

**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI METABOLIT  
SEKUNDER DARI UMBI BAWANG DAYAK  
(*Eleutherine americana*) SECARA *ULTRASONIC*  
*ASSISTED EXTRACTION***

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

Disusun dan diajukan oleh

**HASRIANDI**

**N011 17 1047**



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

**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER DARI  
UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine americana*) SECARA  
ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION**

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

SKRIPSI

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

**HASRIANDI**

**N011 17 1047**

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

**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER DARI  
UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine americana*) SECARA  
ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION**

**HASRIANDI  
N011 17 1047**

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



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

Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt.  
NIP. 19610606 198803 2 002

Pada Tanggal, 08 - 08 - 2022

## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER DARI  
UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine americana*) SECARA  
ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION**

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

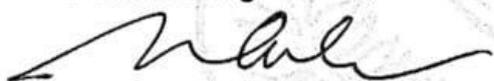
Disusun dan diajukan oleh:

**HASRIANDI  
N011 17 1047**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 08 - 08 - 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



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

Pembimbing Pendamping,



Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt.  
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 : Hasriandi  
Nim : N011 17 1047  
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 *Ultrasonic Assisted Extraction*”

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, 08 - 08 - 2022

Yang menyatakan,

  
Hasriandi

## UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas limpahan berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya maka skripsi ini dapat terselesaikan. Serta, dengan bantuan berbagai pihak penulis dapat melewati berbagai masalah dan menyelesaikan skripsi ini. Untuk itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama yang telah membimbing dan mengarahkan serta memberikan saran kepada penulis.
2. Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping dan pembimbing akademik yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan studi dan memberikan saran kepada penulis.
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. Bapak/ Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya kepada penulis selama menjalankan masa studi S1.
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 Jumardin dan ibu Nurlina yang telah memberikan do'a dan restu serta bimbingan dan arahan selama menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Kepada saudara dan saudari penulis, Hasriadi, S.T dan Hastriyani yang telah memberikan semangat selama ini.
7. Khansa, S.Si selaku teman dekat penulis yang telah membantu, memberikan doa, dukungan, serta semangat kepada penulis.
8. Teman-teman *Banana*, Indhira, Arini, Nuni, Windy, Rahmatillah, Kadek dan Tama yang telah memberikan dukungan serta semangat kepada penulis selama menyelesaikan studi.
9. Teman-teman "CLOSTRIDIUM" yang telah membantu dalam menghadapi semua permasalahan, drama dan menjadi tempat berkeluh kesah, berbagi cerita, serta menjadi alasan kuat penulis untuk bisa menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
10. Kakak-kakak dan teman-teman Korps Asisten Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk berbagi ilmu dan berbagi keceriaan selama di laboratorium.
11. 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, 08 - 08 - 2022



Hasriandi

## ABSTRAK

**HASRIANDI.** *Optimasi Proses Ekstraksi Metabolit Sekunder dari Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana*) secara Ultrasonic Assisted Extraction* (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 serta waktu ekstraksi dari umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) menggunakan metode *Ultrasonic-assisted Extraction* (UAE). Parameter rasio simplisia dan pelarut yang di uji adalah 1:10, 1:20, dan 1:30, sementara pada waktu ekstraksi dimulai dari 15 menit, 30 menit, dan 45 menit. Analisis data dilakukan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) untuk mengetahui nilai optimum ekstraksi dari kedua parameter uji dengan menggunakan pelarut etanol 96% dan etanol 70%. Rendemen dihitung berdasarkan bobot simplisia yang diekstraksi sementara profil metabolit sekunder dianalisis dengan KLT densitometri. Penentuan kadar flavonoid total dilakukan pada ekstrak hasil optimasi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dari penelitian ini di peroleh persen rendemen yang optimum untuk parameter rasio simplisia dan pelarut adalah 1:30, sementara untuk parameter waktu ekstraksi rendemen ekstrak yang dihasilkan dapat optimal pada waktu ekstraksi selama 45 menit untuk ekstrak etanol 96% dan 34 menit untuk ekstrak etanol 70%. Selain itu, profil metabolit sekunder tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada UV 254 dan UV 366 antara ekstrak etanol 96% dan ekstrak etanol 70%. Kemudian pada penentuan kadar flavonoid total hasil optimasi diperoleh kadar tertinggi pada ekstrak etanol 96%.

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

## ABSTRACT

**HASRIANDI.** *Optimization of Secondary Metabolite Extraction Process from Dayak Onion bulbs (*Eleutherine americana*) by Ultrasonic Assisted Extraction* (supervised by Gemini Alam and Ermina Pakki)

*Eleutherine americana* is one of the plants that has been widely used for medicine. This study was conducted to determine the optimum parameters of the ratio of Simplicia and solvent as well as the extraction time of the Dayak onion bulbs (*Eleutherine americana*) using the *Ultrasonic-assisted Extraction* (UAE) method. The parameters of the ratio of Simplicia and solvent tested were 1:10, 1:20, and 1:30, while the extraction time started from 15 minutes, 30 minutes, and 45 minutes. Data analysis was carried out using the Response Surface Methodology (RSM) method to determine the optimum extraction value of the two test parameters using 96% ethanol and 70% ethanol as solvents. The yield was calculated based on the weight of the extracted Simplicia, while the secondary metabolite profile was analyzed by TLC densitometry. Total flavonoid content was determined on the optimized extract using UV-Vis spectrophotometry. This research found that the optimum yield percentage for the comparison parameter of simplicia and solvent ratio was 1:30, while for the extraction time parameters the yield of the resulting extract can be optimal at the extraction time of 45 minutes for 96% ethanol extract and 34 minutes for 70% ethanol extract. Furthermore, the secondary metabolite profile did not show a significant difference at UV 254 and UV 366 between 96% ethanol extract and 70% ethanol extract. Then in the determination of the total flavonoid content of the optimization results obtained the highest concentration of 96% ethanol extract.

