

**PENGUJIAN PARAMETER OPTIMUM EKSTRAKSI  
SECARA SONIKASI TERHADAP KADAR KUMARIN  
PADA BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L.)**

**OPTIMUM PARAMETER TESTING EXTRACTION  
SONICATION ON TOTAL COUMARIN IN NONI FRUIT  
(*Morinda citrifolia* L.)**

**INDO ASMARANI  
N011 18 1030**



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

**PENGUJIAN PARAMETER OPTIMUM EKSTRAKSI  
SECARA SONIKASI TERHADAP KADAR KUMARIN  
PADA BUAH MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L.)**

**OPTIMUM PARAMETER TESTING EXTRACTION  
SONICATION ON TOTAL COUMARIN IN NONI FRUIT  
(*Morinda citrifolia* L.)**

**INDO ASMARANI  
N011 18 1030**



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

**PENGUJIAN PARAMETER OPTIMUM EKSTRAKSI SECARA  
SONIKASI TERHADAP KADAR KUMARIN PADA BUAH MENGGUDU  
(*Morinda citrifolia* L.)**

**OPTIMUM PARAMETER TESTING EXTRACTION SONICATION ON  
TOTAL COUMARIN IN NONI FRUIT (*Morinda citrifolia* L.)**

**SKRIPSI**

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

**INDO ASMARANI  
N011 18 1030**

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

**PENGUJIAN PARAMETER OPTIMUM EKSTRAKSI SECARA  
SONIKASI TERHADAP KADAR KUMARIN PADA BUAH MENGKUDU  
(*Morinda citrifolia* L.)**

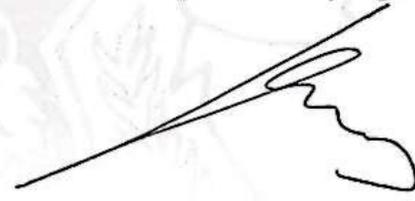
**INDO ASMARANI**

**N011 18 1030**

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Prof. Subehan, M.Pharm Sc. Ph.D. Apt.  
NIP.19750925 200112 1 002

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

Pada Tanggal, 24 Mei 2022

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**PENGUJIAN PARAMETER OPTIMUM EKSTRAKSI SECARA  
SONIKASI TERHADAP KADAR KUMARIN PADA BUAH MENGGUDU  
(*Morinda citrifolia* L.)**

**OPTIMUM PARAMETER TESTING EXTRACTION SONICATION ON  
TOTAL COUMARIN IN NONI FRUIT (*Morinda citrifolia* L.)**

Disusun dan diajukan oleh:

**INDO ASMARANI  
N011 18 1030**

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 24 Mei 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

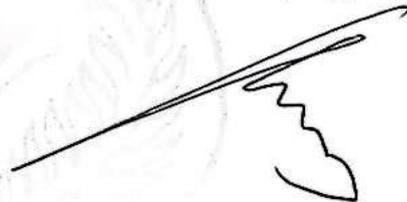
Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Prof. Subehan, M.Pharm Sc. Ph.D. Apt.  
NIP.19750925 200112 1 002



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



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 : Indo Asmarani  
Nim : N011 18 1030  
Program Studi : Farmasi  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Pengujian Parameter Optimum Ekstraksi secara Sonikasi terhadap Kadar Kumarin pada Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)" adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 24 Mei 2022

Yang menyatakan,



DB6D5AJX827296483

Indo Asmarani

## UCAPAN TERIMA KASIH

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

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

1. Bapak Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan arahan dan saran kepada penulis mulai dari rencana penelitian, penulisan skripsi hingga penulis menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Latifah Rahman, DESS., Apt. dan Ibu Dr. Risfah Yulianty, S.Si., M.Si., Apt. selaku penguji yang telah memberikan saran untuk perbaikan penelitian ini.
3. Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik yang telah banyak membantu dalam memberikan nasehat selama penyelesaian studi di fakultas farmasi.

4. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan kepada penulis selama mengikuti studi dan juga staf Akademik Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah membantu penulis dalam pengurusan administrasi selama perkuliahan hingga penulis menyelesaikan skripsi ini.
5. Ayahanda Amiruddin dan Ibunda Indo Anti tercinta yang selalu memberikan dukungan dan doa restunya kepada penulis selama menempuh pendidikan. Terkhusus kepada Ibunda Almarhumah Hj. Sumarni telah menjadi motivasi terbesar untuk tetap semangat.
6. Sahabat-sahabat penulis, Nur Agilia Mardhatillah, Randani Dewi, Nurul Imania Kalla, Resky Nufadillah, dan Ayu Novriana menjadi tempat berbagi cerita selama penulis menempuh pendidikan dan selalu memberikan dukungan kepada penulis..
7. Andi Maipadiapati, Jusrianai, Hasriani dan Ridha Meilyana teman serumah yang menjadi tempat berbagi suka duka penulis selama menjalani pendidikan hingga penyusunan skripsi ini.
8. Geng Mengkudu Awal Ramdani dan Jumasna yang selalu kebersamai hingga selesainya penelitian ini.
9. Rekan-rekan Korps. Asisten Farmakognosi-Fitokimia terkhusus kepada Kak Satria, Kak Darwis, Kak Isto dan Kak Udi selaku senior Farmasi yang telah banyak memberikan bantuan, saran, dan dukungan dalam penyusunan skripsi. Serta teman Angkatan

