OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER DARI UMBI BAWANG DAYAK *(Eleutherine americana)* SECARA DIGESTI

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS OF SECONDARY METABOLITE FROM *Eleutherine americana* BY DIGESTION

Disusun dan diajukan oleh

INDHIRA AZHARI GAZALI

N011 17 1505

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2022

OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER DARI UMBI BAWANG DAYAK *(Eleutherine americana)* SECARA DIGESTI

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS OF SECONDARY METABOLITE FROM *Eleutherine* americana BY DIGESTION

SKRIPSI

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

INDHIRA AZHARI GAZALI

N011 17 1505

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022

OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER DARI UMBI BAWANG DAYAK *(Eleutherine americana)* SECARA DIGESTI

INDHIRA AZHARI GAZALI
N011 17 1505

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.	Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt.
NIP. 19641231 199002 1 005	NIP. 19610606 198803 2 002

Pada Tanggal, 14 Juli 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER DARI UMBI BAWANG DAYAK *(Eleutherine americana)* SECARA DIGESTI

OPTIMIZATION OF THE EXTRACTION PROCESS OF SECONDARY METABOLITE FROM (*Eleutherine* americana) BY DIGESTION

Disusun dan diajukan oleh:

INDHIRA AZHARI GAZALI
N011 17 1505

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 4 Juli 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.	Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt.
NIP. 19641231 199002 1 005	NIP. 19610606 198803 2 002

Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Nurhasni 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	: Indhira Azhari Gazali
Nim	: N011 17 1505
Program Studi	: Farmasi
Jenjang	: S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

"Optimasi Proses Ekstraksi Metabolit Sekunder dari Umbi Bawang Dayak *(Eleutherine americana)* secara Digesti"

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis benar benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 19 Juli 2022

g menyatakan,

Indhira Azhari Gazali

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas berkat, rahmat, karunia, dan petunjuk-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan. Dalam penyusunan skripsi ini, penulis mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak berupa bimbingan, saran, hingga ucapan semangat sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan, khususnya dukungan dari orang tua yang penulis sayangi. Oleh sebab itu penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama penulis dalam penyusunan skripsi ini, dimana beliau telah memberikan bimbingan dengan baik dan banyak masukan dari awal penelitian hingga tahap akhir pembuatan skripsi ini.
2. Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping penulis yang juga telah memberikan banyak sekali masukan dan saran terkait penelitian dan skripsi ini.
3. Bapak Aminullah, S.Si., M. Pharm.Sc., Apt. dan Ibu Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D, Apt. selaku penguji yang telah meluangkan waktunya dan memberikan masukan dan saran kepada penulis terkait penelitian ini dan dalam proses menyelesaikan skripsi ini.
4. Seluruh pihak terkait Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, meliputi bapak dekan, wakil dekan, dosen-dosen, hingga staf-staf terkait yang bertugas, baik secara langsung maupun tidak langsung turut membantu penulis selama perkuliahan beberapa tahun ini.

5. Laboran laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, kak Abdi dan kak Nina serta Laboran laboratorium Biofarmaka, kak Eci dan kak Dewi yang telah mengarahkan dan membantu penulis dalam melakukan penelitian di laboratorium.
6. Kepada kedua orang tua penulis, bapak Gazali dan ibu Nurhani yang telah memberikan do'a dan restu serta bimbingan dan arahan selama menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Kepada saudari penulis, Aisyah yang telah memberikan semangat selama ini.
7. Teman-teman *Banana*, Hasriandi, Khansa, Nur Islamiah, Arini, Windy, Rahmatillah, Kadek, dan Tama yang telah memberikan dukungan serta semangat kepada penulis selama menyusun skripsi ini.
8. Teman-teman Radio 5 Oktober, Zilfrida, Zadila, dan Fauzan yang telah memberikan dukungan dan doa kepada penulis dalam menyusun skripsi ini.
9. Keluarga besar CLOSTRI17IUM KEMAFAR-UH selaku teman angkatan 2017 yang penulis sayangi.
10. Keluarga UKM Redaksi Lege Artis FF-UH yang telah menjadi keluarga kecil penulis dalam menyalurkan minat bakat dalam bidang jurnalistik.
11. Semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak.

Makassar, 14 Juli 2022

Indhira Azhari Gazali

ABSTRAK

INDHIRA AZHARI GAZALI. *Optimasi Proses Ekstraksi Metabolit Sekunder dari Umbi Bawang Dayak (Eleutherine americana) secara Digesti* (dibimbing oleh Gemini Alam dan Ermina Pakki).