Keywords: *Eleutherine americana*, optimization , secondary metabolites, UAE, RSM.

## DAFTAR ISI

|  | Halaman |
|--|---------|
| UCAPAN TERIMA KASIH  | v       |
| ABSTRAK  | viii    |
| ABSTRACT   | ix      |
| DAFTAR ISI   | x       |
| DAFTAR TABEL   | xiii    |
| DAFTAR GAMBAR  | xiv     |
| DAFTAR SINGKATAN   | xv      |
| DAFTAR LAMPIRAN  | xvi     |
| BAB I PENDAHULUAN  | 1       |
| I.1 Latar Belakang   | 1       |
| I.2 Rumusan Masalah  | 4       |
| I.3 Tujuan Penelitian                                      | 4       |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA                                    | 5       |
| II.1 Tanaman Bawang Dayak ( <i>Eleutherine americana</i> ) | 5       |
| II.1.1 Taksonomi Tanaman                                   | 5       |
| II.1.2 Morfologi Tanaman                                   | 5       |
| II.1.3 Kandungan Senyawa                                   | 6       |
| II.2 Simplisia   | 6       |
| II.3 Ekstraksi Bahan Alam                                  | 7       |
| II.3.1 Pengertian Ekstraksi                                | 7       |
| II.3.2 Metode Ekstraksi                                    | 7       |

|   |    |
|---|----|
| II.4 Metabolit Sekunder Tanaman                             | 13 |
| II.5 Kromatografi Lapis Tipis                               | 13 |
| II.5.1 Pengertian Kromatografi Lapis Tipis                  | 14 |
| II.5.2 Penjerap atau Fase Diam KLT                          | 14 |
| II.5.3 Fase Gerak Pada KLT                                  | 15 |
| II.5.4 Penotolan Sampel                                     | 16 |
| II.5.5 Pengembangan KLT                                     | 16 |
| II.5.6 Deteksi Bercak                                       | 17 |
| II.5.7 Pemisahan Pada KLT                                   | 18 |
| II.6 Densitometri   | 18 |
| II.7 Spektrofotometri UV-Vis                                | 20 |
| II.8 <i>Response Surface Methodology</i>                    | 21 |
| BAB III METODE PENELITIAN                                   | 23 |
| III.1 Alat dan Bahan  | 23 |
| III.2 Simplisia   | 23 |
| III.2.1 Pengambilan Sampel                                  | 23 |
| III.2.2 Penyiapan Simplisia                                 | 23 |
| III.2.3 Penentuan Susut Pengeringan                         | 23 |
| III.3 Parameter Uji   | 24 |
| III.4 Ekstraksi   | 24 |
| III.5 Penentuan Bobot Ekstrak Hasil UAE dan Persen Rendemen | 25 |
| III.6 Penentuan Profil KLT dan Analisis dengan Densitometri | 25 |
| III.7 <i>Response Surface Methodology</i>                   | 26 |

|  |                                     |
|--|-------------------------------------|
| III.8 Penentuan Kadar Flavonoid Total Hasil Optimasi | 26                                  |
| III.8.1 Pembuatan Larutan Uji                        | 26                                  |
| III.8.2 Pembuatan Larutan Pembanding                 | 26                                  |
| III.8.3 Prosedur Penetapan                           | 26                                  |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN                          | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| BAB V PENUTUP  | 27                                  |
| V.1 Kesimpulan                                       | 29                                  |
| V.2 Saran  | 29                                  |
| DAFTAR PUSTAKA                                       | 30                                  |
| LAMPIRAN   | 33                                  |

## DAFTAR TABEL

| Tabel   | Halaman |
|---|---------|
| 1. Hasil Penentuan Parameter Uji Dengan <i>Software Minitab</i> | 24      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar   | Halaman |
|--|---------|
| 1. Tanaman Umbi Bawang Dayak                                   | 5       |
| 2. Instrumen alat UAE  | 9       |
| 3. Instrumen alat MAE  | 10      |
| 4. Diagram tekanan dan temperatur pada instrumen SFE           | 12      |
| 5. Struktur senyawa kuarsetin                                  | 13      |
| 6. Diagram alat spektrometer UV-Vis ( <i>Single Beam</i> )     | 19      |
| 7. Diagram alat spektrometer UV-Vis ( <i>Double Beam</i> )     | 21      |
| 8. Hasil pengembangan ekstrak etanol 96%                       | 33      |
| 9. Hasil analisis instrumen densitometri ekstrak etanol 96%    | 33      |
| 10. Hasil pengembangan ekstrak etanol 70%                      | 34      |
| 11. Hasil analisis instrumen densitometri ekstrak etanol 70%   | 34      |
| 12. Hasil PCA scores dan dendogram CA waktu ekstraksi 15 menit | 36      |
| 13. Hasil PCA scores dan dendogram CA waktu ekstraksi 30 menit | 37      |
| 14. Hasil PCA scores dan dendogram CA waktu ekstraksi 45 menit | 38      |