“GEMF18ROZIL” atas suka cita, solidaritas dan kebersamaan dalam mewujudkan cita-cita di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

10. Semua yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu semoga kebaikannya dapat menjadi nilai ibadah.

Penulis menyadari bahwa ada banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu kritik dan saran senantiasa penulis harapkan demi perbaikan skripsi ini, dan dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Aamiin.

Makassar,.....2022

Indo Asmarani

## ABSTRAK

**INDO ASMARANI.** Pengujian Parameter Optimum Ekstraksi secara Sonikasi terhadap Kadar Kumarin pada Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) (dibimbing oleh Subehan dan Muhammad Raihan)

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang diklaim dapat merangsang sistem kekebalan tubuh dan dapat mencegah pembentukan dan perkembangbiakan tumor ganas. Senyawa metabolit utama dari buah mengkudu yaitu skopoletin yang merupakan turunan dari kumarin fenolik. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil pengujian parameter optimum ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap kadar kumarin yang diekstraksi menggunakan bantuan sonikasi dengan validasi metode analisis linearitas, LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantification*) serta akurasi dan presisi. Pengujian dilakukan menggunakan metode KLT-Densitometri sehingga diperoleh hasil persen rendemen ekstrak buah mengkudu diperoleh *percent difference* yaitu -5,86% dan *percent difference* pada kadar skopoletin diperoleh nilai -79,14%. Metode yang digunakan telah divalidasi dan memenuhi persyaratan yaitu linearitas dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,977; LOD 8,35 dan LOQ 27,83; dan akurasi dengan nilai *percent recovery* 90,62 - 97,76%; serta presisi dengan nilai simpangan baku relatif (RSD) yaitu 0,47.

Kata Kunci : *Morinda citrifolia*, Skopoletin, Parameter Optimum, Validasi

## ABSTRACT

**INDO ASMARANI.** Optimum Parameter Testing Extraction Sonication on Total Coumarin in Noni Fruit (*Morinda citrifolia* L.) (Supervised by Subehan and Muhammad Raihan)

Noni (*Morinda citrifolia* L.) is a traditional medicinal plant which is claimed to stimulate the immune system and prevent the formation and proliferation of malignant tumors. The main metabolite compound of noni fruit is scopoletin which is a derivative of phenolic coumarin. The purpose of this study was to determine the results of testing the optimum parameters for the extraction of noni fruit (*Morinda citrifolia* L.) on total coumarin extracted using sonication assistance with validation of the linearity analysis method, LOD (Limit of Detection) and LOQ (Limit of Quantification) as well as accuracy and precision. Using the TLC-Densitometry method so that the percent difference in noni fruit extract obtained a percent difference of -5,86% and the percent difference in scopoletin content obtained a value of -79,14%. The method used has been validated and meets the requirements, linearity with a correlation coefficient value of 0.977; LOD 8.35 and LOQ 27.83; and accuracy with a percent recovery value of 90.62 - 97.76%; and precision with a relative standard deviation (RSD) of 0.47.

Keywords: *Morinda citrifolia*, Scopoletin, Optimum Parameters, Validation

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PENINJUK SKRIPSI	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar belakang	1
I.2 Rumusan masalah	3
I.3 Tujuan penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> L.)	5
II.2 Ekstraksi	7
II.3 RSM ( <i>Respon Surface Methodology</i> )	11
II.4 KLT-Densitometri	11
II.5 Validasi metode analisis	13

