

**PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES
EKSTRAKSI BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia*
L.) SECARA SONIKASI BERDASARKAN KADAR
KUMARIN TOTALNYA**

**DETERMINATION OF OPTIMUM PARAMETERS IN
THE PROCESS OF NONI (*Morinda citrifolia* L.)
EXTRACTION BY SONICATION BASED ON TOTAL
COUMARINS**

**AWAL RAMDANI
N011 18 1518**



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

**PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES ESKTRAKSI BUAH
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) SECARA SONIKASI
BERDASARKAN KADAR KUMARIN TOTALNYA**

**DETERMINATION OF OPTIMUM PARAMETERS IN THE PROCESS OF
NONI (*Morinda citrifolia* L.) EXTRACTION BY SONICATION BASED
ON TOTAL COUMARINS**

SKRIPSI

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

**AWAL RAMDANI
N011 18 1518**

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

**PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES ESKTRAKSI BUAH
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) SECARA SONIKASI
BERDASARKAN KADAR KUMARIN TOTALNYA**


AWAL RAMDANI


N011 18 1518

Disetujui oleh:

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

Pada Tanggal, 03 Februari 2022

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI
PENENTUAN PARAMETER OPTIMUM PROSES ESKTRAKSI BUAH
MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) SECARA SONIKASI
BERDASARKAN KADAR KUMARIN TOTALNYA

DETERMINATION OF OPTIMUM PARAMETERS IN THE PROCESS OF
NONI (*Morinda citrifolia* L.) EXTRACTION BY SONICATION BASED
ON TOTAL COUMARINS

Disusun dan diajukan oleh:


AWAL RAMDANI
N011 18 1518


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal 21/1/2022 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

Pt. Ketua 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 : Awal Ramdani
Nim : N011 18 1518
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul “Penentuan Paramater Optimum Proses Ekstraksi Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Secara Sonikasi Berdasarkan Kadar Kumarin Totalnya” 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, 3 Februari 2022
Yang menyatakan,

Awal Ramdani



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah Rabiil'alamiin segala puji dan syukur bagi Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya yang memberikan kesehatan, kekuatan baik fisik maupun mental sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan dapat memperoleh gelar sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih dan rasa hormat yang tulus kepada beberapa pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan baik itu moral maupun bantuan material dalam penyusunan skripsi ini sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini meskipun banyak hal sulit yang dihadapi. Penulis mengucapkan rasa syukur dan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud.,Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Dra. Rosany Tayeb S.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan waktunya untuk membimbing, memberikan arahan serta saran dan sabar terhadap penulis pada saat proses penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Dr Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. dan Ibu Sumarheni S.Si., M.Sc., Apt. selaku penguji yang telah meluangkan waktunya dalam memberikan masukan dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini. Seluruh Staf dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya dan membimbing

penulis selama menempuh pendidikan studi S1 dan juga untuk para staf pegawai atas segala fasilitas dan pelayanan yang telah menunjang keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

3. Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah membimbing selama proses menyelesaikan studi di fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
4. Seluruh Bapak/ Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya dan membimbing penulis selama masa studi S1 juga seluruh staf akademik dan segala fasilitas dan pelayanan yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh studi sehingga menyelesaikan penelitian ini.
5. Sahabat-sahabat penulis, Delly, Acce, NK, Farhana, Kina, Fitrah, Hartina, Ratu, Irfan, Sarman, Ryan, Koko, Jannah, Ainun, Asti, Alung, Bujang, Elga, Ati, Aqilah, Hilda, Aas, dan Zaldy, untuk setiap dukungan, doa, semangat dan motivasi yang diberikan kepada penulis
6. Rekan-rekan Korps. Asisten Farmakognosi-Fitokimia yang senantiasa membantu dan memberikan dukungan kepada penulis.
7. Teman Teman *Mengkudu* , Jumasna dan Indo Asmarani untuk setiap dukungan, doa serta bantuan yang diberikan kepada penulis

8. Teman-teman angkatan “GEMF18ROZIL” atas kebersamaan yang diberikan selama penulis berada di bangku perkuliahan, melewati suka dan duka dalam perkuliahan dan selama penyelesaian skripsi.
9. Ucapan terima kasih yang setulus-tulusnya khususnya kepada orang tua penulis yang saat ini sudah berada di alam kubur yang telah membesarkan saya walaupun tidak sempat melihat saya sarjana, serta keluarga penulis yang tanpa henti memberikan dukungan, motivasi, kasih sayang, serta doa yang tulus yang selalu mengiringi langkah penulis
10. Semua pihak yang telah membantu yang tidak sempat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap agar skripsi ini dapat memberikan manfaat dalam sumbangsih ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang Farmasi dan dapat dijadikan acuan untuk mengembangkan penelitian penelitian selanjutnya

Makassar 3 februari 2022



Awal Ramdani

ABSTRAK

AWAL RAMDANI Penentuan Parameter Optimum Proses Ekstraksi Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Secara Sonikasi Berdasarkan Kadar Kumarin Totalnya (Dibimbing oleh Muhammad Raihan and Rosany Tayeb).

Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dari suku Rubiaceae memiliki manfaat untuk mengobati radang sendi, diabetes, tekanan darah tinggi, nyeri, melancarkan menstruasi, sakit kepala, penyakit jantung, AIDS, kanker dan berbagai penyakit lainnya. Beberapa senyawa aktif telah diidentifikasi dari buah mengkudu, salah satunya turunan kumarin yaitu skopoletin atau 7-hidroksi-6-metoksikumarin dan skopolin yang merupakan golongan hidroksi kumarin yang memiliki efek antihipertensi, antiinflamasi dan antialergi. Oleh karena itu pada penelitian ini, akan dilakukan optimasi proses ekstraksi dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) secara *Ultrasound- assisted Extraction (UAE)* dengan menggunakan dua parameter yaitu rasio pelarut-sampel dan waktu ekstraksi terhadap kadar kumarin total dalam ekstrak yang diperoleh. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan bahwa proses optimalisasi ekstraksi buah mengkudu dengan menggunakan metode UAE dengan pelarut metanol didapatkan persen rendemen yang optimum sebesar >3% yang diperoleh pada rasio simplisia dan pelarut 1:23 dengan lama waktu ekstraksi 51 menit. Sedangkan kadar kumarin yang optimum diperoleh sebesar >3,5 mg/g pada rasio simplisia dan pelarut 1:34 dengan lama waktu ekstraksi 8 menit.

Kata Kunci : *Morinda citrifolia* L., Kumarin, UAE

ABSTRACT

AWAL RAMDANI Determination Of Optimum Parameters im The Process Of Noni(*Morinda citrifolia* L.) Extraction By Sonication Based On Total Coumarins (Supervised by Muhammad Raihan and Rosany Tayeb).

The noni (*Morinda citrifolia* L.) from the Rubiaceae family used for treating arthritis, diabetes, high blood pressure, pain, stimulating menstrual flow, headaches, heart disease, AIDS, cancer and various other diseases. Several active compounds have been identified from noni fruit, one of which is coumarin derivatives, namely scopoletin or 7-hydroxy-6-methoxyumarin and scopoline which is a hydroxy coumarin group that has antihypertensive, anti-inflammatory and antiallergic effects. Therefore, in this study, the extraction process from the noni fruit (*Morinda citrifolia* L.) will be optimized by Ultrasound-assisted Extraction (UAE) using two parameters, the solvent-sample ratio and extraction time to the total coumarin content in the extract obtained. The results showed that the optimization process of noni fruit extraction using the UAE method with methanol as solvent showed the optimum yield percentage >3% was obtained at ratio of simplicia and solvent 1:23 with extraction time of 51 minutes. Meanwhile, the optimum coumarin content was obtained >3,5mg/g at the ratio of simplicia and solvent 1:34 with extraction time of 8 minutes.

Keywords: *Morinda citrifolia* L., Coumarin, UAE

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Uraian Tanaman	4
II.2 Simplisia	6
II.3 Ekstraksi	6
II.4 Spektrofotometri UV-Vis	16
II.5 Response Surface Methodology	19
BAB III METODE PENELITIAN	22
III.1 Alat dan Bahan	22
III.2 Metode Kerja	22

III.3 Optimasi Proses Ekstraksi	23
III. 4 Ekstraksi dengan metode ultrasound	23
BAB IV Hasil Dan Pembahasan	24
IV.1 Hasil Analisis Rendemen Ekstrak Optimum	25
IV.2 Hasil Analisis Kadar Kumarin Total Optimum	26
BAB V PENUTUP	27
V.1 Kesimpulan	27
V.2 Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	33

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Absorpsi sinar UV λ_{maks} dari beberapa pelarut	18
2. Penentuan parameter uji untuk metode ekstraksi	23
3. Variable selected for optimization of spektrofotometri Uv-Vis	27
4. Hasil persen rendeman dan kadar kumarin	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Buah Mengkudu	4
2. Struktur kimia senyawa skopoletin	5
3. Proses Maserasi	8
4. Perkolator	10
5. Rangkaian Alat Soklet	11
6. Rangkaian Alat Refluks	12
7. Rangkaian Alat <i>Microwave Assisted Extraction</i>	13
8. Rangkaian Alat <i>Supercritical Fluid Extraction</i>	15
9. Rangkaian Alat <i>Ultrasound Assisted Extraction</i>	16
10. <i>Pareto Chart</i> dari %rendemen vs waktu;rasio pelarut	25
11. <i>Pareto chart</i> dari kadar kumarin vs waktu;rasio pelarut	26