Eleutherine americana merupakan salah satu tanaman yang telah banyak digunakan untuk pengobatan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui parameter optimum dari rasio perbandingan simplisia dan pelarut, waktu ekstraksi, dan suhu ekstraksi dari umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) menggunakan metode digesti dan maserasi. Pada metode digesti, parameter rasio simplisia dan pelarut yang di uji adalah 1:10, 1:20, dan 1:30, dengan waktu ekstraksi dimulai dari 1 jam, 3 jam, dan 6 jam serta suhu ekstraksi 40°C, 50°C, dan 60°C. Pada metode maserasi, parameter rasio simplisia dan pelarut yang di uji adalah 1:10, 1:20, dan 1:30, dengan waktu ekstraksi dimulai dari 24 jam, 48 jam, dan 72 jam pada suhu ruang. Analisis data dilakukan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) untuk mengetahui nilai optimum ekstraksi dari parameter uji dengan menggunakan metode digesti dan maserasi. Rendemen dihitung berdasarkan bobot simplisia yang diekstraksi serta profil metabolit sekunder dianalisis dengan KLT densitometri. Penentuan kadar flavonoid total dilakukan pada ekstrak hasil optimasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dari penelitian ini pada metode digesti di peroleh persen rendemen ekstrak yang optimum yaitu 10,6% dengan parameter perbandingan rasio simplisia dan pelarut 1:30, waktu ekstraksi 6 jam, dan suhu 60°C. Sedangkan pada metode maserasi di peroleh persen rendemen ekstrak yang optimum yaitu 16,8% dengan parameter perbandingan rasio simplisia dan pelarut 1:30, waktu ekstraksi 48 jam pada suhu ruang (28,8°C). Selain itu, profil metabolit sekunder tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada UV 254 dan UV 366 antara metode ekstraksi digesti dan maserasi. Kemudian pada penentuan kadar flavonoid total hasil optimasi diperoleh kadar tertinggi dengan metode maserasi.

Kata kunci: *Eleutherine americana,* optimasi*,* senyawa metabolit sekunder, digesti, maserasi, RSM.

ABSTRACT

INDHIRA AZHARI GAZALI. *Optimization of Secondary Metabolite Extraction Process from Dayak Onion Bulbs (Eleutherine Americana) by Digestion* (supervised by Gemini Alam and Ermina Pakki)**.**

Eleutherine americana is one of the plants that has been widely used for medicine. This research was conducted to determine the optimum parameters of the ratio of simplicia and solvent, extraction time, and extraction temperature from Dayak onion bulbs (*Eleutherine americana*) using digestion and maceration methods. In the digestion method, the ratio parameters of simplicia and solvent tested were 1:10, 1:20, and 1:30, with extraction times starting from 1 hour, 3 hours, and 6 hours and extraction temperatures of 40°C, 50°C, and 60°C. In the maceration method, the parameters of the ratio of simplicia and solvent tested were 1:10, 1:20, and 1:30, with extraction times starting from 24 hours, 48 hours, and 72 hours at room temperature. Data analysis was carried out using the *Response Surface Methodology* (RSM) method to determine the optimum extraction value of the test parameters using the digestion and maceration methods. The yield was calculated based on the weight of the extracted simplicia and the secondary metabolite profile analyzed by TLC densitometry. Determination of total flavonoid content was carried out on the optimized extract using UV-Vis spectrophotometry. From this research, the digestion method obtained the optimum yield of 10.6% with the ratio of simplicia and solvent ratio parameters 1:30, extraction time 6 hours, and temperature 60°C. While the maceration method obtained the optimum yield of 16.8% with the ratio of simplicia and solvent ratio parameters is 1:30, extraction time is 48 hours at room temperature (28.8°C). In addition, the secondary metabolite profile did not show significant differences at UV 254 and UV 366 between the digestion and maceration extraction methods. Then in the determination of the total flavonoid content of the optimization results obtained the highest levels with the maceration method.

Keywords: *Eleutherine americana,* optimization , secondary metabolites, digestion, maceration, RSM.

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	**Error! Bookmark not defined.**
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	**Error! Bookmark not defined.**
UCAPAN TERIMA KASIH	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
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 Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine americana*)	5
II.1.1 Taksonomi Tanaman	5
II.1.2 Morfologi Tanaman	6
II.1.3 Kandungan Senyawa	6
II.1.4 Kegunaan	7
II.2 Metabolit Sekunder	7