BAB III METODE PENELITIAN	21
III.1 Alat dan bahan	21
III.2 Cara kerja	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
IV.1 Pengujian parameter optimum	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
IV.2 Validasi metode analisis	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	28
V.1 Kesimpulan	28
V.2 Saran	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Rentang kesalahan konsentrasi analit pada matriks	17
Tabel 2. Parameter Uji	22
Tabel 3. Ekstraksi parameter optimum	23
Tabel 4. Variable Selected for Optimization	24
Tabel 5. Hasil kadar skpopoletin	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 6. Hasil %difference persen rendemen	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 7. Hasil %difference kadar skooletin	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 8. Hasil uji linearitas	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 9. Hasil perhitungan LOD dan LOQ	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 10. Hasil perhitungan akurasi	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 11. Hasil perhitungan presisi	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tabel 12. Hasil kadar skpoletin	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Mengkudu	5
Gambar 2. Skopoletin	6
Gambar 3. Proses Maserasi	8
Gambar 4. Rangkaian Alat Sokhlet	8
Gambar 5. Rangkaian Alat Refluks	9
Gambar 6. Alat Sonikator	10
Gambar 7. Rangkaian Alat <i>Supercritical Fluid Extraction</i>	10
Gambar 8. <i>TLC-Scanner</i>	11
Gambar 9. Kromatogram penentuan kesesuaian sistem	15
Gambar 10. Kromatogram yang simetris dan asimetris	15
Gambar 11. Bentuk peak dari kromatogram HPLC	16
Gambar 12. Profil KLT ekstrak buah mengkudu	29
Gambar 13. Hasil densitogram ekstrak buah mengkudu	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 14. Grafik linearitas baku skopoletin	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 15. <i>Pareto Chart</i> dari persen rendemen	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 16. Parameter optimum persen rendemen	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 17. <i>Surface plot</i> dari persen rendemen	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

Gambar 18. <i>Pareto Chart</i> dari kadar kumarin	<b>Error! Bookmark not defined.</b>	<b>Bookmark not defined.</b>
Gambar 19. Parameter optimum kadar kumarin	<b>Error! Bookmark not defined.</b>	<b>Bookmark not defined.</b>
Gambar 20. <i>Surface plot</i> dari kadar kumarin	<b>Error! Bookmark not defined.</b>	<b>Bookmark not defined.</b>
Gambar 21. Densitogram Linearitas	<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Gambar 22. Densitogram LOD dan LOQ	<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Gambar 23. Densitogram Akurasi	<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Gambar 24. Densitogram Presisi	<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Gambar 25. Densitogram kadar skopoletin	<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
Gambar 26. Pengumpulan sampel		55
Gambar 27. Pencucian sampel		55
Gambar 28. Perajangan sampel		55
Gambar 29. Penimbangan sampel		55
Gambar 30. Ekstraksi sampel secara UAE		56
Gambar 31. Penyaringan sampel		56
Gambar 32. Penguapan sampel		56
Gambar 33. Penimbangan ekstrak		56
Gambar 34. Penguapan ekstrak di <i>Waterbath</i>		57
Gambar 35. Penyimpanan ekstrak di eksikator		57
Gambar 36. Pembuatan larutan baku		57
Gambar 37. Penjenuhan <i>Chamber</i>		57

Gambar 38. Penotolan sampel	58
Gambar 39. Elusi	58
Gambar 40. Profil KLT LOD dan LOQ	58
Gambar 41. Profil Linearitas	58
Gambar 42. Profil KLT Presisi	59
Gambar 43. Profil KLT Akurasi	59

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. Skema kerja	45
Lampiran 2. Optimasi	43
Lampiran 3. Perhitungan	46
Lampiran 4. Dokumentasi	56

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar belakang

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) merupakan tanaman obat tradisional yang terkenal akan khasiatnya. Buah mengkudu diklaim dapat mencegah dan menyembuhkan beberapa penyakit, terutama dalam merangsang sistem kekebalan dan melawan bakteri, infeksi virus, parasit dan jamur, serta dapat mencegah pembentukan dan perkembangbiakan tumor, termasuk yang ganas (Abou Assi *et al.*, 2017). Senyawa metabolit utama dari buah mengkudu yaitu skopoletin (7-hidroksi-6- metoksi kumarin) yang merupakan turunan dari kumarin fenolik (Joshi *et al.*, 2021). Kumarin ditemukan diberbagai tanaman dan buah-buahan yang dapat dimakan. Berdasarkan penelitian dari Jepang mengungkapkan bahwa pada sampel jus buah mengkudu terdapat senyawa skopoletin (Samoylenko *et al.*, 2006).

