelombang mikro dan tekanan didalam meningkat. Tekanan diberikan pada dinding sel tumbuhan dan menyebabkan pembengkakan sel sehingga akan menyebabkan pecahnya sel karena komponen yang terdapat didalam sel akan terekstraksi oleh pelarut. Adapun factor yang mempengaruhi ekstraksi dengan metode ini yaitu pelarut, waktu ekstraksi, daya microwave, suhu dan tekanan (Patel *et al.*, 2019)



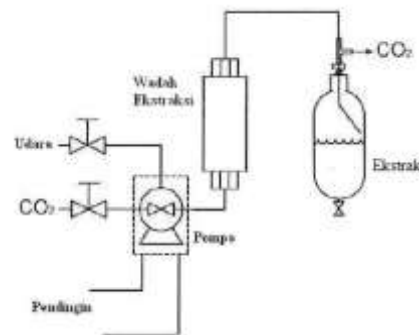
Gambar 7. Apparatus *Microwave Assited Extraction* (Chaturvedi, 2018)

1-Pelarut, 2-Pompa, 3-Oven microwave, 4-Ekstraksi, 5-Pengontrol suhu, 6-Termokopel, 7-Deteksi fluoresensi, 8-regesterasi, 9-Ristrictor, 10- Ekstraktor

2. *Supercritical Fluid Extraction* (SFC)

Metode ini memiliki kelebihan seperti dapat menghilangkan pelarut organik yang dapat menjadi resiko dalam penyimpanan. Selain itu, metode ini cocok untuk ekstraksi atau pemurnian senyawa yang memiliki volatilitas yang rendah, dan SFC memiliki keuntungan rentan akan degradasi termal (Kondiris operasi rendah). Namun adapun kelemahannya seperti waktu yang lama, harus skala besar, pembersihan memakan waktu yang lam dan kompresi pelarut rumit (Patel *et al.*, 2019). Adapun gas yang digunakan dalam metode ini seperti karbon dioksida, nitrogen, metana, etana, etilen,

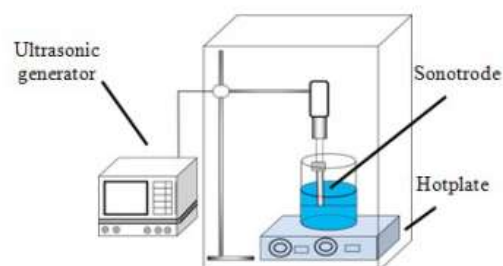
nitrogen oksida, sulfur dioksida, propana, propilena, amonia dan sulfur heksafluorida digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif dalam tumbuhan. (Juliando, 2019).



Gambar 8. Rangkaian Alat *Supercritical Fluid Extraction* (Juliando, 2019)

3. *Ultrasound-Assisted Extraction (Sonication)*

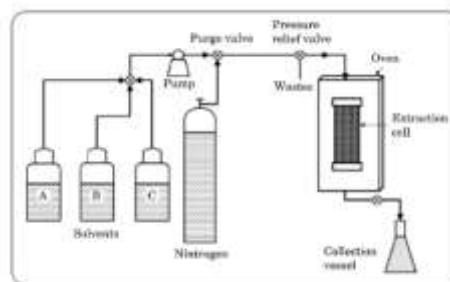
Proses pada metode ini melibatkan penggunaan ultrasound dengan frekuensi mulai dari 20KHz hingga 2000 KHz, hal ini meningkatkan permeabilitas sel. Keuntungan metode ini yaitu meningkatkan hasil ekstraksi kinetika lebih cepat, dan terjadi pengurangan suhu operasi dimana memungkinkan untuk mengekstraksi senyawa termolabil. Bahan yang digunakan sedikit, efisien dan meminimalkan penggunaan pelarut (Patel *et al.*, 2019).