II.3 Simplisia 8

II.4 Ekstrak 9

II.5 Ekstraksi 9

II.5.1 Metode Dingin 11

II.5.2 Metode Panas 12

II.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri 13

II.7 Spektrofotometer UV-Visible 17

II.8 *Response Surface Methodology* (RSM) 19

BAB III METODE PENELITIAN 20

III.1 Alat dan Bahan 20

III.2 Simplisia 20

III.2.1 Pengambilan Sampel 20

III.2.2 Penyiapan Simplisia 20

III.2.3 Penentuan Susut Pengeringan 20

III.3 Parameter Uji 21

III.4 Ekstraksi 23

III.5 Penentuan Bobot Hasil Ekstraksi dan Persen Rendemen 23

III.6 Penentuan Profil KLT dan Analisis Instrumen Densitometri 23

III.7 Response Surface Methodology 24

III.8 Penentuan Kadar Flavonoid Total Hasil Optimasi 24

III.8.1 Pembuatan Larutan Uji 24

III.8.2 Pembuatan Larutan Pembanding 24

III.8.3 Prosedur Penetapan 24

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 25

IV.1 Penetapan Susut Pengeringan 25

IV.2 Ekstraksi 25

IV.3 *Respon Surface Analysis* 27

IV.4 Penentuan Profil KLT dan Analisis Instrumen Densitometri 35

IV.5 Penentuan Kadar Flavonoid Total Hasil Optimasi 44

BAB V PENUTUP 46

V.1 Kesimpulan 46

V.2 Saran 46

DAFTAR PUSTAKA 47

LAMPIRAN 50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penentuan Parameter Uji Dengan *Software Minitab* (Digesti)	22
2. Penentuan Parameter Uji dengan Sotware Minitab (Maserasi)	22
3. Ekstraksi umbi bawang dayak dengan metode digesti	26
4. Ekstraksi umbi bawang dayak dengan metode maserasi	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Umbi Bawang Dayak	5
2. Skema alat spektrofotometer UV-Vis *single-beam*	18
3. Skema alat spektrofotometer UV-Vis *double-beam*	18
4. *Pareto char*t rendemen hasil ekstraksi metode digesti	28
5. Plot data rendemen hasil ekstraksi dengan metode digesti.	29
6. *Optimization plot* rendemen hasil ekstraksi dengan metode digesti	31
7. *Pareto chart* rendemen hasil ekstraksi metode maserasi	32
8. Plot data rendemen hasil ekstraksi dengan metode maserasi.	33
9. *Optimization plot* rendemen hasil ekstraksi dengan metode maserasi	34
10. Hasil pengembangan ekstrak etanol 96%	36
11. Hasil analisis instrumen densitometri ekstrak etanol 96%	36
12. Hasil pengembangan ekstrak etanol 96%	37
13. Hasil analisis instrumen densitometri ekstrak etanol 96%	37
14. Hasil PCA *scores* dan Dendogram CA pada rasio pelarut 1:10	39
15. Hasil PCA *scores* dan Dendogram CA pada rasio pelarut 1:20	41
16. Hasil PCA *scores* dan Dendogram CA pada rasio pelarut 1:30	43
17. Kurva baku kuarsetin	44

DAFTAR SINGKATAN

nm	= nanometer
KLT	= Kromatografi Lapis Tipis
Rf	= *Retardation factor*
UV	= *Ultra Violet*
Vis	= *Visible*
GF_{254}	= *Gypsum Fluoresence* 254 nm
RSM	= *Response Surface Methodology*
p.a	= *pro analysis*
TLC	= *Thin Layer Chromatography*

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian	50
2.Dokumentasi Penelitian	51
3. Data Hasil TLC-*Scanner*	54
4. Data Hasil Spektrofotometri UV-Vis Hasil Optimasi	74
5. Perhitungan	75
6. Grafik Analisis Koefisien Korelasi *Cluster* pada PCA *Scores*	87

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Metabolit sekunder merupakan molekul organik yang tidak memiliki peran secara langsung dalam pertumbuhan dan perkembangan. Metabolit sekunder pada tumbuhan berfungsi spesifik namun tidak bersifat esensial. Metabolit sekunder dapat disintesis oleh berbagai organ tertentu tumbuhan, seperti akar, daun, bunga, buah, dan biji. Beberapa metabolit tersimpan dalam kompartemen tertentu, dimana dalam kompartemen tersebut konsentrasi metabolit sekunder yang bersifat toksik bisa sangat tinggi, sehingga menjadi pertahanan yang efisien terhadap herbivora (Anggraito *et al*., 2018).

Bawang dayak *(Eleutherine americana*) adalah tanaman khas Kalimantan Tengah yang berasal dari Amerika tropis. Ditinjau dari kandungan kimianya, potensi dari umbi bawang dayak sebagai tanaman obat sangatlah besar (Puspadewi *et al*., 2013). Tanaman bawang dayak memiliki hampir semua kandungan fitokimia, antara lain alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik dan steroid. Senyawa flavonoid, fenolik, dan tanin dalam bawang dayak memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang dapat menghambat dan mereduksi radikal bebas dan aktivitas antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Trichophyton rubrum*. (Prayitno *et al*., 2018).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Pakki *et al*. (2020) ekstrak etanol 96% bawang dayak memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan ekstrak lainnya dengan nilai IC_{50} sebesar 22.63 ± 1.09 µg/mL terhadap DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Alves *et al*. (2003) bahwa metabolit sekunder ekstrak diklorometan bawang dayak memiliki senyawa fenolat golongan naftokuinon seperti eleutherin, elecanacin, isoeleutherin, eleutherol dan eleutherinon. Selain itu, pada penelitian lain juga terbukti bahwa ekstrak metanol umbi bawang dayak memiliki aktivitas antiinflamasi yang berpotensi dalam menghambat produksi sitokin IL-12 dan IL-6 yang terstimulasi oleh lipopolisakarida pada sel dendritik sumsum tulang dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 0.1 ± 0.05 dan 16.2 ± 0.3 µg/mL (Ha *et al*., 2013)

