# OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI DAUN BENALU (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.) YANG TUMBUH DARI BEBERAPA INANG POHON DENGAN METODE ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS OF MISTLETOE LEAVES (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.) THAT GROWED FROM SOME TREES WITH ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION

MUH. IRFAN N011 18 1305



PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR 2022

# OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI DAUN BENALU (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) YANG TUMBUH DARI BEBERAPA INANG POHON DENGAN METODE *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION*

# OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS OF *MISTLETOE* LEAVES (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) THAT GROWED FROM SOME TREES WITH ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION

**SKRIPSI** 

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

MUH. IRFAN N011 18 1305

PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR 2022

#### OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI DAUN BENALU (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.) YANG TUMBUH DARI BEBERAPA INANG POHON DENGAN METODE ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION

MUH. IRFAN N011 18 1305

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. NIP. 19641231 199002 1 005

Prof. Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.

NIP. 19750925 200112 1 002

25 Mei Pada Tanggal, \_

#### LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI DAUN BENALU (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) YANG TUMBUH DARI BEBERAPA INANG POHON DENGAN METODE *ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION* 

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS OF MISTLETOE LEAVES (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.) THAT GROWED FROM SOME TREES WITH ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION

Disusun dan diajukan oleh:

MUH. IRFAN N011 18 1305

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

pada tanggal \_\_\_\_\_ 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.

NIP. 19641231 199002 1 005

Prof. Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.

NIP. 19750925 200112 1 002

s Ketua Program Studi S1 Farmasi,

Eakultes Farmasi Universitas Hasanuddin

Numasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.

NIP. 19860116 201012 2 009

### PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini;

Nama

: Muh. Irfan

Nim

: N011 18 1305

Program Studi

: Farmasi

Jenjang

: S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Optimasi Proses Ekstraksi Daun Benalu (*Dendrophthoe Pentandra* (L.) Miq.) Yang Tumbuh Dari Beberapa Inang Pohon Dengan Metode *Ultrasonic Assisted Extraction*" 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, 25 Met 2022

Yang menyatakan,

Muh. Irfan

JX831556820

#### **UCAPAN TERIMA KASIH**

Allah Subhanahu wa Ta'ala, kita memuji-Nya, memohon pertolongan-Nya, meminta ampunan-Nya dan memohon perlindunya-Nya dari kejahatan diri kita, dan keburukan perbuatan kita. Barangsiapa yang diberi petunjuk oleh Allah, tak seorangpun yang dapat menyesatkannya, dan barangsiapa yang disesatkan oleh Allah, maka tak seorangpun yang dapat memberinya petunjuk. Kami bersaksi, tiada ilah yang berhak diibadahi dengan benar melainkan Allah Subhanahu wa Ta'ala, dan tiada sekutu bagi-Nya. Kami bersaksi bahwa Nabi Muhammad adalah hamba dan utusan-Nya. Shalawat serta salam semoga tetap tercurah kepada beliau, keluarga beliau, sahabat beliau, dan orang-orang yang mengikuti beliau dengan baik sampai hari kiamat. Puji dan syukur yang sebesar-besarnya penulis panjatkan karena atas berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak kesulitan yang dihadapi, dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dukungan dari berbagai pihak. Peneliti banyak menerima bimbingan, petunjuk dan bantuan serta dorongan dari berbagai pihak baik yang bersifat moral maupun material. Rasa syukur, ucapan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini:

- Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Prof. Subehan, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing pendamping yang yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, serta memberikan arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.
- 2 Bapak Drs. Syaharuddin Kasim., M.Si., Apt. Ibu Yayu Mulsiani Evary, S.Si, M.Pharm.Sc, Apt. selaku penguji yang memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini.
- Dra. Rosany Tayeb S.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama proses menyelesaikan studi di fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
- Sahabat-sahabatku Sarman, Awal, Asti, Fiqri, Ainun, Acce, Nabila,
   Risman, Nirma, dan Indas untuk memberikan dukungan, semangat
   kepada penulis dalam mengerjakan skripsi.
- Teman seperjuangan penelitian Optimasi Proses Ekstraksi Daun Benalu Hartina Ridwan.
- 6. Kakak-kakak KEMAFAR yang sudah memberikan ilmunya dan membantu penulis, khususnya kak Satria Astazaury, kak Budiman Yasir, kak Iswanto, kak Hasriandi dan kak Indhira.
- 7. Teman-teman angkatan "GEMF18ROZIL" atas kebersamaan yang kalian berikan selama penulis berada di bangku perkuliahan, melewati suka dan duka dalam perkuliahan dan berjuang untuk meraih mimpi masing masing.

 Semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat disebutkan satu persatu

Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya khususnya kepada orang tua penulis yaitu Bapak Muh. Dahir dan Ibu Indo Ati dan keluarga penulis yang selalu memberikan dukungan, motivasi, kasih sayang, ridhonya serta doa yang tulus yang selalu mengiringi langkah penulis.

Makassar, 25 Mei 2022

Muh. Irfan

#### **ABSTRAK**

**MUH. IRFAN.** Optimasi Proses Ekstraksi Daun Benalu (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.) Yang Tumbuh Dari Beberapa Inang Pohon Dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (dibimbing oleh Gemini Alam dan Subehan)

Benalu (Dendrophthoe pentandra L. Mig.) merupakan salah satu tanaman parasit yang berasal dari suku Loranthaceae. Namun, memiliki banyak manfaat, diantaranya sebagai obat antikanker, hipertensi, diuretik, diabetes, infeksi kulit dan batuk. Penelitian ini untuk menentukan rasio pelarut dan waktu ekstraksi yang optimal dalam penentuan kadar flavonoid total dari D. pentandra yang tumbuh pada inang pohon coklat, jeruk nipis dan mangga. Penelitian ini memvariasikan rasio pelarut (1:10, 1:20: 1:30) dengan waktu ekstraksi (15, 30, 45 menit). Penentuan kondisi ekstraksi dengan menggunakan desain faktorial dengan menggunakan aplikasi minitab 18. Berdasarkan hasil analisis response surface methodology (RSM), faktor rasio pelarut dan waktu ekstraksi ultrasonic assisted extraction (UAE) berpengaruh terhadap kadar flavonoid total. Kondisi ekstraksi UAE Dendrophthoe pentandra pada inang coklat, jeruk nipis dan mangga terbaik berturut-turut diperoleh pada rasio pelarut 1:34, 1:34 dan 1 : 6 dengan waktu ekstraksi 49, 51 dan 51 menit menghasilkan kadar flavonoid sebesar 22, 20 dan 28 µg/mg. Hasil analisis profil senyawa metabolit sekunder menggunakan metode KLT densitometri didapatkan untuk masing-masing sampel pada UV 254 menunjukkan kesamaan yang signifikan pada Dendrophthoe pentandra inang coklat Dendrophthoe pentandra inang mangga dan jeruk nipis pada profil KLT yang dihasilkan, sedangkan pada UV 366 menunjukkan kesamaan yang tinggi pada Dendrophthoe pentandra inang mangga dengan D. pentandra inang coklat dan jeruk nipis. Berdasarkan hasil identifikasi golongan senyawa kimia Dendrophthoe pentandra dari dari inang coklat, jeruk nipis dan mangga diketahui memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid dan triterpenoid.

Kata Kunci : Dendrophthoe pentandra, Flavonoid Total, Ultrasonic assisted extraction

#### **ABSTRACT**

**MUH. IRFAN**. Optimization Of The Extraction Process Of *Mistletoe* Leaves (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) That Growed From Some Trees With *Ultrasonic Assisted Extraction* (supervised by Gemini Alam and Subehan)

Mistletoe (Dendrophthoe pentandra L. Miq.) is a parasitic plant originating from the Loranthaceae tribe. However, it has many benefits, including as an anticancer drug, hypertension, diuretic, diabetes, skin infections, and coughs. This research was to determine the optimal solvent ratio and extraction time in determining the total flavonoid content of D. pentandra growing on cacao, lime, and mango tree hosts. This study varied the solvent ratio (1:10, 1:20:1:30) with the extraction time (15, 30, 45 minutes). Determination of the extraction conditions using a factorial design using the Minitab 18 application. Based on the results of the response surface methodology (RSM) analysis, the solvent ratio factor and the ultrasonicassisted extraction (UAE) extraction time affect the total flavonoid content. The best extraction conditions for UAE Dendrophthoe pentandra on cocoa, lime, and mango were obtained at a solvent ratio of 1: 34, 1: 34, and 1: 6 with extraction times of 49, 51, and 51 minutes producing flavonoid levels of 22, 20 and 28 g/mg. The results of the profile analysis of secondary metabolites using the densitometric TLC method were obtained for each sample at UV 254 showing a significant similarity in Dendrophthoe pentandra host chocolate with Dendrophthoe pentandra host mango and lime in the resulting TLC profile, while at UV 366 it showed high similarity. on Dendrophthoe pentandra host mango with D. pentandra host chocolate and lime. Based on the results of the identification of the chemical compound Dendrophthoe pentandra from cocoa, lime, and mango, it is known that they contain alkaloids, flavonoids, phenolic compounds, steroids, and triterpenoids.