## DAFTAR SINGKATAN

|       |   |
|-------|---|
| UAE   | = <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i> |
| KLT   | = Kromatografi Lapis Tipis              |
| Rf    | = <i>Retardation factor</i>             |
| UV    | = <i>Ultra Violet</i>                   |
| GF254 | = <i>Gypsum Fluorescence 254 nm</i>     |
| RSM   | = <i>Response Surface Methodology</i>   |
| TLC   | = <i>Thin Layer Chromatography</i>      |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran                                    | Halaman |
|---|---------|
| 1. Skema Kerja Penelitian                   | 33      |
| 2. Hasil Determinasi                        | 81      |
| 3. Analisis data dengan <i>loading plot</i> | 82      |

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Metabolit sekunder merupakan komponen bahan alam yang dapat berupa komponen tunggal/murni hasil isolasi dalam bentuk ekstrak dari bagian tertentu atau keseluruhan dari suatu organisme baik tumbuhan, mikroba, ataupun hewan yang dimanfaatkan untuk efek farmakologis (*pharmacological effect*), efek terapi (*therapeutic effect*), antioksidan (*antioxidative effect*), antibakteri (*antibacterial*), serta aktivitas biologis (*biological activity*) (Agung, 2017). Metabolit sekunder tanaman sangat menentukan berbagai karakteristik tanaman seperti warna bunga, rasa makanan, dan ketahanannya terhadap hama dan penyakit, obat-obatan, pewarna, perasa dan pengaroma (Verpoorte *et al.*, 2000).

Bawang dayak (*Eleutherine americana*) merupakan tanaman khas Kalimantan Tengah. Tanaman ini sudah digunakan oleh masyarakat suku dayak secara turun-temurun. Tanaman ini memiliki potensi yang besar sebagai tanaman obat sehingga perlu ditingkatkan penggunaannya dalam pengobatan (Yuswi, 2020). Umbi bawang dayak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Trichophyton rubrum*. Dalam pengujian skrining fitokimia menunjukkan bahwa umbi bawang dayak mengandung senyawa flavonoid, polifenol, alkaloid, kuinon, tanin, steroid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid (Puspitadewi *et al.*, 2013).

Pada penelitian (Alves *et al.*, 2003) menunjukkan bahwa ekstrak diklorometan bawang dayak memiliki kandungan senyawa fenolat golongan naftakuinon seperti elecanacin, eleutherin, isoeleutherin, eletherol dan eleutherinon. Selain itu, pada penelitian lain juga terbukti bahwa umbi bawang dayak memiliki efek sebagai antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 23,33 $\mu$ g/mL dengan menggunakan metode DPPH (Poerwosusanta *et al.*, 2018). Seduhan umbi bawang dayak terbukti dapat menurunkan kadar gula darah pada pasien diabetes tipe II dengan pemberian 3 sendok teh yang diseduh dengan 75 mL air hangat yang dikonsumsi selama 2 minggu dan didapatkan nilai *p value* 0,004 (<0,05) yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan pada penurunan kadar gula darah (Setyawan and Masnina, 2018)

Ekstraksi komponen kimia tanaman sudah ada sejak lama dan masih diminati. Dengan adanya peningkatan teknologi, sekarang dimungkinkan untuk mendapatkan ekstrak dengan hasil yang lebih baik dan tinggi rendemennya. Dalam metode ekstraksi konvensional seperti maserasi, pelarut memiliki pengaruh besar pada selektivitas. Polaritas pelarut memiliki pengaruh langsung pada zat terlarut yang diekstraksi dan struktur kimia senyawa yang dapat menyebabkan terjadinya interaksi antar senyawa. Dengan kemajuan teknologi, telah ditemukan metode ekstraksi yang *modern* seperti ekstraksi dengan bantuan *Ultrasonic* (UAE), Ekstraksi Cairan Bertekanan (PLE) dan Ekstraksi Cairan Superkritis (SFE) (Lefebvre *et al.*, 2021).

Dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol 96% dan pelarut etanol 70% untuk melihat pengaruh konsentrasi pelarut terhadap parameter uji. Penggunaan pelarut etanol 96% dan etanol 70% pada penelitian ini karena dilihat dari keamanan dan kemudahannya dalam proses penguapan pelarut untuk menghasilkan ekstrak kental serta dapat melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, semipolar maupun nonpolar. Pelarut ini juga dapat menarik senyawa flavonoid secara optimum (Sa'adah *et al.*, 2017).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah *Ultrasonic-assisted Extraction* (UAE) karena proses ekstraksinya lebih efektif dibandingkan dengan metode ekstraksi yang lain seperti metode konvensional. UAE juga efektif untuk ekstraksi senyawa flavonoid karena dengan metode ekstraksi konvensional, senyawa flavonoid dapat terionisasi, mengalami hidrolisis dan oksidasi selama proses ekstraksi. Metode konvensional juga membutuhkan waktu yang lama dalam proses ekstraksi (Huang *et al.*, 2009).