Banyaknya manfaat dari senyawa skopoletin terhadap kesehatan, membuat para peneliti untuk melakukan isolasi senyawa skopoletin. Dalam proses isolasi, tahap ekstraksi merupakan salah satu aspek yang dapat mempengaruhi kualitas dan kuantitas dari senyawa aktif yang diperoleh selama proses pengestraksian dari tanaman obat (Zou *et al.*, 2014). Seiring berkembangnya zaman, metode ekstraksi telah banyak dikembangkan salah satunya yaitu metode maserasi dengan bantuan sonikasi yang dikenal dengan metode UAE (*Ultrasonic-assisted*

*extraction*). Prinsip *Ultrasonic-assisted extraction* (UAE) yaitu ekstraksi dengan bantuan *Ultrasonic* yang akan menghasilkan getaran sehingga mempermudah cairan penyari menembus dinding sel yang akan mempercepat proses ekstraksi (Capelo-Martinez,2009). Sonikasi memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan teknik ekstraksi yang lain seperti jumlah pelarut yang digunakan lebih sedikit, pengoperasian yang sederhana, efisien dan hasil ekstrak yang lebih tinggi (Lima *et al.*, 2019). Dalam mengoptimalkan proses ekstraksi dapat dilakukan optimasi melalui model komputasi dan matematika seperti *Response Surface Methodology* (RSM). Metodologi ini diterapkan untuk memaksimalkan produksi bahan dengan mengoptimalkan variable operasional (Sarker, 2018).

Penelitian optimasi proses ekstraksi pada buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang pernah dilakukan yaitu optimasi menggunakan metode *High Hydrostatic Pressure Extraction*, *Spray Drying* dan *Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction* (Kumar *et al.*, 2006; Krishnaiah *et al.*, 2011; Bai *et al.*, 2012). Penelitian lainnya pernah dilakukan yaitu optimasi proses ekstraksi menggunakan metode sonikasi, akan tetapi pada penelitian ini menggunakan daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) (Putri, 2021), sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian tentang optimasi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) menggunakan metode sonikasi.

Upaya yang dapat dilakukan untuk mengimplementasikan *Design of Experiment* (DoE) dalam mengoptimalkan proses ekstraksi yaitu dengan melakukan pengujian parameter optimum. Baru-baru ini telah

dilaporkan hasil pengujian parameter optimum kadar skopoletin pada akar *Argyreia speciosa* L. melalui konsep *Design of Experiment* yang menunjukkan bahwa hasil penelitian tersebut dapat dijadikan sebagai prosedur standarisasi untuk *Argyreia speciosa* L. dalam *quality control* laboratorium (Patel *et al.*, 2021). Sampai saat ini, belum ada penelitian yang dilaporkan terkait pengujian parameter optimum pada ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang diekstraksi dengan bantuan sonikasi.

Berdasarkan hal tersebut, dalam penelitian ini dilakukan pengujian hasil parameter optimum kadar kumarin pada ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan bantuan sonikasi melalui analisis eksperimental menggunakan metode KLT Densitometri.

## **I.2 Rumusan masalah**

Bagaimana parameter *persent difference* dapat menggambarkan hasil pengujian parameter optimum ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap kadar kumarin yang diekstraksi menggunakan bantuan sonikasi dengan validasi metode analisis linearitas, LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantification*) serta akurasi dan presisi ?

## **I.3 Tujuan penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana parameter *persent difference* dapat menggambarkan hasil pengujian parameter optimum ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

terhadap kadar kumarin yang diekstraksi menggunakan bantuan sonikasi dengan validasi metode analisis linearitas, LOD (*Limit of Detection*) dan LOQ (*Limit of Quantification*) serta akurasi dan presisi.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

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

##### II.1.1 Klasifikasi tanaman

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsda

Suku : Rubiaceae

Marga : Morinda

Spesies : *Morinda citrifolia* L. (RI, 2008)



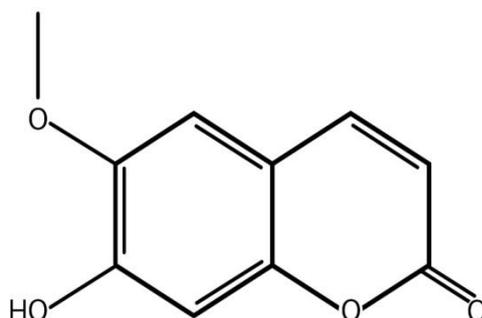
Gambar 1. Tanaman Mengkudu (RI, 2008)

##### II.1.2 Morfologi tanaman

Mengkudu berupa pohon, tinggi 4-8 m. Batang berkayu, bulat, kulit kasar, percabangan monopodial, penampang cabang muda segi empat, coklat kekuningan. Daun tunggal, bulat telur, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, panjang 10-40 cm, lebar 5-17 cm, pertulangan menyirip, tangkai pendek, daun penumpu bulat telur, panjang 1 cm, berwarna hijau. Bunga majemuk, bentuk bongkol, bertangkai, di ketiak daun, benang sari

lima, melekat pada tabung mahkota, tangkai sari berambut, tangkai bakal buah panjang 3-5 cm, hijau kekuningan, mahkota bentuk terompet, leher berambut, panjang  $\pm 1$  cm, putih. Buah bongkol, permukaan tidak teratur, berdaging, panjang 5-10 cm, hijau kekuningan. Biji keras, segi tiga, coklat kemerahan. Akar tunggang berwarna coklat muda (RI, 2008).