Beberapa metode ekstraksi baik secara konvensional maupun non-konvensional dapat digunakan untuk mengekstraksi komponen kimia dalam sel tanaman. Salah satu metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, kemudian zat aktif di dalam sel akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan dengan konsentrasi tinggi akan didesak keluar, periwstiwa tersebut terjadi secara berulang sehingga terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di

luar sel dan di dalam sel (Depkes RI, 1986). Dalam proses maserasi, keadaan diam menyebabkan terjadinya kesetimbangan perpindahan massa dari sel ke dalam perlarut dan dari pelarut ke dalam sel. Dalam proses maserasi dibutuhkan sesekali pengadukan (Wewengkang dan Rotinsulu, 2021).

Maserasi memiliki beberapa variasi metode, salah satunya yaitu digesti. Digesti merupakan metode maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah pada suhu rendah. Metode digesti memiliki keuntungan yaitu koefisien difusi yang berbanding lurus dengan suhu absolut dan berbanding terbalik dengan kekentalan sehingga kenaikan suhu akan berpengaruh pada kecepatan difusi, kekentalan pelarut berkurang sehingga dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan batas dan kemampuan cairan penyari untuk melarutkan zat yang diinginkan menjadi lebih lebih besar dan memiliki pengaruh yang sama dengan pengadukan (Depkes RI, 1986).

Oleh karena itu, perlu dilakukan suatu penelitian menggunakan metode digesti pada tanaman umbi bawang dayak untuk mengetahui kombinasi parameter yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi secara optimal untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak umbi bawang dayak.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, permasalahan yang timbul adalah bagaimana kombinasi dari parameter rasio pelarut dan sampel, suhu, dan waktu ekstraksi terhadap metabolit sekunder ekstrak bawang dayak (*Eleutherine americana*) dengan menggunakan metode ekstraksi digesti.

I.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui parameter optimum dari rasio pelarut dan sampel, suhu, dan waktu dalam proses ekstraksi umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) dengan menggunakan metode ekstraksi digesti.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tanaman Bawang Dayak (*Eleutherine americana*)

II.1.1 Taksonomi Tanaman

Domain : Eukaryota

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Viridaeplantae

Phylum : Tracheophyta

Subphylum : Spermatophyta

Kelas : Liliopsida

Subkelas : Liliidae

Order : Iridales

Famili : Iridaceae

Genus : Eleutherine

Spesies : *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr., *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr., *Eleutherine plicata* Herb. (Backer and Brink, 1965)

Gambar 1. Tanaman Umbi Bawang Dayak (Kinho.J, 2014)

II.1.2 Morfologi Tanaman

Tanaman bawang Dayak memiliki tinggi mencapai 30 cm. Batangnya tumbuh tegak, merunduk, berumbi yang berbentuk kerucut dan berwarna merah. Rumpun daunnya seperti daun anggrek tanah. Daun tanaman bawang dayak ini ada dua macam, yaitu yang sempurna berbentuk pita dengan ujungnya yang runcing, sedangkan daun-daun lainnya berbentuk menyerupai batang (Saragih, 2018).

Tanaman bawang dayak memiliki bunga berupa bunga majemuk, berwarna putih, dan terdiri dari 4 hingga 10 bunga. Benang sari berjumah 2 atau 3 dengan warna kepala sari kuning, putik berwarna putih kekuningan berjumlah 3 dan berbentuk jarum dengan panjang lebih kurang 4 mm, kelopak terdiri atas 2 daun kelopak berwarna hijau kekuningan, ruang bakal buah beruang 3, dan memiliki akar serabut berwarna coklat muda (Saragih, 2018).

II.1.3 Kandungan Senyawa

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, bagian umbi bawang dayak menunjukkan adanya beberapa senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, kuinon, steroid, tanin, monoterpenoid, dan seskuiterpen (Puspadewi et al., 2013). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Alves et al. (2003) bahwa metabolit sekunder ekstrak diklorometan bawang dayak memiliki senyawa fenolat golongan naftokuinon seperti eleutherin, elecanacin, isoeleutherin, eleutherol dan eleutherinon.