Keywords: *Dendrophthoe pentandra*, Total Flavonoids, Ultrasonic assisted extraction

# **DAFTAR ISI**

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	х
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR SINGKATAN	XV
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
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 Uraian Tumbuhan	5
II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan	5
II.1.2 Morfologi Tumbuhan	6
II.1.3 Nama Daerah	6
II.1.4 Kandungan Kimia	6
II.1.4 Kegunaan	7
II.2 Simplisia	8
II.3 Ekstraksi	9
II.3.1 Pengertian Ekstraksi	9

II.3.2 Metode Ekstraksi	9
II.3.2.1 Cara Dingin	10
II.3.2.2 Cara Panas	11
II.3.2.3 Cara Modern	12
II.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	14
II.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri	15
II.6 Spektrofotometri UV-Vis	16
II.6.1 Pengertian Spektrofotometer UV-Vis	16
II.6.2 Tipe-Tipe Spektrofotometri UV-Vis	17
II.7 Response Surface Methodology	18
BAB III METODE PENELITIAN	20
III.1 Alat dan Bahan	20
III.2 Determinasi Tumbuhan	20
III.3 Metode Kerja	20
III.3.1 Penyiapan Sampel	20
III.3.2.2 Ekstraksi	21
III.3.4 Penentuan Kadar Flavonoid Total	21
BAB IV Hasil Dan Pembahasan	22
IV.1 Determinasi Tumbuhan	22
IV.2 Ekstraksi	23
IV.3 Response Surface Analysis	23
IV 3.2 Hasil analisis kadar flavonoid total ekstrak daun <i>D. nentandra</i>	23

BAB V PENUTUP	26
V.1 Kesimpulan	26
V.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	32

# **DAFTAR GAMBAR**

Gambar		Halaman
1.	Benalu <i>D. pentandra</i>	5
2.	Diagram alat spektrofotometer UV-Vis (Single-beam)	17
3.	Diagram alat spektrofotometer UV-Vis (Double-beam)	18
4.	Pareto chart kadar flavonoid total	23

### **DAFTAR SINGKATAN**

GF<sub>254</sub> = Gypsum Fluoresence 254 nm

IC50 = *inhibitory* concentration 50

kHz = kilo hertz

KLT = Kromatografi Lapis Tipis

μg/m = mikrogram per milliliter

MAE = microwave assisted extraction

nm = nanometer

p.a. = pro analysis

ppm = Parts per million

Rf = Retardation factor

SFE = supercritical fluid extraction

TLC = Thin Layer Chromatoghraphy

UAE = Ultrasonic- assisted extraction

UV = Ultra Violet

Vis = Visible

# **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran		Halaman	
1.	Dokumentasi Kegiatan	32	
2.	Perhitungan	35	

#### BAB I

#### PENDAHULUAN

#### I.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan tingkat keberagaman hayati yang tinggi. Berbagai jenis tanaman telah digunakan dalam pembuatan obat baik itu dengan cara dikonsumsi langsung ataupun diolah terlebih dahulu atau dicampur dengan bahan lainnya lalu digunakan. World Healthy Organization (WHO) menyatakan bahwa 80% umat manusia memelihara kesehatan tubuhnya dengan mengkonsumsi bahan obat dari tumbuhan, salah satunya adalah daun benalu (Dendrophthoe pentandra L. Miq.) (Nurhidayat, 2006; Yulianti dkk. 2016).

Benalu merupakan tumbuhan parasit yang dianggap merugikan manusia karena dapat membunuh tanaman inang pohon. Namun, dalam beberapa penelitian *D. pentandra* memiliki kandungan senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas anti kanker. Sehingga tumbuhan ini dikenal sebagai tumbuhan epifit semiparasit (Ikawati dkk. 2008; Diba dkk, 2019). Daun *D. pentandra* memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai obat batuk, gatalgatal, kanker, diuretik, penghilang nyeri dan perawatan setelah persalinan (Nirwana, 2015). Berdasarkan penelitian Kristiningrum (2020), daun *D. pentandra* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid dan terpenoid. Penelitian lain menunjukkan ekstrak etanol daun *D. pentandra* pada inang pohon mangga mengandung senyawa polifenol, tanin, flavonoid, steroid,

terpenoid, dan kuinon (Nurfaat dan Indriyanti, 2016). Kandungan senyawa flavonoid dalam tanaman obat telah dibuktikan oleh beberapa literatur memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, antiradang, antivirus, antialergi dan anti kanker (Yulianti dkk, 2016). IC<sub>50</sub> ekstrak etanol daun *D. pentandra* dari inang pohon jeruk nipis dengan konsentrasi 417,5 μg/mL mampu menghambat pertumbuhan sel kanker T47D. Senyawa yang memiliki peran aktivitas sitotoksik yaitu flavonoid, tannin, dan triterpenoid (Diba dkk, 2019).

