

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tumbuhan *Vitex trifolia* Linn atau yang umum dikenal di Indonesia sebagai tumbuhan legundi telah lama digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Daun *V. trifolia* memiliki manfaat sebagai antibakteri (Supiana, 2022), anti inflamasi (Yuda et al., 2020), antioksidan (Musa et al., 2020), dan anti kanker (Gong et al., 2021). Tumbuhan ini diketahui memiliki beberapa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya yaitu Terpenoid, Flavonoid, Antrakuinon, Lignan, Asam Lemak dan Fitosterol (Mottaghipisheh et al., 2024).

Salah satu senyawa yang telah di isolasi dari daun *V. trifolia* adalah viteksikarpin atau *Casticin* (*3',5-dihidroksi-3,4',6,7-tetramethoxyflavone*) yang merupakan senyawa *polymethoxyflavone* dari golongan senyawa Flavonoid (Chan et al., 2018). viteksikarpin memiliki potensi yang sangat besar dalam upaya pengobatan penyakit kanker (Ramchandani et al., 2020). Viteksikarpin memiliki kemampuan yang selektif terhadap sel kanker baik pada tingkatan sel sampai pada tingkatan molekuler (Carbone et al., 2023).

Viteksikarpin pada daun *V. trifolia* dapat diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut n-heksan (Alam et al., 2002). Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi sangatlah penting untuk keberhasilan suatu proses ekstraksi. Pemilihan pelarut dilakukan dengan mempertimbangkan sifat fisiko kimia dari pelarut (BPOM RI, 2023). Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi umumnya adalah zat kimia yang relatif toksik dan diperlukan dalam jumlah pelarut yang banyak, terutama jika digunakan metode maserasi atau perkolasi sehingga memerlukan biaya yang lebih banyak, selain itu, volatilitas pelarut menjadikannya berpotensi sebagai polutan yang berkontribusi terhadap pemanasan global, oleh sebab itu metode ekstraksi yang lebih ramah lingkungan (*green extraction*) terus dikembangkan (Chemat et al., 2019).

Deep-eutectic solvent (DES) merupakan pelarut ramah lingkungan yang terdiri dari campuran dua larutan utama yang bersifat *hydrogen bond acceptor* (HBA) dan *hydrogen bond donor* (HBD) yang aman digunakan serta cenderung lebih murah (Dong et al., 2021). Salah satu bahan yang dapat digunakan sebagai basis untuk NADEs adalah glukosa (Koh et al., 2023). NADEs berbasis glukosa diketahui dapat mengekstraksi senyawa golongan Flavonoid (Benvenuti et al., 2020). NADEs berbasis glukosa dapat dikombinasikan dengan beberapa bahan, diantaranya yaitu glukosa-asam sitrat (Cao et al., 2021; Yusuf et al., 2021) glukosa-asam laktat (Pisano et al., 2018), glukosa-asam tartrat (Fernandes et al., 2024), glukosa-asam malat (Ahmad et al., 2020), dan glukosa-urea (Baksi et al., 2021). Pemilihan metode ekstraksi juga berpengaruh pada proses ekstraksi senyawa bioaktif, dimana terdapat metode ekstraksi yang ramah lingkungan (*green extraction*) yaitu *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) dan *Microwave-Assisted*



Extraction (MAE) merupakan salah satu metode ekstraksi yang ramah lingkungan. Diperkirakan bahwa metode ini dapat mempercepat proses ekstraksi dan mengurangi penggunaan pelarut yang berlebih dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional (Soxhlet, maserasi), selain itu metode ini juga dapat mengurangi penggunaan pelarut Natural *Deep Eutectic Solvent* (NADEs) (Sasongko et al., 2021). *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) merupakan salah satu metode ekstraksi yang ramah lingkungan. Diperkirakan penggunaannya, metode ini menggunakan prinsip iradiasi gelombang mikro pada sampel dengan memanfaatkan energi gelombang

mikro Sehingga memungkinkan senyawa target pada tanaman dapat berdifusi dan larut dalam pelarut (Hiew et al., 2022).

Untuk mendapatkan kombinasi optimum dari beberapa kondisi ekstraksi seperti waktu ekstraksi, suhu ekstraksi, jenis pelarut, konsentrasi pelarut, rasio sampel-pelarut, dapat digunakan metode desain *Box-Behnken Design* (BBD), dengan pertimbangan bahwa BBD lebih ekonomis dan efisien dibandingkan model desain lainnya selain itu metode ini juga lebih cocok untuk menunjukkan tiga faktorial yang optimum (Dika et al., 2019)

Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan pemilihan *Natural Deep Eutectic solvent* (NADEs) terbaik untuk ekstraksi dan optimasi secara *Microwave-Assited Extraction* (MAE) guna mengekstraksi viteksikarpin dari tumbuhan *V. trifolia*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh penggunaan variasi NADES berbasis glukosa terhadap kandungan senyawa viteksikarpin dari daun *V. trifolia* yang diekstraksi menggunakan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) ?
2. Bagaimana kondisi optimal untuk mengekstraksi kandungan senyawa viteksikarpin dari daun *V. trifolia* menggunakan NADES dengan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh NADES berbasis glukosa terbaik dalam mengekstraksi menggunakan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) terhadap jumlah kandungan senyawa viteksikarpin dari daun *V. trifolia*.
2. Untuk menentukan kondisi yang optimal dalam mengekstraksi kandungan senyawa viteksikarpin dari daun *V. trifolia* menggunakan pelarut NADES dengan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE).