II.1.4 Kegunaan

Bagian tanaman bawang dayak yang sering digunakan dan dimanfaatkan adalah bagian umbi. Kandungan metabolit sekunder bawang dayak, diantaranya adalah golongan flavonoid, naftokuinon dan beberapa turunannya. Naftokuinon banyak dihubungkan dengan aktivitas antifungal, antivirus, antiparasitik, antimikroba, antioksidan, dan antikanker (Prayitno *et al*., 2018).

Berdasarkan penelitian Pakki et al. (2020) ekstrak etanol 96% bawang dayak memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak lainnya dengan nilai IC_{50} sebesar 22.63 ± 1.09 µg/mL terhadap DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Selain itu, pada penelitian lain juga terbukti bahwa ekstrak metanol umbi bawang dayak memiliki aktivitas antiinflamasi yang berpotensi dalam menghambat produksi sitokin IL-12 dan IL-6 yang terstimulasi oleh lipopolisakarida pada sel dendritik sumsum tulang dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 0.1 ± 0.05 dan 16.2 ± 0.3 µg/mL (Ha et al., 2013).

II.2 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan senyawa non-esensial yang disintesis dari tumbuhan, mikroba, ataupun hewan melalui proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupan. Dalam bidang farmasi, metabolit sekunder digunakan sebagai kandidat obat atau senyawa penuntun (*lead compound*) agar diperoleh senyawa yang lebih poten dengan toksisitas minimal (Saifudin, 2014).

Sifat kimiawi metabolit sekunder umumnya memiliki berat molekul yang kecil yaitu sekitar 50-1500 Dalton. Senyawa metabolit sekunder ini umumnya tidak larut air karena bersifat sifat semi polar dengan struktur kimia yang sangat beragam (Saifudin, 2014)

Berdasarkan jalur biosintesisnya, senyawa metabolit sekunder digolongkan menjadi beberapa golongan, yaitu golongan asetat (C2) seperti poliketida dan asam lemak, golongan mevalonat dan deoksisilulosa (C5) seperti terpenoid, golongan sikimat seperti fenil metanoid (C7) dan fenil propanoid (C9), golongan alkaloid, golongan campuran seperti kombinasi antar metabolit sekunder atau kombinasi antara metabolit sekunder dan metabolit primer (Saifudin, 2014).

II.3 Simplisia

Simplisia merupakan bahan alam yang telah melalui proses pengeringan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Proses pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-angin, atau menggunakan oven. Pengeringan dengan menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60^{o}C (Depkes RI, 2017).

Simplisia terdiri dari 3 jenis, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisa yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, sebagian hewan, atau zat-zat yang dihasilkan dari hewan dan belum menjadi zat kimia murni.

Sedangkan, simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah dengan cara yang sederhana dan belum menjadi zat kimia murni (Depkes RI, 1983).

II.4 Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan kering, kental, atau cair yang diperoleh dengan cara menyari simplisia nabati ataupun hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian pelarut diuapkan semua atau hampir semua sehingga diperoleh massa yang memenuhi standar yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Adapun faktor yang mempengaruhi ekstrak, diantaranya yaitu faktor kimia dan faktor biologi. Faktor kimia yang mempengaruhi ekstrak meliputi jenis senyawa aktif yang terkandung, komposisi kualitatif senyawa aktif, komposisi kuantitatif senyawa aktif, kadar total senyawa aktif, metode ekstraksi, perbandingan ukuran alat ekstraksi, kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan, kandungan logam berat, dan kandungan peptisida. Sedangkan faktor biologi yang mempengaruhi ekstrak meliputi lokasi asal dari tumbuhan, penyimpanan bahan tumbuhan, umur tumbuhan dan bagian yang digunakan (Depkes RI, 2000).

II.5 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan teknik untuk menarik atau memisahkan satu atau lebih komponen senyawa dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Leba, 2017). Proses ekstraksi terjadi dengan masuknya cairan penyari ke dalam sel (osmosis) yang akan semakin

mudah apa bila dinding sel sudah tidak menjadi utuh lagi akibat adanya proses penyerbukan. Cairan penyari yang masuk akan membuat zat aktif yang berada di dalam sel terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan cairan penyari yang berada di luar sel, maka pada tahap ini terjadi proses difusi. Proses difusi akan terus terjadi sampai konsentrasi zat aktif yang berada di luar sel dan di dalam sel seimbang (Najib, 2018).