Pada penelitian ini digunakan metode ekstraksi menggunakan ultrasonik yang dikenal dengan *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE). Kelebihan dari metode UAE ini yaitu senyawa organik pada tanaman dapat berlangsung lebih cepat karena memanfaatkan gelombang ultrasonik, yaitu gelombang suara dengan frekuensi lebih besar dari ≥ 20 kHz membantu pemecahan dinding sel dari bahan sehingga kandungan senyawa yang terkandung di dalam sel dapat keluar dengan mudah. Ekstraksi dengan metode ultrasonik banyak yang dipilih untuk ekstraksi bahan alam karena lebih praktis, waktu yang bisa dipercepat serta tidak memerlukan bantuan pemanasan (Zou dkk, 2014). Kandungan senyawa flavonoid pada suatu ekstrak bergantung pada proses ekstraksi dan komposisi senyawa kimia dalam sel tanaman, maka diperlukan proses ektraksi yang tepat, serta untuk penggunaan pelarut serta waktu yang optimum. Pada penelitian Salisova dkk. (1997) yang membandingkan antara metode konvensional dan metode modern yaitu UAE dalam ekstraksi senyawa aktif menunjukkan

bahwa ekstraksi UAE lebih efektif karena efisiensi ekstraksi lebih tinggi dan waktu ekstraksi lebih singkat dibanding metode konvensional.

Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi daun *D. pentandra* adalah etanol, pelarut dikarenakan memiliki polaritas yang universal sehingga mengikat lebih banyak senyawa antidiabetes pada daun *D. pentandra* dan memiliki efek inhibisi alfa glukosidase yang lebih besar dibanding pelarut non polar (Fitrilia dkk, 2015). Daun *D. pentandra* telah diuji mampu menghambat enzim alfa glukosidase yang kemudian akan menurunkan kadar glukosa darah postprandial sehingga berpotensi sebagai antidiabetes (Sinulingga dkk, 2020).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah dilaporkan bahwa ekstrak etanol daun *D. pentandra* dari inang pohon coklat, jeruk dan mangga memiliki aktivitas yang luas. Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut mengenai optimasi dari sampel *D. pentandra* yang berasal dari inang pohon berbeda. sehingga potensi tumbuhan ini sebagai bahan baku obat dapat lebih dikembangkan dengan maksimal. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian dengan optimasi proses ekstraksi UAE pada masing-masing simplisia daun *D. pentandra* dari inang pohon coklat, jeruk dan mangga untuk menentukan parameter yang optimum dalam memperoleh senyawa flavonoid total dari ekstrak yang dihasilkan.

#### I.2 Rumusan Masalah

Apakah kombinasi dari parameter rasio pelarut sampel, serta lama ekstraksi daun *D. pentandra* dari inang pohon coklat, jeruk dan mangga dengan menggunakan metode ekstraksi UAE dapat menghasilkan senyawa flavonoid total yang optimum dengan pendekatan *Response Surface Methodology.* 

#### I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui parameter optimum dari rasio pelarut dengan sampel, serta lama ekstraksi pada proses ekstraksi daun *D. pentandra* dari inang pohon coklat, jeruk dan mangga dengan menggunakan metode ekstraksi UAE dengan pendekatan *Response Surface Methodology*.

#### **BAB II**

#### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Uraian Tumbuhan**

#### II.1.1 Klasifikasi

Klasifikasi D. pentandra sebagai berikut (Sandika, 2017) :

Divisio : Magnoliophyta

Classis : Magnoliopsida

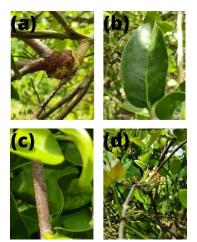
Subclass : Rosidae

Ordo : Santalales

Familia : Loranthaceae

Genus : Dendrophthoe

Species : D. pentandra (L.) Miq



Gambar 1. Benalu (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) (a) akar, (b) daun, (c) batang, dan (d) bunga (koleksi sendiri)