DAFTAR SINGKATAN

μm	= <i>micrometer</i>
nm	= nanometer
UV	= Ultra Violet
Vis	= Visibel
PPM	= <i>Parts per million</i>
RSM	= <i>Response surface Methodology</i>
CCD	= <i>Central composite design</i>
UAE	= <i>Ultrasonic-assisted Extraction</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja Penelitian	33

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Metabolit sekunder adalah senyawa yang disintesis oleh tumbuhan, mikroba, atau hewan yang digunakan untuk menunjang kehidupannya. Penggolongan utama senyawa metabolit sekunder terdiri atas terpenoid, fenil propanoid, poliketida, dan alkaloid. Yang memiliki aktifitas farmakologi. Di bidang farmasi secara khusus, metabolit sekunder digunakan dan dipelajari sebagai kandidat obat atau senyawa penuntun (*lead compound*) (Saifuddin, 2014).

Tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dari suku Rubiaceae yang telah digunakan dalam pengobatan tradisional di Indonesia. Buah mengkudu memiliki manfaat untuk mengobati radang sendi, diabetes, tekanan darah tinggi, nyeri, melancarkan menstruasi, sakit kepala, penyakit jantung, AIDS, kanker, tukak lambung, keseleo, depresi mental, dan kepikunan. Beberapa senyawa aktif telah diidentifikasi dari buah mengkudu, salah satunya turunan kumarin yaitu skopoletin atau 7-hidroksi-6-metoksikumarin. Selain skopoletin, terdapat jenis kumarin yang lain dalam buah mengkudu yaitu skopolin (Choi *et al.*, 2021). Senyawa ini merupakan golongan hidroksi kumarin yang memiliki efek antihipertensi, antiinflamasi dan antialergi (Wang *et al.*, 2002).

Menurut Lai *et al.*, (2014) telah melakukan penelitian mengenai optimasi ekstraksi dari tanaman *Rhus typhina* L. yang dimana waktu ekstraksi menjadi satu parameter yang digunakan dalam pengoptimalan ekstraksinya. Sedangkan menurut Tatke dan Rajan (2014), mengekstraksi skopoletin dari *Convolvulus pluricaulis* menggunakan beberapa metode ekstraksi seperti metode *Soxhlet*, *reflux*, *supercritical fluid*, *microwave-assisted* dan *Ultrasonik-assisted*, dan hasil tertinggi hanya 45,1% dengan menggunakan metode ekstraksi *microwave-assisted* pada 560 Fwatt.

Metode *Ultrasonic-assisted Extraction* (Sonikasi) adalah metode ekstraksi yang menggunakan bantuan gelombang ultrasonik. Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi. Kelebihan utama ekstraksi yang menggunakan gelombang ultrasonik adalah waktu ekstraksi yang lebih singkat jika dibandingkan dengan metode konvensional seperti maserasi, Refluks, dan soxhlet (Luque-García dan Luque De Castro, 2003). Selain itu, pada metode ini juga pelarut yang digunakan lebih efisien dalam proses ekstraksi dan dapat memilih pelarut yang dimungkinkan lebih efisien dan selektif dalam ekstraksi (Capelo-Martinez, 2009). Sonikasi memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan teknik ekstraksi yang lain seperti jumlah pelarut yang digunakan lebih sedikit, sederhana, dan efisien (Lima *et al.*, 2019).

Menurut Radojkovic *et al.* (2012), *Response Surface Methodology* (RSM) adalah kumpulan statistik dan matematika teknik yang berguna untuk mengembangkan, meningkatkan, dan mengoptimalkan proses, di

mana respon dipengaruhi oleh beberapa faktor (variabel independen). *Response Surface Methodology* (RSM) tidak hanya mendefinisikan pengaruh variabel independen, tetapi juga menghasilkan model matematis, yang menjelaskan proses kimia atau biokimia. Di samping itu, keunggulan metode RSM ini di antaranya tidak memerlukan data-data percobaan dalam jumlah yang besar dan tidak membutuhkan waktu lama (Iriawan dan Astuti, 2006).

Oleh karena itu pada penelitian ini, akan dilakukan optimasi proses ekstraksi dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) secara *Ultrasound-assisted Extraction* (Sonikasi) dengan menggunakan dua parameter yaitu rasio pelarut-sampel dan waktu ekstraksi terhadap kadar kumarin total dalam ekstrak yang diperoleh.

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana kondisi optimal yang sesuai untuk mengekstraksi senyawa kumarin pada buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction*?