Pada penelitian ini digunakan *Response Surface Methodology* (RSM) untuk menentukan parameter optimum. RSM merupakan metode analisis berupa *software* yang paling banyak digunakan karena keuntungan utama metode ini yang dapat memberikan informasi lebih banyak hanya dengan menggunakan beberapa percobaan saja sehingga efektif digunakan untuk menentukan hasil optimasi (Bezerra *et al.*, 2008).

Berdasarkan uraian diatas maka telah dilakukan suatu penelitian dengan menggunakan metode *Ultrasonic-assisted Extraction* untuk mengetahui kombinasi parameter yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi secara optimal untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*).

### **I.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian diatas maka masalah yang timbul adalah bagaimana kombinasi dari parameter rasio pelarut dan sampel serta waktu ekstraksi yang dapat menghasilkan rendemen yang optimal dari ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) dengan metode *Ultrasonic-assisted Extraction* (UAE).

### **I.3 Tujuan Penelitian**

Untuk mengetahui parameter optimum dari rasio pelarut dan sampel, serta waktu ekstraksi terhadap rendemen ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine americana*) dengan metode *Ultrasonic-assisted Extraction* (UAE).

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

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

##### II.1.1 Taksonomi Tanaman

Domain : Eukaryota

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Viridiaeplantae

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**

Umbi bawang dayak menyerupai umbi bawang merah, tetapi umbi bawang dayak tidak berbau menyengat dan mengeluarkan zat yang menyebabkan mata pedih seperti umbi bawang merah. Bawang dayak merupakan tanaman jenis anggrek tanah dengan bagian pangkal umbinya tumbuh daun yang menjulang sejajar. Tanaman bawang dayak berakar serabut. Penampilan bunga pada bawang dayak seperti pada anggrek tanah dan berwarna putih, mungil dan berkelopak lima (Indrawati and Razimin, 2013).

### **II.1.3 Kandungan Senyawa**

Adapun kandungan senyawa dari serbuk simplisia dan ekstrak berdasarkan skrining fitokimia menunjukkan bahwa umbi bawang dayak mengandung senyawa flavonoid, polifenol, alkaloid, kuinon, tanin, steroid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid (Puspadewi *et al.*, 1994). Pada penelitian (Alves *et al.*, 2003) menunjukkan bahwa ekstrak diklorometan bawang dayak memiliki kandungan senyawa fenolat golongan naftakuinon seperti elecanacin, eleutherin, isoeleutherin, eleutherol dan eleutherinon.

## **II.2 Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran dibawah sinar matahari, diangin-angin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60°C (Kemenkes RI, 2017).

## **II.3 Ekstraksi Bahan Alam**

### **II.3.1 Pengertian Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan salah satu teknik untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen atau senyawa - senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Prinsip pemisahannya didasarkan pada kemampuan atau daya larut analit dalam pelarut tertentu (Leba, 2017). Proses ekstraksi terjadi dengan cara 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)

### **II.3.2 Metode Ekstraksi**

Proses ekstraksi tanaman obat dimulai dengan prosedur pra-ekstraksi dan ekstraksi yang merupakan langkah penting sebelum melakukan ekstraksi pada suatu tanaman obat. Pemilihan metode ekstraksi sangat berpengaruh terhadap hasil ekstrak yang diperoleh. Metode konvensional seperti maserasi dan sokhletasi sangat umum digunakan pada perusahaan manufaktur kecil (SME). Kemajuan yang signifikan terhadap metode ekstraksi modern telah banyak digunakan

untuk meningkatkan kualitas ekstrak yang diperoleh dengan biaya yang lebih rendah. Dengan banyaknya metode ekstraksi modern yang telah ditemukan maka sangat penting untuk menentukan metode ekstraksi yang tepat sesuai dengan jenis sampel dan senyawa yang akan diekstraksi (Azwanida, 2015). Adapun beberapa metode ekstraksi modern yang biasa digunakan yaitu :

### **II.3.2.1 *Ultrasonic-assisted Extraction (UAE)***

*Ultrasonic-assisted extraction (UAE)* merupakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik. Metode ini biasanya disebut dengan metode sonikasi. Gelombang ultrasonik adalah gelombang suara yang memiliki frekuensi diatas pendengaran manusia yaitu  $\geq 20$  kHz. Metode ini biasanya digunakan untuk memperoleh kandungan senyawa antioksidan yang lebih tinggi dengan waktu yang lebih singkat. Dengan bantuan gelombang ultrasonik, maka proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dengan menggunakan pelarut organik yang sesuai dapat berlangsung lebih cepat. Dinding sel dari tanaman akan dipecah dengan bantuan getaran ultrasonik sehingga kandungan senyawa yang ada di dalamnya dapat keluar dengan mudah (Sholihah, 2017). Prinsip kerja dari UAE yaitu dengan memanfaatkan efek kavitasi. Efek ini akan memicu munculnya *microbubble* (gelembung mikro) dan akan pecah sehingga menghasilkan sejumlah energi yang biasa disebut *hotspot* untuk memudahkan menembus membran sel dari tanaman dalam proses ekstraksi (Sasongko *et al.*, 2018).