#### II.1.2 Morfologi Tanaman

D. pentandra bersifat hemiparasit, perawakan tumbuhan perdu, bercabang banyak, agak tegak, tinggi 0,5-1,5.Daun menjorong dan tersebar, panjang 6-13 cm dengan lebar 1,5-8 cm, pangkal membajimenirus, ujung meruncing, panjang tangkai daun 5-20 mm, panjang tangkai daun 5-20 mm. Perbungaan tandan dengan 6-12 bunga. Bunga dengan 1 braktea di pangkal, biseksual, mahkotabunga terdiri atas 5, panjang 13-26 mm, menyempit membentuk leher, bagian ujung mengganda, mula-mula hijau kemudian hijau kekuningan sampai kuning orange atau merah orange, benang sari 5, kepala sari tumpul serta melekat pada pangkal putik dengan kepala putik membintul. Buah membentuk bulat telur, panjang, kuning jingga. Beerbiji 1, biji ditutupi lapisan lengket (Sandika, 2017).

#### II.1.3 Nama Daerah

Penyebutan *D. Pentandra* di setiap daerah berbeda-beda, untuk daerah jawa tanaman ini dikenal dengan nama kemlandean atau kamadean dan pada daerah Sunda disebut sebagai Mabgendeuy. Sebagian besar orang Indonesia mengenalnya sebagai tanaman benalu (Backer, 1975).

#### II.1.4 Kandungan Kimia

Tanaman *D. pentandra* secara umum mengandung berbagai senyawa seperti flavonoid, asam amino, tanin, alkaloid, karbohidrat, terpenoid, steroid, polifenol dan saponin (Muti'ah dkk, 2017; Sembiring *et al.*, 2016; Maulida, 2016). Pada penelitian lain ekstrak etanol daun benalu *D. pentandra* pada inang pohon mangga mengandung senyawa polifenol,

tanin, flavonoid, steroid, terpenoid, dan kuinon (Nurfaat & Indriyanti., 2016). Selain itu, flavonoid jenis kuarsetin dan kuarsitrin yang diisolasi dari *D. pentandra* inang pohon duku dan belimbing wulu diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan anti bakteri (Hardiyanti dkk., 2019; Artanti dkk, 2006). Berdasarkan penelitian Mochamad *et al.*, (2019); Lazuardi., (2016), telah ditemukan senyawa jenis steroid progesteron, medroxy progesteron asetat, magesterol asetat dan dydrogesteron, serta senyawa stigmasterol yang diisolasi dari *D. pentandra* inang pohon jeruk (Maulida, 2016). Dalam penelitian Yee *et al.*, (2017), ekstrak etil asetat daun *D. pentandra* pada inang pohon duku memiliki kandungan asam dekanoat, asam palmitat, asam linolenat dan beta sitosterol.

#### II.1.5 Kegunaan

#### II.1.5.1 Aktivitas Antidiabetes

Daun *D. pentandra* telah diuji mampu menghambat enzim alfa glukosidase yang kemudian akan menurunkan kadar glukosa darah postprandial sehingga berpotensi sebagai antidiabetes (Halliwell, 1984; Sinulingga dkk, 2020)

#### II.1.5.2 Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan penelitian Diba dkk. 2019 menunjukkan ekstrak etanol daun *D. pentandra* pada inang pohon jeruk nipis mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan triterpenoid yang mampu menghambat 50% pertumbuhan sel kanker T47D dengan IC50 sebesar 417,5 µg/ml. Sedangkan pada daun *D. pentandra* dari inang pohon coklat mengandung

senyawa flavonoid, tannin, steroid, terpenoid dan saponin yang memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 sebesar 36,23 µg/mL (Sembiring *et al.*, 2016). Selain itu, *D. pentandra* inang pohon belimbing wuluh juga memiliki kandungan senyawa glikosida flavonol yaitu kuersitrin yang memiliki aktivitas antioksidan 5,9 ppm (Artanti dkk, 2006).

#### II.1.5.3 Aktivitas Antimikroba

Quarcitrin yang diisolasi dari *D. pentandra* inang pohon duku diketahui memiliki aktivitas antibakteri pada konsentrasi 1000 ppm terhadap bakteri dengan zona hambat pada *E.coli* 7,74 mm, *S. typi* 7,23 mm, *S. aeureus* 9,54 mm dan *Pseudomonas* sp 8,52mm (Hardiyanti dkk., 2019).

#### II.2 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang digunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia terbagi atas tiga, yaitu (Depkes, 1989):

- Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman, atau eksudat tanaman.
- Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan, atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni.
- Simplisia pelikan (mineral) merupakan simplisia yang berupa bahan pelikan (mineral) yang belum atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni.