### II.1.3 Senyawa fitokimia



Gambar 2. Skopoletin (PubChem, 2021)

Berdasarkan review yang dilakukan oleh Abou Assi pada tahun 2017, kandungan senyawa yang terdapat pada tanaman mengkudu yaitu senyawa flavonoid, kumarin, antrakuinon, dan triterpenoid. Senyawa metabolit utama dari buah mengkudu yaitu skopoletin (7-hidroksi-6-metoksi kumarin) yang merupakan turunan dari golongan kumarin fenolik (Joshi *et al.*, 2021).

### II.1.4 Aktivitas farmakologi

Buah mengkudu diklaim dapat mencegah dan menyembuhkan beberapa penyakit yaitu anti-dislipidemia, anti-hipertensi dan anti-oksidan, terutama dalam merangsang sistem kekebalan dan melawan bakteri,

infeksi virus, parasit dan jamur, serta dapat mencegah pembentukan dan perkembangbiakan tumor, termasuk yang ganas (Abou Assi et al., 2017).

## **II.2 Ekstraksi**

### **II.2.1 Pengertian ekstraksi**

Ekstraksi merupakan suatu proses penyarian zat berkhasiat atau zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan termasuk biota laut dengan tujuan untuk menarik komponen kimia dari dalam tanaman. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik yang sesuai karena adanya perbedaan konsentrasi di luar dan di dalam sel yang mengakibatkan terjadinya difusi. Proses ini terus berlangsung hingga tercapai keseimbangan konsentrasi zat aktif diluar dan didalam sel (Ditjen POM, 1986).

### **II.2.2 Metode-metode ekstraksi**

#### **II.2.2.1 Maserasi**

Maserasi adalah metode penyarian secara sederhana dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan akan didesak untuk keluar karena adanya perbedaan konsentrasi zat terlarut yang ada di dalam dan diluar sel. Peristiwa tersebut akan berulang hingga terjadi kesetimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel (Ditjen POM, 1986).



**Gambar 3. Proses Maserasi (Dokumentasi pribadi)**

#### **II.2.2.2 Sokletasi**

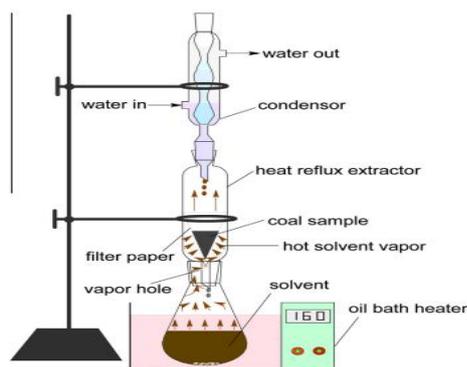
Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendinginan balik (Depkes RI, 2000). Metode sokletasi digunakan untuk bahan yang tahan pemanasan dengan cara meletakkan bahan yang akan diekstraksi dalam sebuah kantong ekstraksi (kertas sari) di dalam sebuah alat ekstraksi yang bekerja kontinyu dengan pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik dan turun menyari simplisia (Najib, 2018).



**Gambar 4. Rangkaian Alat Sokhlet (Dokumentasi pribadi)**

### II.2.2.3 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).



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

### II.2.2.4 UAE (*Ultrasonic Assisted Ekstraksi*)

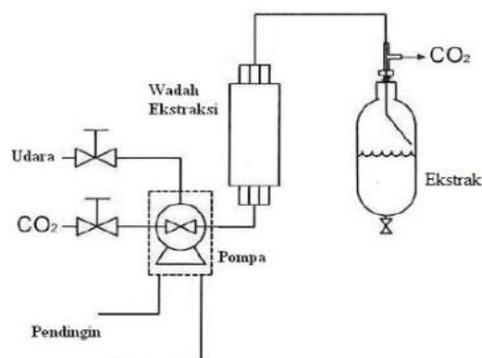
Ultrasonik adalah salah satu metode ekstraksi non termal yang memanfaatkan gelombang ultrasonik (frekuensi 20-2000 kHz). Gelombang ultrasonik tersebut mampu mempengaruhi permeabilitas dan memecahkan dinding sel sehingga meningkatkan laju transfer massa dengan banyaknya *microcavity*. Kelebihan dari metode ekstraksi dengan UAE yaitu waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi lebih cepat, mengoptimalkan penggunaan pelarut, dan mengurangi resiko rusaknya struktur senyawa yang hendak di analisis (Endarini, 2016).