**Gambar 2. Instrumen alat UAE (Rojas *et al.*, 2016)**

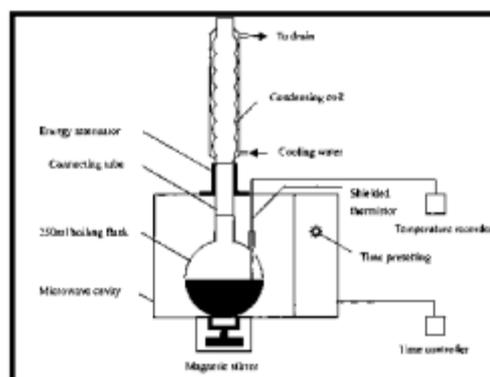
Mekanisme ekstraksi dengan menggunakan metode UAE dimulai dengan adanya energi mekanik yang diciptakan oleh getaran gelombang ultrasonik pada frekuensi yang tinggi sehingga menyebabkan terbentuknya rongga dalam cairan. Selanjutnya terjadi ekspansi gelembung dengan penyerapan energi. Kemudian membran sel mengalami gangguan akibat pecahnya gelembung sehingga memudahkan terjadinya penetrasi pelarut ke dalam sampel. Terakhir, terjadilah pelepasan senyawa ke dalam pelarut yang digunakan. Faktor penting untuk mencapai ekstraksi yang efisien dan efektif menggunakan UAE adalah kadar air dan ukuran partikel sampel, pelarut, derajat kehalusan, frekuensi, dan waktu sonikasi (Uddin *et al.*, 2018)

Kelebihan utama ekstraksi yang menggunakan gelombang ultrasonik adalah waktu ekstraksi yang lebih singkat dari waktu yang dibutuhkan oleh metode konvensional lainnya (Luque-Garcia and Luque De Castro, 2004). Penelitian yang dilakukan oleh (Jovanovic *et al.*, 2017) menghasilkan senyawa polifenol yang lebih tinggi dari *Tymus serpyllum* L. dengan

metode UAE pada kondisi optimal (50% etanol sebagai pelarut, perbandingan rasio simplisia dan pelarut 1:30, ukuran partikel 0,3 mm dan waktu ekstraksi 15 menit) daripada metode maserasi dan ekstraksi dengan bantuan panas lainnya (Jovanovic *et al.*, 2017). Ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik juga dapat menurunkan suhu operasi pada ekstrak sehingga dapat digunakan pada ekstrak yang tidak tahan panas (Zou and Xia, 2014).

### II.3.2.2 *Microwave-assisted Extraction (MAE)*

Proses ekstraksi menggunakan *microwave* berbeda dengan metode konvensional lainnya karena ekstraksi ini terjadi karena perubahan struktur sel yang disebabkan oleh gelombang elektromagnetik. Radiasi spektrum elektromagnetik yang digunakan berada pada rentang frekuensi 300 MHz (radiasi radio) hingga 300 GHz (Vinatoru *et al.*, 2017). Pada ekstraksi menggunakan metode konvensional, perpindahan massa terjadi dari dalam ke luar dan panas ditransfer dari media pemanas ke bagian dalam sampel, sementara pada MAE panas dihamburkan secara volumetrik di dalam media yang di radiasi (Farid, 2013).

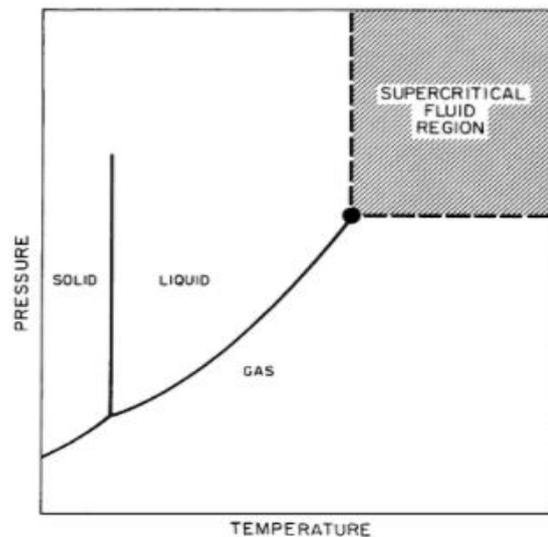


Gambar 3. Instrumen alat MAE (Mandal *et al.*, 2007)

Proses ekstraksi berlangsung pada 3 tahap yang berbeda. Pertama terjadi fase kesetimbangan yaitu terjadinya fenomena pelarutan dan partisi, dimana substrat dikeluarkan dari permukaan luar partikel pada kecepatan yang konstan. Selanjutnya fase transisi yang merupakan perantara menuju fase difusi. Resistensi terhadap perpindahan massa mulai tampak pada padatan-cair, pada tahap ini terjadi perpindahan massa melalui konveksi dan difusi. Fase terakhir, zat terlarut harus mengatasi interaksi yang mengikatnya pada matriks dan berdifusi ke dalam pelarut ekstraksi. Laju ekstraksi pada periode ini rendah, ditandai dengan dikeluarkannya ekstrak melalui mekanisme difusi (Farid, 2013)

Beberapa keuntungan menggunakan gelombang mikro untuk ekstraksi senyawa bioaktif dari tumbuhan antara lain dapat membuat pemanasan yang lebih efektif dan selektif terhadap sampel, meningkatkan hasil ekstraksi, dan dapat mengurangi waktu ekstraksi (Vinatoru *et al.*, 2017).