Pelarut yang biasa digunakan sebagai penyari adalah etanol. Etanol merupakan penyari universal karena etanol dapat melarutkan senyawa polar dan non polar. Etanol dipertimbangkan sebagai larutan penyari karena lebih selektif daripada air, sukar ditumbuhi mikroba dalam konsentrasi 20% ke atas, dan memeiliki beberapa kelebihan lain yaitu netral, tak beracun, absrobsi baik, bercampur dengan air pada segala perbandingan, memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, dan tidak memerlukan panas tinggi untuk penekanan (Najib, 2018)

Pemilihan cairan penyari yang baik harus memperhatikan hal – hal berikut ini (Najib, 2018):

a. Mempunyai harga yang murah dan mudah diperoleh,
b. Mempunyai reaksi netral dan tidak mudah terbakar
c. Stabil secara fisika dan kimia,
d. Mempunyai sifat selektif yaitu hanya menarik zat yang berkhasiat yang dikehendaki tidak mempengaruhi zat berkhasiat, serta
e. Diperbolehkan oleh peraturan.

Secara umum proses ekstraksi terbagi menjadi dua metode, yaitu metode ekstraksi dingin dan metode ekstraksi panas. Metode ekstraksi dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi. Sedangkan metode ekstraksi panas terdiri dari sokletasi, infudasi, dan refluks.

II.5.1 Metode Dingin

Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, kemudian zat aktif di dalam sel akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar, periwstiwa tersebut terjadi secara berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Maserasi memiliki keuntungan yaitu cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Maserasi memiliki beberapa variasi metode, yaitu digesti, remaserasi, maserasi melingkar, dan maserasi melingkar bertingkat.

Perkolasi merupakan metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara mengalirkan pelarut secara perlahan pada sampel dalam suatu perkolator. Pelarut akan ditambahkan secara terus menerus, sehingga dalam proses ekstraksi selalu digunakan pelarut yang baru. Proses ekstraksi dilakukan hingga analit dalam sampel terekstraksi secara sempurna (Leba, 2017). Akan tetapi dalam proses ekstraksi ini diperlukan banyak pelarut dan waktu yang lama (Depkes RI, 1986).

II.5.2 Metode Panas

Sokletasi merupakan metode ekstraksi dengan cara yang berkesinambungan dengan menggunakan alat soklet. Serbuk soklet dimasukkan ke dalam sarung selulosa dalam selongsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Cairan penyari dipanaskan hingga mendidih dan akan menguap kemudian naik melalui pipa samping dan uap akan diembunkan kembali. Cairan penyari akan turun menyari simpilisia, jika cairan penyari mencapai sifon, maka cairan akan turun ke bagian labu alas bulat sehingga terjadi proses sirkulasi. Proses ini akan terus berlangsung hingga zat aktif dalam simplisia tersari seluruhnya yang ditandai dengan larutan telah menjadi jernih (Depkes RI, 1986).

Digesti merupakan metode maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah pada suhu rendah. Metode digesti memiliki keuntungan yaitu koefisien difusi yang berbanding lurus dengan suhu absolut dan berbanding terbalik dengan kekentalan sehingga kenaikan suhu akan berpengaruh pada kecepatan difusi, kekentalan pelarut berkurang sehingga dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan batas dan kemampuan cairan penyari untuk melarutkan zat yang diinginkan menjadi lebih lebih besar dan memiliki pengaruh yang sama dengan pengadukan (Depkes RI, 1986).

Refluks merupakan metode ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut

terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI, 1986).

Infusa merupakan metode esktraksi yang dilakukan dengan perebusan pada suhu 90° C selama 15 menit. Ekstraksi dengan metode ini dilakukan dengan mengaduk simplisia dengan derajat halus yang sesuai dalam panci dengan air secukupnya, pemanasan selama 15 menit terhitung sejak suhu telah mencapai 90° C (Depkes RI, 1986).

Dekokta merupakan metode ekstraksi yang hampir sama dengan metode infusa, namun pada dekokta perebusan dilakukan selama 30 menit pada suhu 90° C. Ekstraksi dengan metode ini juga dilakukan dengaan mengaduk simplisia dengan derajat harus tertentu dalam panci dengan air secukupnya, pemanasan dilakukan selama 30 menit terhitung sejak suhu telah mencapai 90° C sambil diaduk (Depkes RI, 1986).

II.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan campuran analit dengan mengelusi analit melalui suatu lempeng kromatografi. Komponen atau analit yang terpisah dilihat dengan cara penyemprotan atau pengecatan (Rohman, 2020).

Prinsip kerja dari KLT yaitu terjadinya pemisahan pada KLT yang didasarkan pada adsorpsi senyawa oleh fase diam dan fase gerak. Pemisahan dapat terjadi karena disebabkan oleh adanya perbedaan kepolaran senyawa-senyawa di dalam campuran dengan fasa diam dan

fasa gerak. Adanya perbedaan kepolaran senyawa inilah yang dapat menyebabkan terjadinya pemisahan yang ditampakkan dari munculnya noda dengan nilai Rf yang berbeda-beda (Leba, 2017).