#### II.3 Ekstraksi

#### II.3.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian merupakan proses yang dilakukan dengan tujuan memisahkan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi memiliki peran penting dalam analisis fitokimia karena pada proses analisis diawali dengan ekstraksi (Hanani, 2015).

Tujuan ekstraksi adalah menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik yang berasal dari tumbuhan, hewan, maupun biota laut menggunakan pelarut tertentu. Proses ekstraksi bergantung pada kemampuan pelarut untuk menarik senyawa terlarut dari dalam sel sebagai akibat dari perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel. Hal ini terjadi secara terus-menerus hingga terjadi kesetimbangan zat aktif di dalam dan di luar sel (Depkes RI, 2008).

#### II.3.2 Metode-Metode Ekstraksi

Pada umumnya, pemilhan metode ekstraksi dapat dilihat dari dua aspek. Aspek pertama dengan melihat tekstur dari sampel yang akan disari. Bagi sampel yang memiliki tekstur keras dapat digunakan ekstraksi dengan metode panas, sedangkan untuk sampel yang memiliki tekstur lunak dapat digunakan ekstraksi dengan metode dingin (Najib, 2018).

Selain itu, pemilihan metode ekstraksi dapat didasarkan pada sifat polaritas senyawa yang akan disari. Pelarut-pelarut dengan sifat kepolaran yang tinggi akan menarik komponen polar, sedangkan pelarut dengan

tingkat kepolaran yang rendah akan menarik komponen nonpolar. Prinsip ini sering dinamakan dengan "*like dissolve* like". Prinsip ini mengacu pada polaritas pelarut dan zat terlarut (Najib, 2018).

#### II.3.2.1 Cara Dingin

#### 1. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi simplisia dengan cara merendam simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif (Najib, 2018). Pada maserasi akan terjadi proses keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel sehingga perlu pergantian pelarut secara berulang dan dilakukan pengadukan yang konstan (Hanani, 2015).

Keuntungan dari metode ini adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana (Najib, 2018). Namun kekurangannya yaitu waktu ekstraksi yang lama dan efisiensi ekstraksi yang rendah (Cujic, dkk. 2016). Metode ini dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa termolabil (Zhang *et al*, 2018).

#### 2. Perkolasi

Perkolasi merupakan salah satu teknik untuk mengesktrak bahan aktif dari bagian tanaman dengan proses berkelanjutan karena pelarut akan jenuh terus-menerus dan diganti dengan pelarut segar (Zhang *et al*, 2018). Kelebihan dari metode perkolasi adalah tidak perlu melakukan proses penyaringan. Sementara kekurangannya adalah waktu kontak

antara bahan dan pelarut yang terbatas serta suhu yang digunakan rendah sehingga kemungkinan komponen tidak terekstrak sempurna (Yasni, 2013).

#### 3. Sokhletasi

Sokhletasi adalah metode ekstraksi untuk bahan yang tahan terhadap pemanasan (Najib, 2018). Pada sokhletasi, simplisia dan ekstrak berada pada tempat yang berbeda. Pemanasan mengakibatkan pelarut menguap, dan uap masuk dalam kondensor sehingga terjadi proses kondensasi, uap kemudian berubah menjadi tetesan yang membasahi sampel dalam timbal, sehingga menyebabkan sampel terekstraksi. Bila larutan melewati batas lubang pipa pada sipon maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Hanani, 2015).

Kelebihan dari metode ini adalah menggunakan pelarut yang lebih sedikit. Sementara kekurangannya adalah ekstrak terus menerus berada dalam labu didih sehingga memungkinkan terjadi penguraian (Darusman, 2019).

#### II.3.2.2 Cara Panas

#### 1. Refluks

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dari jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendingin balik (Prayoga, 2020). Refluks lebih efisien daripada perkolasi atau maserasi karena membutuhkan waktu ekstraksi dan pelarut yang lebih sedikit (Zhang *et al*, 2018).

Kelebihan dari metode ini adalah cocok digunakan untuk mengekstraksi sampel dengan tekstur kasar dan tahan pemanasan langsung. Namun membutuhkan volume total pelarut besar dan energi untuk proses pemanasan (Darusman, 2019).

#### 2. Infusa

Infusa adalah metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut air (bejana infusa tercelup dalam tangas air) pada suhu 96°- 98°C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu mencapai 96°C). Cara ini sesuai untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun (Hanani, 2015).

#### 3. Dekok

Dekok adalah metode ekstraksi yang mirip infusa, hanya saja memerlukan waktu yang lebih lama yakni sekitar 30 menit dan temperatur sampai titik didih air (Prayoga, 2020). Ekstrak hasil dekok mengandung sejumlah besar kotoran yang larut dalam air. Dekok tidak dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang termolabil dan mudah menguap (Zhang et al, 2018).