### II.3.2.3 Supercritical Fluid Extraction (SFE)



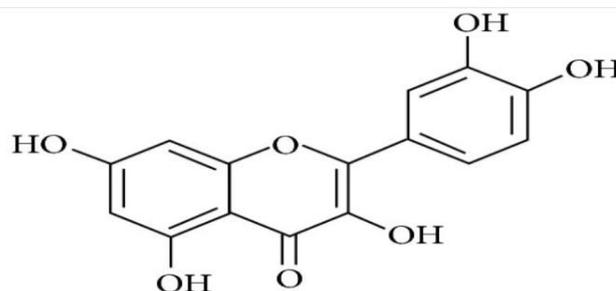
Gambar 4. Diagram tekanan dan temperatur pada instrumen SFE (McHugh, 1994)

Metode *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) merupakan metode ekstraksi dengan tujuan mengurangi penggunaan pelarut organik dengan hasil rendemen yang tinggi. Faktor-faktor yang biasanya dipertimbangkan dalam metode SFE adalah suhu, tekanan, volume sampel, koleksi analisis, penambahan kosolven dan tekanan. Pada umumnya alat SFE berbentuk silinder. Gas  $\text{CO}_2$  yang biasanya digunakan dalam metode SFE memiliki banyak keuntungan.

Selain mutu fisik yang baik,  $\text{CO}_2$  tidak mahal, aman dan banyak ditemukan. Meskipun banyak digunakan, gas  $\text{CO}_2$  memiliki nilai kepolaran yang terbatas, sehingga biasa digunakan Argon yang harganya murah dan lebih *inert* (Handa *et al.*, 2008).

## II.4 Metabolit Sekunder Tanaman

Metabolit sekunder adalah senyawa non-esensial yang disintesis dari tumbuhan, mikrobia atau hewan melewati proses biosintesis yang digunakan untuk menunjang kehidupannya. Ketiadaan senyawa tersebut dalam jangka pendek tidak berakibat kematian, akan tetapi dalam jangka panjang dalam mengakibatkan kelemahan dalam pertahanan diri. Senyawa ini disebut sebagai mikro molekul karena memiliki berat molekul 50-1500 kDa. Penggolongan utama senyawa metabolit sekunder terdiri atas terpenoid, fenil propaoid, poliketida, flavonoid dan alkaloid. Di bidang farmasi, senyawa ini digunakan sebagai kandidat obat atau senyawa penuntun (*lead compound*) agar diperoleh senyawa yang lebih poten dengan toksisitas minimal. Dari aspek farmakologi, keanekaragaman struktur kimia metabolit sekunder yang tinggi mengindikasikan potensi keragaman efek farmakologinya sehingga merupakan sumber kandidat senyawa obat yang tidak terbatas (Saifuddin, 2014).



Gambar 5. Struktur Senyawa Kuarsetin

## **II.5 Kromatografi Lapis Tipis**

### **II.5.1 Pengertian Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu kromatografi planar yang menggunakan metode pemisahan campuran analit dengan mengelusi analit melalui suatu lempeng kromatografi. Komponen atau analit yang terpisah dilihat dengan penyemprotan atau pengecatan. Gambaran utama yang mengatur kemampuan daya pisah lempeng KLT adalah ukuran bercak (spot) dan dimensi fisik lempeng, dengan diameter sebesar 0,5 cm dan panjang lempeng pada umumnya 10 cm. Dengan ukuran seperti ini, lempeng hanya mampu memisahkan 20 analit secara optimal supaya terpisah secara sempurna. Kecepatan fase gerak bervariasi di sepanjang lempeng KLT. Semakin jauh fase gerak melewati lempeng KLT maka kecepatannya akan menurun (Rohman, 2020)

### **II.5.2 Penjerap atau Fase Diam KLT**

Penjerap yang digunakan pada KLT merupakan penjerap yang berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10 – 30  $\mu\text{m}$ . 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. 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 Lempeng KLT disiapkan dengan melapiskan

penjerap ke permukaan lapisan kaca, gelas, atau aluminium dengan ketebalan 250  $\mu\text{m}$ . Lempeng KLT telah tersedia di pasaran dengan berbagai ukuran dan telah di tambah dengan reagen fluoresen untuk memfasilitasi deteksi bercak solut. Di samping itu, lempeng KLT yang tersedia di pasaran sudah di tambah dengan agen pengikat seperti kalsium sulfat (Rohman, 2020).

### **II.5.3 Fase Gerak Pada KLT**

Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka, tetapi lebih sering dengan mencoba – coba karena waktu yang diperlukan hanya sebentar. Sistem yang paling sederhana ialah 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 antara lain (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  $R_f$  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  $R_f$ . Penambahan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter ke dalam pelaut nonpolar seperti metil benzen akan meningkatkan nilai  $R_f$  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.