I.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui kondisi optimal yang sesuai untuk mengekstraksi senyawa kumarin pada buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tanaman

II.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi dari tanaman mengkudu menurut Conquist (1981)

adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Sub Divisio : Angiospermae

Class : Dicotyledonae

Ordo : Rubiales

Family : Rubiaceae

Genus : Morinda

Spesies : *Morinda citrifolia* L. **Gambar 1. Buah Mengkudu (Koleksi Pribadi)**

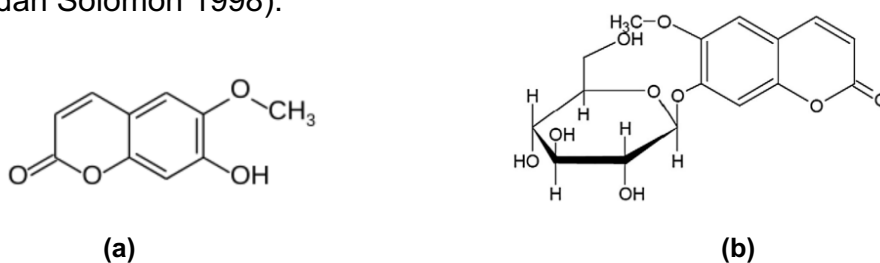


II.1.2 Morfologi Tanaman

Mengkudu merupakan tanaman perdu, yaitu berkayu, tinggi dapat mencapai 7 meter, tumbuh liar di tepi hutan, ladang dan pinggir jalan. Tanaman ini tumbuh tegak atau membengkok. Daun ukurannya lebar, bulat, tepi rata, agak tebal, bagian tepi sedikit runcing, warna hijau tua, bertangkai pendek. Bunga muncul dari ketiak daun, bertangkai, rapat, mahkota bunga berbentuk tabung, putih. Buah lonjong, jika telah masak berair dan berdaging, aroma kurang sedap (Sarida *et al.*, 2010)

II.1.3 Senyawa Fitokimia

Buah mengkudu mengandung berbagai senyawa yang penting bagi kesehatan. Hasil penelitian membuktikan bahwa buah mengkudu mengandung senyawa metabolit sekunder yang sangat bermanfaat bagi kesehatan, seperti senyawa alkaloid (xeronin), polisakarida (asam glukoronat, glikosida), dan skopoletin. Selain itu beberapa golongan Senyawa telah berhasil di isolasi dari buah mengkudu yaitu turunan antrakuinon dalam mengkudu antara lain adalah morindin, morindon dan alizarin, sedangkan alkaloidnya antara lain xeronin dan proxeronin (Winarti, 2005 dan Solomon 1998).



Gambar 2. Struktur senyawa skopoletin (a) struktur senyawa skopolin (b)
(Wang et al., 2002; Pan et al., 2009)

II.1.4 Aktivitas Farmakologi

Berdasarkan penelitian Antara et al. (2001) menyatakan bahwa sari buah mengkudu dapat menyembuhkan sakit kepala yang terus-menerus, rasa sakit pada otot saraf, dan nyeri sendi. Dilaporkan buah mengkudu berkhasiat untuk mengobati beberapa penyakit degeneratif seperti kanker, tumor, dan diabetes. Hal tersebut membuat produk olahan buah mengkudu diproduksi secara luas dalam berbagai merek dengan klaim dapat mengobati berbagai jenis penyakit seperti tekanan darah tinggi, radang ginjal, radang empedu, disentri, liver, diabetes, cacingan, artitis,

atherosklerosis, sakit perut, dan masuk angin (Antara *et al.*, 2001). Salah satu komponen utama mengkudu yang dipilih sebagai senyawa marker adalah skopoletin yang memiliki aktivitas anti hipertensi, antiinflamasi dan antihistamin (Osman, dkk. 2018).

II.2 Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 1995). Simplisia terbagi atas tiga, yaitu:

1. Simplisia nabati merupakan simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman, maupun eksudat tanaman.
2. Simplisia hewani merupakan simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan, maupun zat yang dihasilkan hewan dan belum berupa zat kimia murni.
3. Simplisia mineral merupakan simplisia yang berasal dari bumi, baik telah diolah atau belum, dan tidak berupa zat kimia murni (Depkes, 1979)

II.3 Ekstraksi

Ekstraksi secara umum merupakan suatu proses pemisahan zat aktif dari suatu padatan maupun cairan dengan menggunakan bantuan pelarut. Pada umumnya ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam

campuran. Pemilihan pelarut diperlukan dalam proses ekstraksi, karena pelarut yang digunakan harus dapat memisahkan atau mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan zat-zat lainnya yang tidak diinginkan (Prayudo, 2015). Adapun faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi yaitu (Xiao *et al.*, 2005) :