Gambar 6. Alat Sonikator (Dokumentasi pribadi)

### II.2.2.5 SFE (*Supercritical Fluid Extraction*)

Gas superkritis seperti karbon dioksida, nitrogen, metana, etana, etilen, nitrogen oksida, sulfur dioksida, propana, propilena, amonia dan sulfur heksafluorida digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif dalam tumbuhan. Sampel tumbuhan disimpan dalam bejana yang diisi dengan gas dalam kondisi yang terkendali seperti suhu dan tekanan. Senyawa aktif yang larut dalam gas terpisah ketika suhu dan tekanan lebih rendah. Faktor penting dari teknik ini adalah transfer massa zat terlarut dalam pelarut superkritis (Julianto, 2019).



Gambar 7. Rangkaian Alat Supercritical Fluid Extraction (Julianto, 2019)

### II.3 RSM (*Respon 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 (faktor  $x$ ) 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. Ukuran kinerja atau karakteristik kualitas ini disebut dengan respon (Myers, Raymond H, *et al.*, 2009).

### II.4 KLT-Densitometri



**Gambar 8. TLC Scanner (Dokumentasi pribadi)**

KLT-Densitometri merupakan salah satu metode analisis kuantitatif. Penetapan kadar suatu senyawa dengan metode ini dilakukan dengan mengukur kerapatan bercak senyawa yang dipisahkan dengan

cara KLT. Pada umumnya pengukuran kerapatan dibandingkan dengan kerapatan bercak senyawa standar yang dielusi secara bersama-sama.

Teknik pengukuran dapat didasarkan atas pengukuran intensitas sinar yang diserap (absorpsi), intensitas sinar yang dipantulkan (reflektansi) atau intensitas sinar yang difluoresensikan. Teknik pengukuran berdasarkan refleksi dimana sinar datang sebagian diserap dan sebagian lagi dipantulkan. Banyaknya sinar yang direfleksikan akan ditangkap oleh suatu alat yang disebut *reflection photo multiplier* dan kemudian diteruskan ke pencatat untuk diterjemahkan ke dalam suatu kromatogram (Najib, 2018).

Untuk evaluasi bercak KLT secara densitometri bercak ditelusuri dengan sumber sinar dalam bentuk celah yang dapat dipilih baik panjangnya maupun lebarnya, sinar dipantulkan diukur dengan sensor cahaya (Najib, 2018).

Kelebihan penetapan kadar dengan menggunakan kombinasi KLT dan densitometer (KLT-Densitometri) cukup ekonomis karena menggunakan fase gerak yang sedikit, waktu yang relatif singkat, biaya operasional lebih murah dan dapat dilakukan penetapan kadar beberapa sampel secara simultan. Apabila dibandingkan dengan KCKT, metode KLT tidak ada batasan fase gerak yang harus digunakan (Najib, 2018). Sedangkan jika dibandingkan dengan spektrofotometri, kemampuan KLT untuk memisahkan komponen-komponen dalam sampel yang dianalisis

sehingga menghilangkan adanya kemungkinan saling mengganggu antar komponen (Sudjadi, 2018).

## **II.5 Validasi metode analisis**

Verifikasi metode analisa adalah suatu tindakan validasi metode tetapi hanya pada beberapa beberapa karakteristik pengujian saja. Spesifikasi analisis dapat menjadi acuan untuk merancang proses verifikasi. Rancangan yang baik akan menghasilkan informasi yang dibutuhkan serta meminimalisir tenaga, waktu, serta biaya (Gholib, I. 2018).

Pemilihan parameter validasi atau verifikasi tergantung pada beberapa faktor seperti aplikasi, sampel uji, tujuan metode, dan peraturan lokal atau internasional. Verifikasi dilakukan terhadap suatu metode baku sebelum digunakan. Verifikasi sebuah metode bermaksud untuk membuktikan bahwa alat yang digunakan dapat menganalisis dengan metode tersebut dengan hasil yang valid (Gholib, I. 2018).

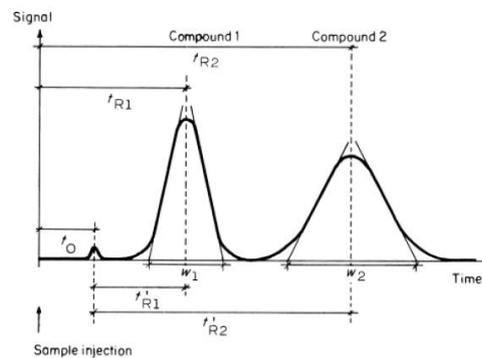
Dalam verifikasi metode, kinerja yang akan diuji adalah selektifan, seperti uji akurasi (ketepatan) dan presisi (kecermatan). Dua hal ini merupakan hal yang paling minimal harus dilakukan dalam verifikasi sebuah metode. Suatu metode yang presisi (cermat) belum menjadi jaminan bahwa metode tersebut dikatakan tepat (akurat). Begitu juga sebaliknya, suatu metode yang tepat (akurat) belum tentu presisi (Gholib, I 2018).