#### **II.5.4 Penotolan Sampel**

Sampel yang akan ditotolkan pada lempeng KLT harus dilakukan dengan sangat hati – hati dan dengan pertimbangan bahwa gangguan yang mungkin timbul pada lempeng KLT dikendalikan sekecil mungkin. Pada umumnya sampel secara manual ditotolkan melalui pipa kapiler, mikropipet, atau melalui penyuntik mikro kaca yang telah terkalibrasi sedemikian rupa sehingga tetesan yang datang tepat menyentuh permukaan lempeng, sedangkan ujung alat penotol masih tetap di atas penjerap lempeng KLT. Pemisahan pada KLT yang optimal akan diperoleh hanya jika menotolkan sampel dengan ukuran bercak sekecil dan sesempit mungkin. Penotolan sampel yang tidak tepat akan menyebabkan bercak yang menyebar dan puncak ganda (Rohman, 2020).

#### **II.5.5 Pengembangan KLT**

Bila sampel telah ditotolkan maka tahap selanjutnya adalah mengembangkan sampel tersebut dalam suatu bejana kromatografi yang sebelumnya telah dijenuhi dengan uap 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 lapis tipis yang telah ditotoli sampel dicelupkan ke dalam fase gerak kurang lebih 0,5 – 1 cm. Bejana kromatografi harus tertutup rapat dan sedapat mungkin volume fase gerak sesedikit mungkin (tetapi harus mampu mengelusi lempeng sampai ketinggian yang telah ditentukan). Tinggi fase gerak dalam bejana harus di bawah lempeng yang telah berisi totolan sampel (Rohman, 2020).

#### **II.5.6 Deteksi Bercak**

Bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Berikut beberapa cara yang dapat dilakukan untuk mendeteksi bercak (Rohman, 2020) :

- a. Menyemprot lempeng KLT dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi secara kimia dengan seluruh solut yang mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna. Kadang-kadang lempeng dipanaskan terlebih dahulu untuk mempercepat reaksi pembentukan warna dan intensitas warna bercak.
- b. Mengamati lempeng di bawah lampu ultraviolet yang dipasang panjang gelombang emisi 254 nm atau 366 nm untuk menampakkan solut sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi seragam. Lempeng yang diperdagangkan dapat dibeli dalam bentuk lempeng yang sudah diberi dengan senyawa fluoresen yang tidak larut yang

dimasukkan ke dalam fase diam untuk memberikan dasar fluoresensi atau dapat pula dengan menyemprot lempeng dengan reagen fluoresensi setelah dilakukan pengembangan.

- c. Menyemprot lempeng dengan asam sulfat pekat atau asam nitrat pekat, lalu dipanaskan untuk mengoksidasi solut-solut organik yang akan tampak sebagai bercak hitam sampai kecokelat-cokelatan.
- d. Memaparkan lempeng dengan uap iodium dalam *chamber* tertutup
- e. Melakukan scanning pada permukaan lempeng dengan densitometer, suatu instrumen yang dapat mengukur intensitas radiasi yang direfleksikan dari permukaan lempeng ketika disinari dengan lampu UV atau lampu sinar tampak. Solut-solut yang mampu menyerap sinar akan dicatat sebagai puncak (*peak*) dalam pencatat (*recorder*).

### **II.5.7 Pemisahan Pada KLT**

Pemisahan pada KLT umumnya dihentikan sebelum semua fase gerak melewati seluruh permukaan fase diam. Solut pada kromatografi ini dikarakterisasi dengan jarak migrasi solut terhadap jarak ujung fase geraknya (Rohman, 2020).

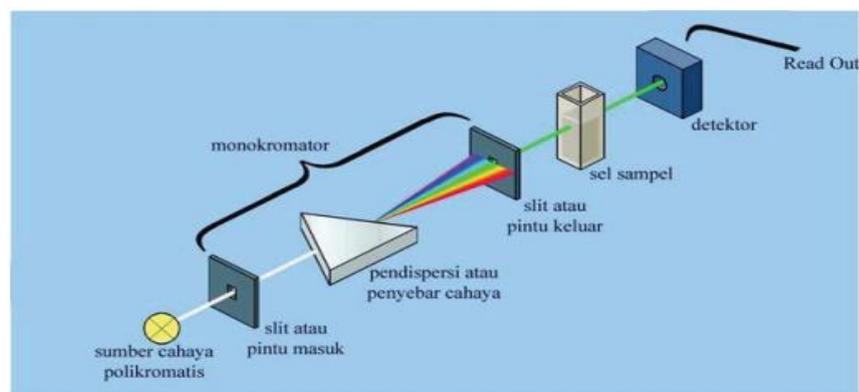
### **II.6 Densitometri**

Densitometri merupakan salah satu analisis kuantitatif yang digunakan pada metode pada KLT yang dilakukan dengan melakukan pengukuran luas area. Densitometri dapat bekerja secara serapan atau fluoresensi. Kebanyakan densitometer mempunyai sumber cahaya,

monokromator untuk memilih panjang gelombang yang sesuai, sistem untuk memfokuskan sinar pada lempeng, pengganda foton, dan recorder. Pada sistem serapan dapat dilakukan dengan model pantulan atau transmisi. Pada cara pantulan yang diukur adalah sinar yang dipantulkan, yang dapat menggunakan sinar tampak maupun ultraviolet. Sementara itu, cara transmisi dilakukan dengan menyinari bercak dari satu sisi dan mengukur sinar yang diteruskan pada sisi lain. Semua pengerjaan KLT jika ditujukan untuk analisa kuantitatif harus dilakukan dengan seksama. Alat yang digunakan untuk mengambil sampel harus terkalibrasi dengan baik. Saat ini tersedia alat penotol sampel kapiler yang berukuran antara 1 sampai 100  $\mu\text{L}$ . Pada saat menotolkan sampel, kapiler harus tegak lurus dengan lempeng dan semua sampel harus dikeluarkan dari kapiler (Rohman, 2020).