Penjerap atau fase diam yang digunakan pada KLT merupakan penjerap yang berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10 – 30 µm. Semakin kecil ukuran rata–rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam maka akan semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya (Rohman, 2020).

Penjerap yang paling sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa, sedangkan mekanisme sorpsi-desorpsi (perpindahan analit dari fase diam ke fase gerak dan sebaliknya) yang utama pada KLT adalah partisi dan adsorpsi (Rohman, 2020).

Silika gel biasanya mengandung gugus hidroksil pada permukaannya, di mana gugus hidroksil ini yang nantinya akan membentuk ikatan hidrogen dengan molekul polar dan dapat memisahkan molekul seperti asam amino dan gula. Sedangkan pada bahan alumina, dapat digunakan untuk memisahkan senyawa polar lemah (Leba, 2017).

Fase gerak yang digunakan pada KLT dapat berupa campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ni mudah diatur sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal. Beberapa petunjuk dalam memilih dan mengoptimasi fase gerak yaitu (Rohman, 2020) :

a. Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sangat sensitif.

b. Daya elusi fase gerak harus diatur sedemikian rupa sehingga nilai Rf terletak antara 0,2 – 0,8 untuk memaksimalkan pemisahan.
c. Pada pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi solut yang berarti juga menentukan nilai Rf. Penambahan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter ke dalam pelaut nonpolar seperti metil benzen akan meningkatkan nilai Rf secara signifikan.
d. Solut – solut ionik dan solut – solut polar lebih baik digunakan campuran pelarut sebagai fase geraknya, seperti campuran air dan metanol dengan perbandingan tertentu.
e. Fase gerak yang digunakan harus cukup murah karena biasanya sejumlah besar fase gerak digunakan untuk elusi.

Dalam proses KLT, lempeng fase diam yang digunakan harus diaktifkan terlebih dahulu dengan cara memanaskan lempeng di dalam oven dengan suhu 110° C selama beberapa jam. Selanjutnya lempeng ditandai dengan memberikan garis sekitar 1 cm pada salah satu ujungnya. Sampel yang akan dianalisis kemudian ditotolkan pada lempeng di garis yang sudah ditandai (Leba, 2017).

Setelah sampel ditotolkan pada lempeng, tahap selanjutnya yaitu lempeng dimasukkan ke dalam suatu bejana kromatografi yang sebelumnya telah dijenuhi dengan fase gerak. Tujuan penjenuhan (pencapaian kesetimbangan) tersebut adalah untuk memperoleh homogenitas atmosferik dalam bejana, sehingga meminimalkan

penguapan pelarut dari lempeng KLT selama pengembangan. Tepi bagian bawah lempeng yang telah ditotoli sampel dicelupkan ke dalam fase gerak kurang lebih 0,5 – 1 cm. Bejana kromatografi harus tertutup rapat dan sedapat mungkin voulme fase gerak sesedikit mungkin tetapi harus mampu mengelusi lempeng sampai ketinggian yang telah ditentukan. Komponen dalam senyawa akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda dan akan tampak menjadi noda yang berbeda-beda yang dapat diamati dengan menggunakan lampu UV (Rohman, 2020).

Dalam mengidentifikasi KLT, nilai Rf (*Retardation Factor*) dinyatakan sebagai perbandingan jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik awal terhadap jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik awal (Rubiyanto, 2017). Nilai Rf dapat dihitung dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh ase gerak}}$$

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi nilai Rf diantaranya yaitu, struktur kimia senyawa yang dipisahkan, sifat dari adsorben dan derajat aktivitasnya, tebal dan kerataan permukaan adsorben, kemurnian pelarut, derajat kejenuhan uap pelarut dalam bejana pengembang, jumlah cuplikan, dan temperatur (Rubiyanto, 2017).

Selain metode kualitatif, KLT juga dapat digunakan digunakan untuk melakukan analisi kuantitatif. Analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan menggunakan KLT Densitometri. Densitometer dapat bekerja

secara serapan atau fluoresensi. Kebanyakan densitometer mempunyai sumber cahaya, monokromator untuk memilih panjang gelombang yang cocok, sistem untuk memfokuskan sinar pada lempeng, pengganda foton, dan rekorder (Gandjar, 2007).

Teknik pengukuran kadar senyawa dengan metode ini didasarkan pada pengukuran intensitas sinar yang diserap (absorpsi), intensitas sinar yang dipantulkan (reflaktansi), atau intensitas sinar yang diflurosensikan. Pengukuran didasarkan pada refleksi sinar datang sebagian diserap dan sebagian dipantukan. Banyaknya sinar yang direfleksikan akan ditangkap oleh alat yang disebut *reflectionphotomultiplier* dan kemudian diteruskan ke rekorder untuk diterjemahkan ke dalam suatu kromatogram (Najib, 2018).