#### II.3.2.3 Cara Modern

#### 1. Microwave Assisted Extraction (MAE)

Metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE) merupakan teknik ekstraksi yang relative baru, dimana metode tersebut menggabungkan teknologi gelombang mikro untuk menghasilkan panas dan ekstraksi tradisional menggunakan pelarut yang nantinya akan melarutkan senyawa yang akan diekstraksi. Mekanisme kerja dari metode ini ialah gelombang

elektromagnetik akan menimbulkan getaran molekul polar di dalam sel yang mengakibatkan gesekan gesekan antarmolekul dan intramolekul dari tumbukan ion bermuatan, memanaskan substrat yang terdapat di dalam membran sel dan meningkatkan tekanan yang akan memecahkan membrane sel sehingga senyawa fitokimia dapat diekstraksi keluar dari sel tumbuhan (Pinzon *et al.*, 2020). Metode ini banyak diterapkan karena pengoperasiannya yang mudah serta beberapa kelebihan lain seperti menghemat penggunaan energi dan waktu serta jumlah pelarut yang sedikit (Liu *et al.*, 2021).

#### 2. Supercritical Fluid Extraction (SFE)

Fluida superkritis adalah unsur atau senyawa di atas tekanan dan suhu kritisnya, ketika kombinasi temperatur dan tekanan suatu zat berada dalam kesetimbangan termodinamika antara gas, cairan dan padatan maka disebut titik tripel suatu zat. Daerah tersebut tekanan dan temperatur kritis disebut fluida superkritis. Karakteristik seperti gas dan melarutkan sesuatu seperti cairan membuat fluida superkritis ini menjadi unik. Secara umum diffusivitas dan viskositas fluida superkritis mendekati gas, akan tetapi densitasnya mendekati cairan, sehingga hal tersebut sangat bermanfaat untuk transfer massa (Pourmortazavi *et al.*, 2014).

#### 3. Ultrasonic-assisted extraction (UAE)

Ultrasonic-assisted extraction (UAE) adalah salah satu metode ektraksi berbantu ultrasonik. Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi diatas pendengaran manusia (≥20 kHz) (Sholihah *et al.*,

2017). Alat sonikator yang digunakan dengan merk BRANSON® 1510 dengan spesifikasi kapasitas wadah sonikator sebesar 1,89 L, dengan suhu kerja alat hingga 69°C (Yamali Hernandes, 2020). Wadah yang berisi serbuk simplisia dimasukkan kedalam wadah ultrasonic. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa pada pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi (Mukhtarini, 2011).

#### II.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik pemisahan yang banyak digunakan untuk analisis kualitatif senyawa organik, dan isolasi senyawa tunggal dari gabungan beberapa komponen. Dalam banyak kasus, teknik ini memiliki keunggulan dibanding teknik pemisahan yang lainnya (Waksmundzka-Hajnos et al, 2008). Jika dibandingkan dengan kromatografi kertas, KLT memiliki kelebihan khusus seperti fleksibilitas, kecepatan dan sensitivitas. Fleksibilitas dari KLT disebabkan karena dapat digunakan beberapa penjerap seperti silka gel, aluminium oksida, kalsium hidroksida, magnesium posfat, dan selulosa (Harborne, 1984). Dari segi kecepatan, proses KLT hanya membutuhkan waktu setengah jam saja. Sedangkan pemisahan vang umum pada kromatografi kertas membutuhkan waktu beberapa jam (Day & Underwood, 2002).

Identifikasi senyawa-senyawa hasil pemisalahan KLT dapat dijelaskan dengan bantuan faktor retardasi (Rf). Hal ini didefinisikan sebagai hasil bagi yang diperoleh dengan membagi jarak yang ditempuh

senyawa dengan jarak yang ditempuh oleh fase gerak (Hahn-Deinstrop, 2007). Nilai Rf dapat dinyatakan dalam persamaan berikut ini:

Nilai Rf = 
$$\frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Dari rumus ini, diperoleh nilai Rf yang menggambarkan posisi titik dalam kromatogram dengan cara numerik sederhana. Nilai Rf bervarasi mulai dari 0 hingga 1 (Sherma and Fried, 2003).