### II.5.1 Analisis kesesuaian sistem

Uji kesesuaian sistem adalah salah satu bagian penting dalam pengukuran dengan menggunakan instrumen yang terintegrasi dari banyak prosedur analisis. Tujuan dilakukan uji kesesuaian sistem ini adalah untuk memastikan bahwa perangkat peralatan yang digunakan, analisis dan sampel yang dianalisis merupakan sistem terintegrasi yang dapat dievaluasi (Ermer dan Miller, 2005).

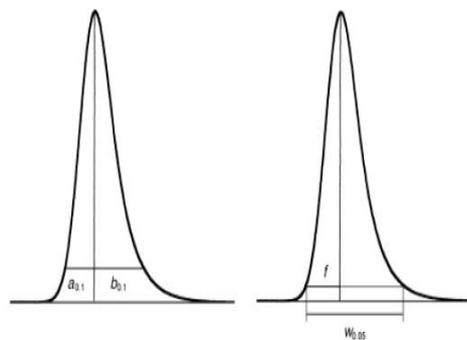
Menurut *United States Pharmacopeia* (USP) uji kesesuaian sistem merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari kromatografi gas dan kromatografi cair. Uji ini digunakan untuk memverifikasi bahwa resolusi dan reproduktifitas dari sistem kromatografi memadai untuk analisis yang akan dilakukan (Ermer dan Miller, 2005).

Parameter-parameter yang dapat digunakan untuk menetapkan kesesuaian sistem sebelum analisis seperti bilangan lempeng teoritis (N), faktor *tailing*, faktor kapasitas ( $k'$  atau  $\alpha$ ) dan nilai standar deviasi relatif (RSD) tinggi puncak dan luas puncak dari serangkaian injeksi. (USP, 2005).

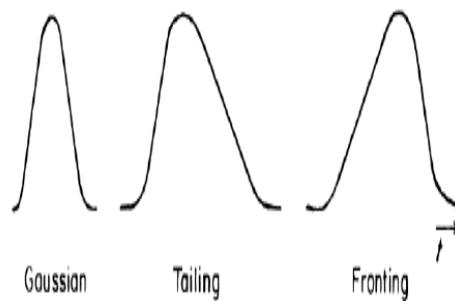


**Gambar 9. Kromatogram penentuan kesesuaian sistem (Meyer, 2004)**

Menurut USP 37 tahun 2014 uji kesesuaian sistem dilakukan untuk menunjukkan bahwa sistem kromatografi memadai untuk dilakukan analisis. Parameter dari uji kesesuaian sistem diantaranya RSD area puncak dari lima kali replikasi (Cazes, 2004).



**Gambar 10. Kromatogram yang simetris dan asimetris (Meyer, 2004)**



**Gambar 11. Bentuk peak dari kromatogram HPLC (Meyer, 2004)**

## **II.5.2 Akurasi**

Akurasi adalah suatu parameter yang digunakan untuk menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit sebenarnya yang dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*). Keakuratan dari metode analisis yang digunakan sangat bergantung pada peralatan yang digunakan harus sudah terkalibrasi dengan baik, pelarut dan pereaksi yang digunakan masih dalam keadaan baik, pengontrolan suhu dan pelaksanaan prosedur yang cermat.

Menurut Harmita, (2004) ada dua cara dalam penentuan akurasi metode analisis yaitu:

### **II.5.2.1 Metode simulasi (*Spiked-placebo recovery*)**

Penentuan akurasi dengan metode simulasi sejumlah bahan murni (senyawa pembanding) ditambahkan kedalam campuran bahan pembawa sediaan (plasebo) kemudian campuran tersebut dianalisis dan hasil yang diperoleh dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar sebenarnya).

### II.5.2.2 Metode penambahan baku (*Standard addition method*)

Dalam metode penambahan baku, mula-mula sampel dianalisis lalu sejumlah senyawa yang hendak diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dan dianalisis kembali. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan).

Dari kedua metode tersebut, persen perolehan kembali dinyatakan sebagai rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya. Persen perolehan kembali dapat ditentukan dengan cara membuat sampel placebo (eksepien obat dan cairan biologis) kemudian ditambah analit dengan konsentrasi tertentu (biasanya 80-120% dari kadar analit yang diperkirakan), kemudian dianalisis dengan metode yang akan divalidasi (Harmita, 2004).