1. Jenis pelarut mempengaruhi senyawa yang tersari, jumlah zat terlarut yang terekstrak dan kecepatan ekstraksi
2. Suhu, kenaikan suhu akan meningkatkan jumlah zat terlarut ke dalam pelarut.
3. Rasio pelarut dan bahan baku yang besar akan memperbesar pula jumlah senyawa yang terlarut. Akibatnya laju ekstraksi akan semakin meningkat.
4. Ukuran partikel yang semakin kecil akan meningkatkan laju ekstraksi. Dalam arti lain, rendemen ekstrak akan semakin besar bila ukuran partikel semakin kecil.
5. Waktu ekstraksi yang semakin lama akan menghasilkan ekstrak yang lebih banyak, karena kontak antara zat terlarut dengan pelarut lebih lama

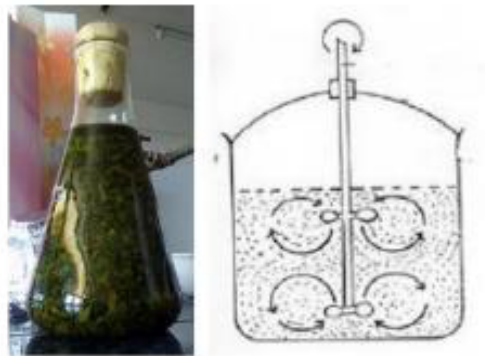
II.3.1 Jenis-Jenis Metode Ekstraksi

II.3.2.1 Cara Dingin

II.3.2.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan proses ekstraksi dengan merendam simplisia dalam pelarut organik yang dilakukan pada suhu kamar sehingga dapat

mengurangi terjadinya kerusakan senyawa pada sampel. Pada metode ini, terjadi kesetimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel, sehingga perlu dilakukan penggantian pelarut secara berulang (Hanani, 2014). Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Metode ekstraksi maserasi sangat cocok untuk sampel yang mengandung senyawa tidak tahan pemanasan (Darwis, 2000)



Gambar 3. Proses Maserasi (Hamdani,2014)

II.3.2.1.2 Perkolasi

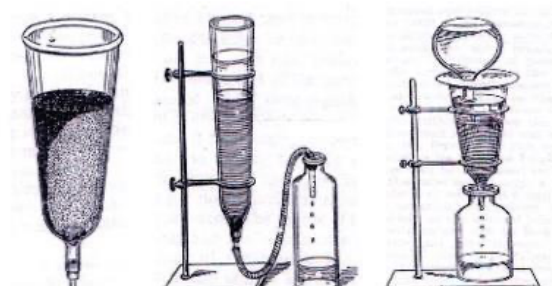
Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan dilakukan pada temperatur ruangan (kamar). Simplisia ditempatkan dalam bejana silinder yang dibagian bawah diberi sekat berpori, cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut. Cairan akan turun dan ditampung dalam wadah penampung (Dirjen POM, 1986).

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsipnya adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori, cairan penyari dialirkan dari atas ke

bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif dalam sel-sel simplisia yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerakan ke bawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan tekanan penyari dari cairan di atasnya dikurangi dengan daya kapiler yang cenderung untuk menahan gerakan ke bawah. Dikenal ada beberapa bentuk perkolator, yaitu (Dirjen POM, 1986) :

1. Perkolator bentuk tabung
2. Perkolator bentuk paruh
3. Perkolator bentuk corong

Pemilihan bentuk perkolator bergantung pada jenis simplisia yang akan disari, misalnya serbuk kina yang mengandung sejumlah besar zat aktif yang larut dan pekat, tidak baik bila diperkolasi dengan perkolator sempit sebab perkolat akan menjadi pekat dan berhenti mengalir. Pada pembuatan tingtur dan ekstrak cair, jumlah cairan penyari yang tersedia lebih banyak dibandingkan dengan jumlah cairan penyari yang diperlukan untuk melarutkan zat aktif. Untuk itu digunakan perkolator lebar untuk mempercepat proses perkolasi. Bahan yang akan disari dimasukkan ke dalam perkolator tidak lebih dari dua pertiga dari tinggi perkolator (Dirjen POM, 1986).

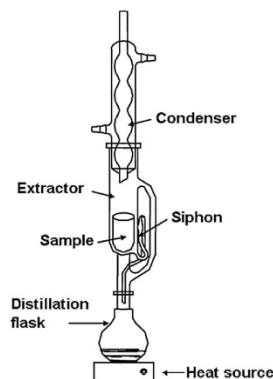


Gambar 4. Perkolator (Irawan, 2010)