#### II.5 KLT Densitometri

Suatu senyawa yang telah dipisahkan secara kromatografi lapis tipis biasanya dilakukan analisis kuantitatif dengan densitometri langsung pada lempeng KLT. Densitometri atau KLT densitometri merupakan metode analisis instrumental vang berdasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan analit. Alat ini dapat bekerja secara serapan atau Prinsip dasar teknik densitometri ini fluorosensi. adalah radiasi elektromagnetik (REM) dengan panjang gelombang yang telah ditetapkan (umumnya UV/visible dari panjang gelombang 190-800 nm) yang bergerak sepanjang zona kromatografi yang sebelumnya telah ditentukan atau sementara radiasi dilakukan lapisan KLT digerakkan oleh motor pengatur gerakan lempeng (Rohman, 2009). Untuk memilih panjang gelombang yang cocok system memfokuskan sinar pada lempeng, pengganda foton dan rekorder (Mulia, 2006).

Berkas pada lapisan tipis dikuantisasi secara spektroskopi dengan transmisi atau pemantulan. Pada model transmisi, lapisan dilewati oleh

pemantulan, sinar disorotkan pada lapisan dan berkas sinar yang dipantulkan diukur. Dari hasil penentuan interaksi REM dengan noda kromatogram akan didapatkan antara lain : spektrum UV-Vis atau spektrum flourosensi dan area kromatogram yang ditentukan pada panjang gelombang maksimum. Dengan demikian analisis kualitatif dan analisis kuantitatif terhadap noda analit pada plat KLT dapat terakomodir dengan metode KLT-Densitometri (Mulia, 2006).

#### II.6 Spektrofotometri UV-VIS

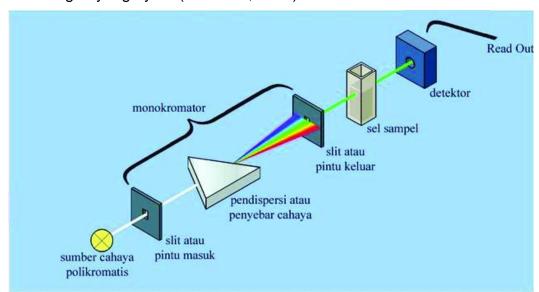
#### II.6.1 Pengertian Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorbsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektroskopi UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Tetapi spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Sinar ultaviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004).

Sebagai sumber cahaya biasanya digunakan lampu hidrogen atau deuterium untuk pengukuran ultraviolet dan lampu tungsten untuk pengukuran pada cahaya tampak. Panjang gelombang dari sumber cahaya akan dibagi oleh pemisah panjang gelombang (wavelength separator) seperti prisma atau monokromator. Spektrum didapatkan dengan cara scanning oleh wavelength separator sedangkan pengukuran kuantitatif bisa dibuat dari spektrum atau pada panjang gelombang tertentu (Dachriyanus, 2004).

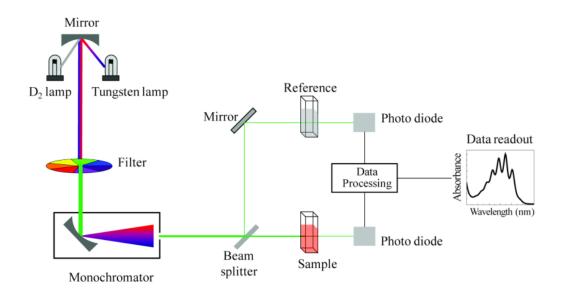
#### II.6.2 Tipe - Tipe Spektrofotometer UV-Vis

Pada umumnya terdapat dua tipe istrumen spektrofotometer, yaitu single-beam dan double-beam. Single-beam instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Single-beam instrument mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata (Suhartati, 2017).



Gambar 2. Diagram alat spektrofotometer UV-Vis (single-beam)
Sumber: Suhartati, 2017

Double-beam instrument mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel (Suhartati, 2017).



Gambar 3. Diagram alat spektrofotometer UV-Vis (*double-beam*)
Sumber: Suhartati, 2017

#### II.7 Response Surface Methodology

Response Surface Analysis merupakan metode analisis yang paling banyak digunakan karena keuntungan utama metode ini yang dapat memberikan informasi lebih banyak hanya dengan menggunakan beberapa percobaan saja. Sebelum menerapkan metodologi RSM, pertama-tama perlu dipilih desain eksperimen yang akan menentukan eksperimen mana yang harus dilakukan. Desain eksperimental yang dipilih harus memastikan bahwa semua variabel yang diteliti dilakukan setidaknya di tiga tingkat faktor. Pada analisis 2 variabel paling banyak menggunakan Central

Composite Design yang merupakan desain eksperimental orde dua simetris. Hal ini dikarenakan desain ini dapat memberikan hasil yang optimal melalui efisiensi analisisnya yang tinggi untuk 2 varibel (Bezerra *et al.*, 2008)