Nilai rentang kesalahan yang diizinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks dapat dilihat pada tabel dibawah ini (Harmita, 2004) :

**Tabel 1. Rentang kesalahan yang diizinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks**

<b>Analit pada Matriks</b>	<b>Sampel (%)</b>	<b>Rata-rata yang Diperoleh (%)</b>
100		98 – 102
>10		98 – 102
>1		97 – 103
>0,1		95 – 105
0,01		90 – 107
0,001		90 – 107
0,0001 (1 ppm)		80 – 110
0,00001 (100 ppb)		80 – 110
0,000001 (10 ppb)		60 – 115
0,0000001 (1 ppb)		40 – 120

Sumber: Harmita. 2004. *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Perhitungannya*

### II.5.3 Presisi

Presisi merupakan parameter yang menunjukkan kedekatan hasil uji pengukuran antara individual sampel yang homogen yang

dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) atau ketertiruan (*reproducibility*). Presisi dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek (Harmita, 2004). ICH membagi uji presisi menjadi tiga, yaitu:

#### **II.5.3.1 Keterulangan (*Repeatability*)**

Repeatabilitas dilakukan minimal 9 kali penentuan konsentrasi dengan 3 replikasi pada setiap konsentrasi, atau minimal 6 kali penentuan kadar dengan konsentrasi kadar uji 100% (ICH, 1994).

#### **II.5.3.2 Presisi antara**

Presisi antara dilakukan sesuai dengan keadaan dimana prosedur tersebut digunakan. Analis harus melakukan presisi antara dengan beberapa variasi studi seperti waktu, analis, atau peralatan yang berbeda (ICH, 1994).

#### **II.5.3.3 Ketertiruan (*Reproducibility*)**

Ketertiruan dilakukan dengan percobaan antar laboratorium. Biasanya analisis dilakukan dalam laboratorium-laboratorium yang berbeda menggunakan peralatan, pereaksi, pelarut, dan analis yang berbeda pula (Harmita, 2004; ICH, 1994).

Dokumentasi presisi seharusnya mencakup: simpangan baku, simpangan baku relatif atau koefisien variasi, dan kisaran kepercayaan. Presisi dapat dihitung dengan cara sebagai berikut (Harmita, 2004):

$$RSD < 2^{(1-0,5 \log c)}$$

c = Konsentrasi analit sebagai fraksi desimal (misalnya untuk larutan konsentrasi 0,1% maka nilai c = 0,001)

#### **II.5.4 Linearitas**

Linearitas digunakan untuk menunjukkan kemampuan metode analisis untuk memperoleh hasil pengujian yang sesuai berdasarkan konsentrasi analit yang terkandung dalam sampel pada kisaran konsentrasi tertentu. Rentang linearitas dapat ditentukan dengan membuat kurva kalibrasi dari beberapa set larutan baku pembanding yang konsentrasinya telah diketahui (Ermer dan Miller, 2005).

Metode pengukuran linearitas dapat dilakukan dengan pengukuran tunggal beberapa konsentrasi yang berbeda-beda. Data yang diperoleh diplot dalam bentuk persamaan garis lurus yang selanjutnya dapat diperoleh nilai kemiringan (*slope*), intersep, dan koefisien korelasinya (Gholib, I. 2018).

#### **II.5.5 LOD (*Limit of Detection*) dan LO (*Limited of Quantification*)**

Batas deteksi adalah jumlah terkecil senyawa yang terkandung dalam sampel yang dapat diukur oleh metode analisis yang memberikan respon signifikan dibanding blanko. Sedangkan batas kuantitas adalah konsentrasi terkecil senyawa didalam sampel yang dapat diukur secara kuantitatif dengan kondisi presisi dan akurasi yang cocok (Harmita, 2004).

Batas deteksi dan batas kuantitas dapat ditentukan melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Nilai pengukuran akan sama dengan nilai  $b$  pada persamaan garis linier  $y = a + bx$ , sedangkan simpangan baku blanko sama dengan simpangan baku residual ( $Sy/x$ .)

(Harmita, 2004). Penentuan batas deteksi dan batas kuantitas dapat dengan persamaan dibawah ini:

$$Q = \frac{k \times S_b}{SL}$$

Ket:

Q = batas deteksi dan batas kuantitas

k = 3 untuk batas deteksi dan 10 untuk batas kuantitas

S<sub>b</sub> = Simpangan baku respon analitik

SL = Arah garis linear dari kurva antara respon terhadap konsentrasi = slope (*b* pada persamaan garis  $y = a + bx$ )