Gambar 9. Rangkaian Alat *Ultrasound Assisted Extraction* (Juliando, 2019)

4. *Acelarated-assisted extraction*

Dalam teknik ekstraksi pelarut dipercepat, pelarut digunakan pada suhu tinggi dan tekanan untuk menjaga pelarut dalam bentuk cair selama proses ekstraksi. Karena suhu tinggi kapasitas pelarut untuk melarutkan analit meningkat dan dengan demikian tingkat difusi meningkat. Selanjutnya, suhu yang lebih tinggi mengurangi viskositas dan pelarut dapat dengan mudah menembus pori-pori matriks. Pelarut bertekanan memungkinkan kontak lebih dekat dengan analit dan pelarut. Namun, metode ini menggunakan lebih sedikit waktu dan lebih sedikit jumlah pelarut untuk ekstraksi bahan aktif. Keuntungan dari metode ini adalah ekstraksi untuk ukuran sampel 1-100g dalam menit, pengurangan pelarut dramatis dan berbagai aplikasi dan penanganan matriks asam dan basa (Julianto, 2019).



Gambar 10. Rangkaian Alat *Acelarated-assisted extraction* (Julianto, 2019)

II.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan dalam penelitian fitokimia. Secara umum dapat dikatakan bahwa metodenya sebagian besar merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna. Skrining

fitokimia merupakan langkah awal yang dapat membantu. Metode yang digunakan pada skrining fitokimia seharusnya memenuhi beberapa kriteria berikut, antara lain adalah sederhana, cepat, hanya membutuhkan peralatan sederhana, khas untuk satu golongan senyawa, memiliki batas limit deteksi yang cukup lebar (dapat mendeteksi keberadaan senyawa meski dalam konsentrasi yang cukup kecil). Salah satu hal penting yang berperan dalam prosedur skrining fitokimia adalah pelarut untuk ekstraksi. Sering muncul kesulitan jika pemilihan pelarut hanya didasarkan pada ketentuanderajat kelarutan suatu senyawa yang diteliti secara umum. Hal itu disebabkan karena hadirnya senyawa-senyawa dari golongan lain dalam tanaman tersebut yang akan berpengaruh terhadap proses kelarutan senyawa yang diinginkan. Setiap tanaman tentunya memiliki komposisi kandungan yang berbeda-beda sehingga kelarutan suatu senyawa juga tidak bisa ditentukan secara pasti. Kesulitan lain pada proses skrining fitokimia adalah adanya hasil positif yang palsu. Jadi komposisi campuran senyawa yang terkandung dalam tanaman dapat memberikan hasil positif meskipun senyawa yang diuji tidak terkandung dalam tanaman tersebut. Atau kemungkinan yang lain, karena campuran beberapa warna hasil reaksi dari golongan senyawa-senyawa lain dengan pereaksi yang digunakan yang pada akhirnya akan memberikan hasil positif (Endarini, 2016).

II.5 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis dapat dilakukan untuk analisis kualitatif dan untuk identifikasi kelas tertentu dari senyawa dalam campuran murni dan

biologis. Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kuantitatif karena molekul-molekul aromatik adalah kromofor kuat dalam rentang UV (Juliando, 2019). Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-750 nm (Marzuki, 2019).

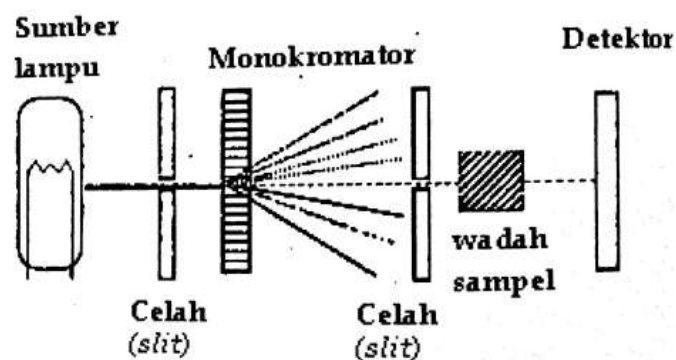
Penyerapan (absorpsi) sinar UV dan sinar tampak pada umumnya dihasilkan oleh eksitasi elektron-elektron ikatan, akibatnya panjang gelombang pita yang mengabsorpsi dapat dihubungkan dengan ikatan yang mungkin ada dalam suatu molekul. Ada tiga macam proses penyerapan energi ultraviolet dan sinar tampak yaitu: (1) penyerapan oleh transisi elektron ikatan dan elektron anti ikatan; (2) penyerapan oleh transisi electron d dan f dari molekul kompleks; dan (3) penyerapan oleh perpindahan muatan (Gandjar dan Rohman, 2007).