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan baru dalam pengembangan ilmu pengetahuan di bidang ilmu farmasi tentang optimasi penggunaan kombinasi *Natural Deep Eutectic solvent* (NADES) berbasis glukosa dengan bantuan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) untuk mengekstraksi senyawa viteksikarpin pada daun Legundi (*Vitex trifolia* Linn)



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini berupa eksperimental laboratorium, yang dikerjakan dengan menggunakan glukosa sebagai basis *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADEs) untuk mengekstraksi viteksikarpin dari daun Legundi (*Vitex trifolia* L.).

2.2 Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas farmasi dan Laboratorium Biofarmaka, Pusat Kegiatan Penelitian Universitas Hasanuddin. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli sampai Oktober 2024.

2.3. Alat dan Bahan

2.3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *microwave*, mikropipet, timbangan analitik, oven simplisia, corong Buchner, hotplate stirrer, densitometri dan peralatan gelas (Pyrex®) lainnya.

2.3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, asam sitrat, asam laktat, asam tartrat, asam malat, urea, glukosa, sampel daun *V. trifolia*, etil asetat, n-heksan, kertas saring, plat KLT dan viteksikarpin (mark Herb®).

2.4 Alat dan Bahan

2.4.1 Penyiapan Simplisia

Sekitar 5 kg sampel segar daun *V. trifolia* yang diambil dari desa Topejawa kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan. Sampel dikumpulkan dan disortasi basah kemudian dikeringkan menggunakan oven simplisia pada suhu 50°C selama 2 hari.

2.4.2 Pembuatan Larutan NADES

NADES disiapkan dengan kombinasi seperti yang terlihat pada tabel 1. Bahan yang digunakan sebagai basis dalam penelitian ini adalah glukosa yang dikombinasikan dengan asam sitrat, asam laktat, asam malat, asam tartrat dan urea. Pembuatan NADES dilakukan dengan penyiapan semua bahan yang digunakan dengan jumlah yang sesuai dengan perhitungan yang telah dilakukan. Dimana masing-masing variasi NADES di buat sebanyak 100 gram dengan rasio molar 1:1 dan ditambahkan aquadest sebanyak 50 ml, selanjutnya NADES dibuat dengan cara diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 800 rpm selama 30 menit dengan suhu 60 °C sampai terbentuk larutan bening, kemudian di dinginkan pada suhu ruang (Yusuf et al., 2021).



Optimized using
trial version
www.balesio.com

inasi orientasi NADES

NADES	Kombinasi	Perbandingan molar
sa	Asam sitrat	1:1
sa	Asam laktat	1:1
sa	Asam tartrat	1:1

4	Glukosa	Asam malat	1:1
5	Glukosa	Urea	1:1

2.4.3 Ekstraksi dengan *Microwave Assisted Extraction (MAE)*

Ekstraksi menggunakan NADEs dilakukan dengan mencampurkan simplisia *V.trifolia* sebanyak 1 g dengan variasi pelarut NADEs 1:10, kemudian sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat, selanjutnya diekstraksi menggunakan MAE dengan kombinasi yang dapat dilihat pada tabel 1. Ekstrak yang dihasilkan disaring dan dikeringkan dengan bantuan oven suhu rendah (45°C).

2.4.4 Skrining NADEs Berbasis Glukosa dan Analisis Secara KLT Densitometri

Skrining NADEs dilakukan dengan cara masing-masing hasil ekstrak variasi pelarut NADEs dengan konsentrasi ekstrak kental yang diencerkan dengan etil asetat sebanyak 0,1 g/ml kemudian ditotol menggunakan mikropipet sebanyak 5 µl pada fase diam lempeng TLC aluminium silica gel 60 F 254 ukuran 20 cm x 10 cm, batas bawah 2 cm dan batas atas 1 cm dan jarak setiap totolan ekstrak 0,5 cm dengan tiga kali pengulangan, lalu dielusi dengan fase gerak Heksan : Etil asetat (2:1). Selanjutnya lempeng yang sudah ditotol masing-masing jenis ekstrak yang telah di elusi dimasukkan ke dalam instrumen *Densitometry CAMAG TLC Scanner 3* program analisis *winCATS Planar chromatography*. Kemudian dianalisis hasil profil densitogramnya dengan lamda (λ) max 254 dan 366. Ditentukan Kombinasi NADEs terbaik dengan melihat NADEs yang dapat mengekstraksi viteksikarpin dengan kadar tertinggi. Kadar dapat di hitung dengan mengacu pada hasil AUC yang diperoleh dengan menggunakan persamaan kurva baku viteksikarpin.

2.4.5 Desain Optimasi Ekstraksi Viteksikarpin

Optimasi Ekstraksi viteksikarpin dilakukan dengan bantuan aplikasi *Design expert 13* menggunakan model *Box-Behnken Design (BBD)* dari kombinasi NADEs berbasis glukosa terbaik dari hasil skrining dengan bantuan *microwave*. Optimasi dilakukan terhadap rasio simplisia-pelarut (1:10, 1:20 dan 1:30), kekuatan *microwave* (10 % (144 watt), 30 % (432 watt), dan 50 % (720 watt)) dan waktu ekstraksi (1, 3, dan 5 menit). Rancangan optimasi dapat dilihat pada tabel 3.

2.4.6 Analisis Kadar Viteksikarpin Dari Hasil Optimasi Ekstraksi

Analisis kadar viteksikarpin dilakukan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak kering sebanyak 0,5 g/ml yang di cuplik 200 µl dan di encerkan sebanyak 1 ml dengan menggunakan etil asetat kemudian di totol 5 µl pada plat KLT dan di analisis menggunakan instrument *Densitometry CAMAG TLC Scanner 3*.



Verifikasi Hasil Optimasi

si di olah dengan metode analisis statistik *respon surface* menggunakan aplikasi *Design Expert 13*, data analisis meliputi *re-surface*, persamaan hubungan faktor dan respon serta prediksi