## II.7 Spektrofotometri UV-Vis

Pada instrumen spektrofotometri UV-Vis umumnya terdapat dua tipe instrumen, yaitu *single-beam* dan *double-beam*. *Single-beam instrument* dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. *Single-beam instrument* mempunyai beberapa keuntungan yaitu sederhana, harganya murah, dan mengurangi biaya yang ada merupakan keuntungan yang nyata. Beberapa instrumen menghasilkan *single-beam instrument* untuk pengukuran sinar ultra violet dan sinar tampak. Panjang gelombang paling rendah adalah 190 sampai 210 nm dan paling tinggi adalah 800 sampai

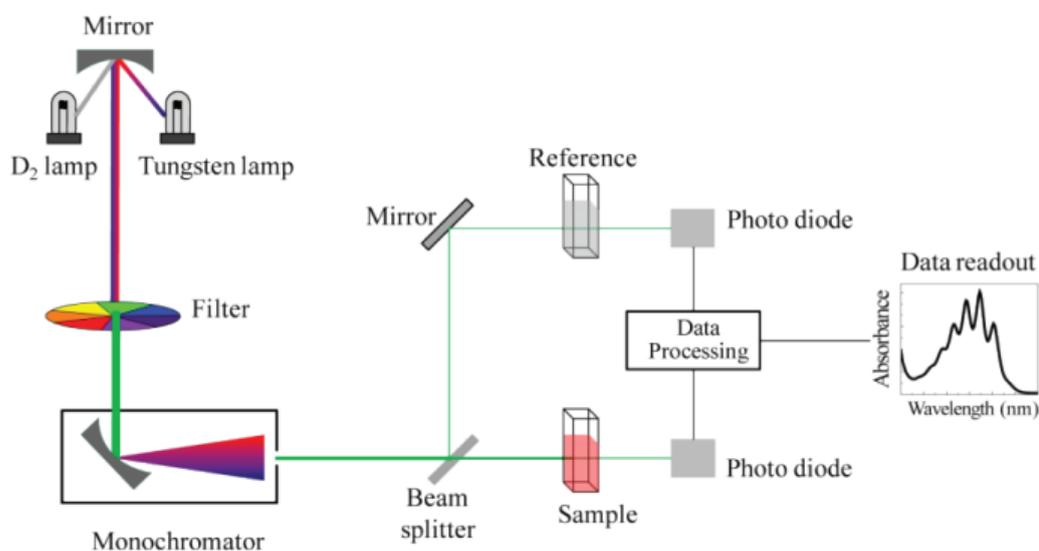


1000 nm (Suhartati, 2017).

*Double-beam instrument* mempunyai dua sinar yang dibentuk oleh potongan cermin yang berbentuk V yang disebut pemecah sinar. Sinar pertama melewati larutan blanko dan sinar kedua secara serentak melewati sampel sumber sinar polikromatis, untuk sinar UV adalah lampu

**Gambar 6. Diagram alat spektrometer UV-Vis (*Single Beam*) (Suhartati, 2017)**

deuterium, sedangkan sinar Visibel atau sinar tampak adalah lampu wolfram. Monokromator pada spektrometer UV-Vis digunakan lensa prisma dan filter optik. Sel sampel berupa kuvet yang terbuat dari kuarsa atau gelas dengan lebar yang bervariasi. Detektor berupa detektor foto atau detektor panas atau detektor dioda foto, berfungsi menangkap



cahaya yang diteruskan dari sampel dan mengubahnya menjadi arus listrik (Suhartati, 2017).

## II.8 Response Surface Methodology

*Response Surface Methodology* (RSM) merupakan metode analisis yang paling banyak digunakan karena keuntungan utama metode ini yang dapat memberikan informasi lebih banyak hanya dengan menggunakan beberapa percobaan saja. Sebelum menerapkan metodologi RSM, pertama-tama perlu dipilih desain eksperimen yang akan menentukan eksperimen mana yang harus dilakukan. Desain experimental yang

**Gambar 7. Diagram alat spektrometer UV-Vis (*Double Beam*) (Suhartati, 2017)**

dipilih harus memastikan bahwa semua variabel yang diteliti dilakukan setidaknya di tiga tingkat faktor. Pada analisis 2 variabel paling banyak menggunakan *Central Composite Design* yang merupakan desain eksperimental orde dua simetris. Hal ini dikarenakan desain ini dapat memberikan hasil yang optimal melalui efisiensi analisisnya yang tinggi untuk 2 variabel (Bezerra *et al.*, 2008)