II.3.2.2 Cara Panas

II.3.2.2.1 Sokhletasi

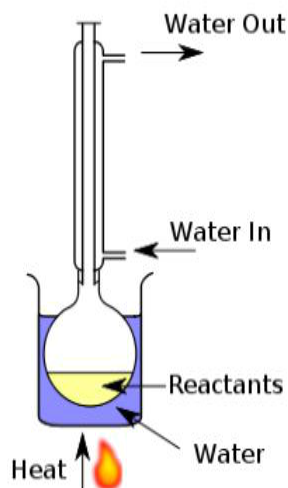
Sokhletasi merupakan proses ekstraksi yang menggunakan penyarian berulang dan pemanasan. Penggunaan metode sokletasi adalah dengan cara memanaskan pelarut hingga membentuk uap dan membasahi sampel. Pada metode ini, sampel dan ekstrak hasil ekstraksi berada pada labu yang berbeda. Pelarut yang sudah membasahi sampel kemudian akan turun menuju labu pemanasan dan disebut satu siklus ekstraksi. Pelarut yang telah turun ke labu ekstrak kemudian kembali menjadi uap untuk membasahi sampel (Darwis, 2000). Metode ini dikenal sebagai ekstraksi sinambung karena terjadi sirkulasi pelarut yang selalu membasahi sampel sehingga dapat menghemat penggunaan pelarut. Proses ini sangat baik untuk senyawa yang tidak terpengaruh oleh panas. (Hanani, 2014)



Gambar 5. Rangkaian Alat Sokhlet (Luque and Priego, 2010)

II.3.2.2.2. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur pada titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Cara ini termasuk cara ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dalam cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan pendingin tegak, kemudian dipanaskan sampai mendidih cairan penyari akan menguap, uap tersebut diembunkan oleh pendingin tegak dan turun kembali menyari zat aktif dalam simplisia demikian seterusnya. Ekstraksi secara refluks biasanya dilakukan selama 3 x 4 jam. Keuntungan dari metode ini adalah digunakan untuk mengekstraksi sampel sampel yang mempunyai tekstur kasar dan tahan pemanasan langsung. Kerugiannya adalah membutuhkan volume total pelarut yang besar dan sejumlah manipulasi dari operator (Sastromidjojo, 1985).



Gambar 6. Rangkaian Alat Refluks (Ditjen POM,2000)

II.3.2.2.3 Infusa

Infusa merupakan cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, pada suhu 96-98°C selama 15-20 menit (dihitung setelah suhu 96°C tercapai). Bejana infusa tercelup dalam tangas air. Cara ini cocok untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun (Hanani, 2014).

II.3.2.2.4 Dekokta

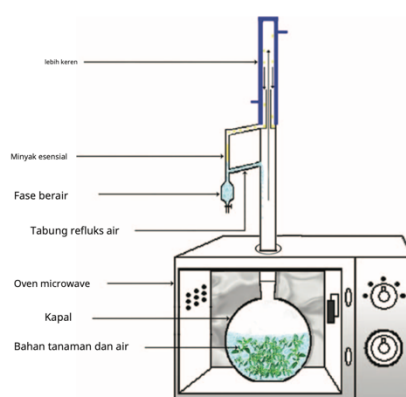
Dekokta merupakan cara ekstraksi yang hampir mirip dengan infusa, yang membedakan hanya waktu ekstraksinya lebih lama yaitu 30 menit dan suhunya mencapai titik didih air (Hanani, 2014).

II.3.2.3 Metode Ekstraksi Modern

II.3.2.3.1 *Microwave-assisted extraction*

Ekstraksi dibantu dengan Microwave (MAE) juga merupakan teknik ekstraksi berdasarkan pemanasan pelarut organik. Prinsipnya bahwa

sampel dan pelarut yang tepat (atau campuran pelarut) dimasukkan ke dalam bejana, yang kemudian diberi tekanan dan dipanaskan oleh gelombang mikro. Setelah 5 hingga 20 menit, biasanya ekstraksi selesai, dan bejana dibiarkan dingin sebelum mengeluarkan sampel / campuran pelarut. Pelarut harus disaring untuk menghilangkan partikel sampel sebelum analisis komponen yang diekstraksi (Williams *et al.*, 2014)



Gambar 7. Rangkaian Alat *Microwave Assisted Extraction*(Golmakani, 2008)

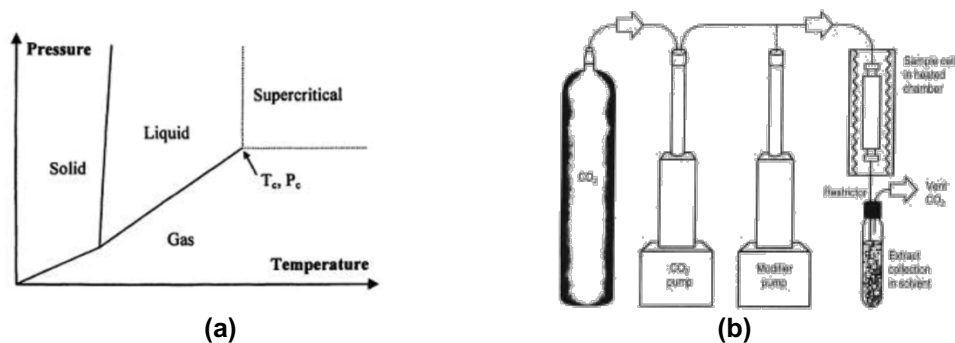
II.3.2.3.2 *Supercritical Fluid Extraction*

Fluida superkritis adalah unsur atau senyawa di atas tekanan dan suhu kritisnya, seperti terlihat pada Gambar 8. (a) 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).