Adapun komponen-komponen dari spektrofotometer UV-Vis adalah sebagai berikut (Gandjar dan Rohman, 2007):

- a. Sumber-sumber lampu; lampu deuterium digunakan untuk daerah UV pada Panjang gelombang dari 190-350 nm, sementara lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten digunakan untuk daerah visible (pada Panjang gelombang antara 350- 850 nm)
- b. Monokromator; digunakan untuk mendispersikan sinar kedalam komponen-komponen panjang gelombangnya yang selanjutnya akan dipilih oleh celah (slit). Monokromator berputar sedemikian rupa

sehingga kisaran panjang gelombang dilewatkan pada sampel sebagai scan instrument melewati spektrum.

- c. Optik-optik dapat didesain untuk memecah sumber sinar sehingga sumber sinar melewati dua kompartemen, dan sebagaimana dalam spektrofotometer berkas ganda (*double beam*) suatu larutan blanko dapat digunakan dalam satu kompartemen untuk mengoreksi pembacaan atau spektrum sampel.



Gambar 11. Diagram skematis spektrofotometer UV-Vis (Marzuki, 2019)

II.5 KLT-Densitometri

Mode densitometer ada dua yaitu mode reflektan (remisi) dan transmittan. Mode reflektan bisa digunakan pada rentang spektral UV/Vis, fluoresensi dan peredaman fluoresensi. Spektral visual (400-800 nm) menggunakan lampu halogen dan tungsten, sedangkan pada spektral UV (190-400 nm) menggunakan lampu deuterium dan xenon. Untuk spektral fluoresensi digunakan lampu merkuri (Wulandari, 2011).

Densitometri merupakan metode analisis instrumental penentuan analit secara kualitatif maupun kuantitatif berdasarkan interaksi radiasi elektromagnetik (REM) dengan noda analit pada fase diam KLT. Metode ini

biasa disebut metode KLT-Densitometri. Penentuan kualitatif analit KLT-Densitometri dilakukan dengan cara membandingkan nilai R_f analit dan standart. Dari noda analit yang memiliki R_f sama dengan standart diidentifikasi kemurnian analit dengan cara membandingkan spektrum densitometri analit dan standart. Sedangkan penentuan kuantitatif analit dilakukan dengan cara membandingkan luas area noda analit dengan luas area noda standart pada fase diam yang diketahui konsentrasinya atau menghitung densitas noda analit dan membandingkannya dengan densitas noda standart. Interaksi radiasi elektromagnetik (REM) merupakan intensitas cahaya yang mengenai molekul senyawa dalam noda. Interaksi radiasi elektromagnetik dengan noda pada fase diam KLT menentukan intensitas cahaya yang diabsorpsi, ditransmisi, dipantulkan (refleksi) oleh noda analit dari intensitas REM semula. Apabila pada fase diam tidak ada noda, maka cahaya yang jatuh akan dipantulkan kembali. Tetapi jika cahaya tersebut dijatuhkan pada pelat yang terdapat noda dari suatu senyawa, maka sebagian cahaya akan diserap dan intensitas yang dipantulkan akan berbeda dengan intensitas cahaya yang datang (Wulandari, 2011).