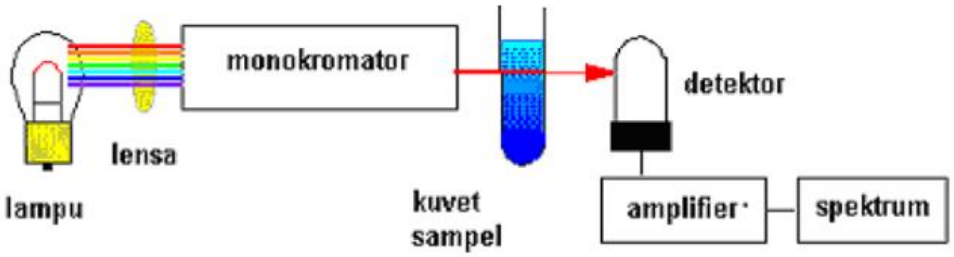
Penetapan kadar senyawa dengan menggunakan kombinasi KLT dan densitometri baik dilakukan karena lebih ekonimis, karena menggunakan fasa gerak yang sedikit, waktu yang relatif singkat dan dapat dilakukan penetapan kadar dengan beberapa sampel secara bersamaan (Najib, 2018).

II.7 Spektrofotometer UV-Visible

Salah satu teknik analisis spektroskopi adalah Spektrofotometer UV-Visible yang menggunakan sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dan cahaya tampak dengan instrumen spektrofotometer (Noviyanto, 2020). Spektrofotometer UV-Visible akan mengukur panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diserap atau

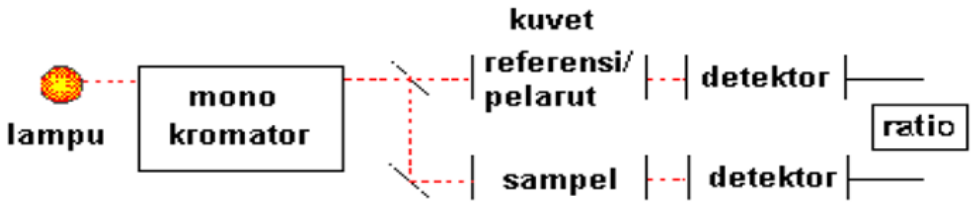
diabsorbsi oleh sampel (Dachriyanus, 2004). Jangkauan panjang gelombang ultraviolet adalah 190 nm hingga 380 nm dan cahaya tampak adalah 380 nm hingga 780 nm (Noviyanto, 2020).

Alat spektrofotometer UV-Visible yang memiliki sumber cahaya tunggal biasa disebut *single beam*, sinyal pelarut dihilangkan terlebih dahulu dengan mengukur pelarut tanpa sampel dan selanjutnya larutan sampel bisa diukur (Dachriyanus, 2004).



Gambar 2. Skema alat spektrofotometer UV-Vis *single-beam* (Dachriyanus, 2004)

Sedangkan alat spektrofotometer UV-Visible yang memiliki sumber cahaya ganda biasa disebut *double beam* merupakan alat yang lebih praktis dan hasilnya optimal, larutan sampel dapat dimasukkan secara bersama dengan larutan yang tidak mengandung sampel (Dachriyanus, 2004).



Gambar 3. Skema alat spektrofotometer UV-Vis *double-beam* (Dachriyanus, 2004)

Secara umum, spektrofotometer UV-Visible meliputi komponen-komponen sebagai berikut, yaitu (Gandjar, 2007):

1. Sumber-sumber lampu, pada panjang gelombang 190-350 nm digunakan lampu deuterium untuk daerah UV, sedangkan pada panjang gelombang 350-900 nm digunakan lampu halogen, kuarsa atau lampu tungsten untuk daerah *visible*.
2. Monokromator, berfungsi untuk mendispersikan cahaya ke dalam komponen-komponen panjang gelombangnya, kemudian akan dipilih oleh celah atau *slit*. Monokromator akan berputar sehingga panjang gelombang dengan kisaran tertentu akan dilewatkan pada sampel sebagai scan instrumen melewati spektrum.
3. Optik-optik, berfungsi untuk memecah sumber cahaya sehingga sumber cahaya dapat melewati dua kompartemen.

II.8 Response Surface Methodology (RSM)

Respone Surface Methodology atau RSM adalah suatu teknik matematika dan statistik yang digunakan untuk permodelan dan analisis masalah. Teknik ini berguna untuk mengembangkan, meningkatkan, dan mengoptimalkan proses, di mana respon dipengaruhi oleh beberapa faktor. Gagasan utama dari metode ini adalah mengetahui pengaruh variabel bebas terhadap respon, dan mendapatkan kondisi proses yang menghasilkan respon terbaik (Montgomery, 2013).