Beberapa fluida superkritis (SF) dapat digunakan sebagai pelarut ekstraksi dalam SFE, tetapi hanya CO₂ yang akan dibahas di sini karena toksisitasnya yang rendah, suhu dan tekanan kritis yang rendah dan penerapan yang luas. Salah satu fluida superkritis yang banyak digunakan dalam ekstraksi adalah karbondioksida (CO₂) (Pourmortazavi *et al.*, 2014).

SFE dilakukan dengan memompa SF melalui bejana yang diisi dengan sampel, dan selanjutnya mengurangi tekanan SF untuk pengumpulan komponen yang diekstraksi. Oleh karena itu, instrumen SF terdiri dari satu atau dua pompa tekanan tinggi untuk pengiriman SF dan diperlukan juga kosolvent polar seperti etanol, bejana bertekanan tinggi untuk menampung sampel, pembatas dan perangkat pengumpul (misalnya wadah kosong atau tabung gelas yang mengandung pelarut pengumpul). Wadah sampel ditempatkan dalam oven untuk mengontrol suhu ekstraksi. Ilustrasi dari susunan instrumen SFE dapat dilihat pada Gambar 8. (b) (Pourmortazavi *et al.*, 2014).



Gambar 8. Rangkaian Alat *Supercritical Fluid Extraction* Oliveira et al. (2014)

II.3.2.3.3 *Ultrasound-Assisted Extraction*

Ultrasonic-assisted extraction (Sonikasi) adalah salah satu metode ekstraksi 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 Hernandez, 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).



Gambar 9. Rangkaian Alat *Ultrasound Assisted Extraction* (Yamali, 2020)

II.4 Spektrofotometri Uv- Vis

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang. Kelebihan spektrofotometer dengan fotometer adalah panjang gelombang dari sinar putih dapat lebih di deteksi dan cara ini diperoleh dengan alat pengurai seperti prisma, grating atau celah optis. Pada fotometer filter dari berbagai warna yang mempunyai spesifikasi melewatkan trayek pada panjang gelombang tertentu (Gandjar, 2007).

Pada spektrofotometri visibel yang digunakan sebagai sumber sinar/energi adalah cahaya tampak (visibel). Cahaya visibel termasuk spektrum elektromagnetik yang dapat ditangkap oleh mata manusia. Panjang gelombang sinar tampak adalah 380 sampai 750 nm. Sehingga semua sinar yang dapat dilihat oleh kita, entah itu putih, merah, biru, hijau, atau apapun selama cahaya dapat dilihat oleh mata, maka sinar tersebut termasuk ke dalam sinar tampak (visibel). Sumber sinar tampak yang umumnya dipakai pada spektro visible adalah lampu tungsten. Sampel yang dapat dianalisa dengan metode ini hanya sample yang memiliki warna. Hal ini menjadi kelemahan tersendiri dari metode spektrofotometri visibel. Oleh karena itu, untuk sampel yang tidak memiliki warna harus terlebih dulu dibuat berwarna dengan menggunakan reagen spesifik (Marzuki Asnah, 2012).

Spektrum elektromagnetik dibagi dalam beberapa daerah cahaya. Suatu daerah akan diabsorpsi oleh atom atau molekul dan panjang gelombang cahaya yang diabsorpsi dapat menunjukkan struktur senyawa yang diteliti. Spektrum elektromagnetik meliputi suatu daerah panjang gelombang yang luas dari sinar gamma gelombang pendek berenergi tinggi sampai pada panjang gelombang mikro (Marzuki Asnah, 2012).

Keuntungan utama metode spektrofotometri adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka

yang terbaca langsung dicatat oleh detektor dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Yahya S,2013).

II.4.1 Syarat-syarat pengukuran spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometri UV-Visible dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Pada umumnya sampel harus diubah menjadi suatu larutan yang jernih untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan beberapa persyaratan pelarut yang dipakai antara lain: (Skoog, DA, 1996)

1. Harus melarutkan sampel dengan sempurna.
2. Pelarut yang dipakai tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna (tidak boleh mengabsorpsi sinar yang dipakai oleh sampel).
3. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
4. Kemurniannya harus tinggi.

Tabel 1. Absorpsi sinar UV pada λ_{maks} dari beberapa pelarut

Pelarut	$\lambda_{maks.}$, nm	Pelarut	$\lambda_{maks.}$, nm
Asetronitril	190	n- heksana	201
Kloroform	240	Metanol	205
Sikloheksana	195	Isooktana	195
1-4 dioksan	215	Air	190
Etanol 95%	205	Aseton	330
Benzena	285	Piridina	305

Pelarut yang sering digunakan adalah air, etanol, metanol dan n-heksana karena pelarut ini transparan pada daerah UV Untuk mendapatkan

spektrum UV-Vis yang baik perlu diperhatikan pula konsentrasi sampel. Hubungan antara absorbansi terhadap konsentrasi akan linier ($A \approx C$) apabila nilai absorbansi larutan antara 0,2-0,8 ($0,2 \leq A < 0,8$) atau sering disebut sebagai daerah berlakunya hukum Lambert-Beer dengan lebar sel 1 cm, dan besarnya absorbansi ini untuk senyawa yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang mengalami eksitasi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$, dengan ϵ 8.000 – 20.000; konsentrasi larutan sekitar 4×10^5 - mol/L; sedangkan untuk senyawa yang hanya memiliki eksitasi elektron $n \rightarrow \pi^*$, ϵ 10 – 100, maka konsentrasinya sekitar 10^2 -mol/L. Bila senyawa yang akan diukur tidak diketahui Mr-nya, konsentrasi larutan dengan absorbansi tersebut biasanya digunakan 10 ppm, bila absorbansi yang diperoleh masih terlalu tinggi, larutan sampel tersebut harus diencerkan; sebaliknya bila terlalu rendah, maka jumlah sampel harus ditambah (Skoog, DA, 1996)

II.5 Response Surface Methodology

Metode permukaan respon (*Response Surface Methodology*) adalah metode yang menggunakan teknik statistik dan matematika yang digunakan untuk membuat model dan menganalisa respon y yang dipengaruhi oleh beberapa variabel bebas (factor x) guna mengoptimalkan respon tersebut dan berguna untuk mengembangkan, meningkatkan, dan mengoptimalkan proses (Montgomery, 2001). Metode ini memiliki aplikasi penting dalam desain, pengembangan, dan memformulasi produk baru. Aplikasi RSM ini sangat luas digunakan dalam bidang industri, terutama

dalam situasi dimana beberapa variabel input berpotensi mempengaruhi beberapa ukuran kinerja atau karakteristik kualitas produk atau proses. Dalam teknik ini, tujuan utamanya adalah untuk mengoptimalkan permukaan respon yang dipengaruhi oleh berbagai parameter. RSM juga mengkuantifikasi hubungan antara parameter input yang dapat dikontrol dan permukaan respon yang diperoleh (Myers, Raymond H, *et al.*, 2009).

II.5.1 Central Composite Design

Dalam proses optimasi pada umumnya menggunakan desain central composite design (CCD). Model CCD adalah bagian integral dari mitologi permukaan respons. Keuntungan terbesar dari model optimasi jenis ini adalah lebih akurat, dan tidak perlu eksperimen faktorial tiga tingkat untuk membangun model kuadrat orde kedua. Model CCD disebut juga A Box-Wilson Central Composite Design. Dalam desain ini, titik pusat akhirnya ditambah dengan kelompok "titik bintang" yang memungkinkan estimasi kelengkungan (Granato,2014). Adapun kelompok titik desain pada CCD sebagai berikut (Montgomery, 2001) :

- a. Titik desain faktorial dua tingkat atau faktorial pecahan, terdiri dari kemungkinan kombinasi tingkat faktor +1 dan 1.
- b. Titik-titik aksial (disebut titik bintang) tetap secara aksial pada suatu jarak katakanlah dari pusat untuk menghasilkan suku-suku kuadrat.
- c. Titik tengah yang mewakili suku-suku ulangan; titik pusat memberikan perkiraan yang baik dan independen dari kesalahan eksperimental.

II.5.2 Box Behnken Design

Berdasarkan penelitian Manohar tahun 2013 dengan menggunakan metode respon permukaan *Box Behnken Design* dibandingkan dengan Taguchi Design untuk percobaannya, metode *Box Behnken Design* direkomendasikan untuk proses optimasi dengan tiga variabel. Kemudian pada penelitian Endang tahun 2013 menyebutkan bahwa salah satu perbedaan Box-Behnken Design dengan Central Composite Design adalah pada Box- Behken Design tidak ada axial/star runs pada rancangannya. Tidak adanya axial/star runs ini menyebabkan box-behken lebih efisien dalam rancangan, karena melibatkan lebih sedikit unit percobaan. Menurut penelitian Oguz Perincek pada tahun 2013 menyebutkan bahwa *Box Behnken Design* cocok digunakan dalam optimasi yang memakai tiga variabel, karena memakai sampel dengan jumlah sedikit yaitu 15, dan langsung mampu memprediksi nilai optimum baik linier dan kuadratik