

DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Persen rendemen ekstrak biji pinang	30
2. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang daerah Bone UV 254 nm	36
3. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang daerah Bone UV 366 nm	37
4. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang daerah Bulukumba UV 254 nm	38
5. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang daerah Bulukumba UV 366 nm	38
6. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang daerah Sidrap UV 254 nm	39
7. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang daerah Sidrap UV 366 nm	40
8. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang daerah Masamba UV 254 nm	41
9. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang daerah Masamba UV 366 nm	41
10. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang daerah Enrekang UV 254 nm	42
11. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang daerah Enrekang UV 366 nm	43
12. Kadar polifenol total ekstrak biji pinang dari berbagai daerah	45
13. Kadar katekin ekstrak biji pinang	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	7
2. Struktur flavonoid	10
3. Struktur katekin	10
4. Struktur senyawa alkaloid dalam biji pinang	11
5. Fenomena kavitasi pada <i>Ultrasonic-assisted Extraction</i>	16
6. Mekanisme Spektrofotometer UV-Vis	22
7. Persen rendemen ekstrak dari tiap daerah	31
8. Identifikasi senyawa polifenol	35
9. Identifikasi senyawa alkaloid	36
10. Profil KLT-Densitometri biji pinang dari berbagai daerah	36
11. Kadar polifenol total ekstrak biji pinang dari berbagai daerah	46
12. Kadar katekin ekstrak biji pinang dari berbagai daerah	51
13. Buah pinang	65
14. Biji pinang	65
15. Pengeringan biji pinang	65
16. Penyerbukan biji pinang	65
17. Pengayakan biji pinang	65
18. Ekstraksi biji pinang	65
19. Penguapan ekstrak di <i>water bath</i>	66
20. Penimbangan ekstrak kering	66

21. Proses KLT	66
22. Penyemprom reagen	66
23. Identifikasi senyawa polifenol	66
24. Identifikasi senyawa alkaloid	67
25. Preparasi sampel	67
26. Spektrofotometer UV-vis	67
27. Proses elusi	67
28. <i>TLC-Scanner</i>	67
29. KLT-Baku katekin	67
30. Hasil KLT-densitometri sampel UV 254 nm	68
31. Hasil KLT-densitometri sampel UV 254 nm	68

DAFTAR SINGKATAN

GF ₂₅₄	= <i>Gypsum Fluoresence 254 nm</i>
Hz	= Hertz
KLT	= Kromatografi Lapis Tipis
MAE	= <i>Microwave-assisted Extraction</i>
masl	= <i>meters above sea level</i>
mdpl	= meter di atas permukaan laut
nm	= nanometer
ppm	= <i>Parts per million</i>
Rf	= <i>Retardation Factor</i>
SFE	= <i>Supercritical Fluid Extraction</i>
TLC	= <i>Thin Layer Chromatography</i>
UAE	= <i>Ultrasonic-assisted Extraction</i>
UV	= Ultra Violet
Vis	= <i>Visible</i>

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema kerja	55
2. Daftar Gambar	60
3. Hasil pengukuran kadar baku polifenol menggunakan spektrofotometer UV-Vis	63
4. Spektrum hasil penentuan panjang gelombang maksimum baku katekin menggunakan spektrofotometer UV-Vis	64
5. Hasil pengukuran kadar polifenol total menggunakan spektrofotometer UV-Vis	65
6. Hasil pengukuran kadar baku katekin menggunakan Densitometer	66
7. Spektrum hasil penentuan panjang gelombang maksimum baku katekin menggunakan spektrofotometer <i>TLC-Scanner</i>	67
8. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang pada panjang gelombang 254 nm	68
9. Profil KLT-Densitometri ekstrak biji pinang pada panjang gelombang 366 nm	69
10. Data statistik persen rendemen	70
11. Data statistik kandungan polifenol total	73
12. Data statistik kandungan katekin	75
13. Perhitungan kandungan polifenol total ekstrak biji pinang dari berbagai daerah menggunakan spektrofotometer UV-Vis	76
14. Perhitungan kandungan katekin biji pinang dari berbagai daerah menggunakan densitometer	84

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Jambe atau pinang (*Areca catechu* L.) merupakan tumbuhan berjenis palem yang berasal dari Asia Tenggara dan kini mulai dibudidayakan oleh masyarakat di daerah tropis, seperti Asia dan Afrika. Tumbuhan ini dikenal multifungsi, karena dapat digunakan sebagai bahan untuk pengobatan, konstruksi, maupun bahan kerajinan. Namun, pemanfaatannya sebagai bahan obat paling menonjol dibandingkan lainnya (Silalahi, 2020).

Bagian dari *A.catechu* yang memiliki beragam manfaat adalah biji. Masyarakat menggunakan *A.catechu* secara tradisional sebagai obat luka dan obat cacingan serta dapat mengatasi perdarahan. Selain itu, *A.catechu* juga dapat berpotensi sebagai antimikroba, antikolesterol, antioksidan, antiracun, immunosupresan, meningkatkan daya ingat dan kemampuan belajar, anti skizofrenia, antiinflamasi dan antimigrain (Silalahi, 2020)

Khasiat dan manfaat dari biji *A.catechu* ini dipengaruhi oleh senyawa bioaktif yang dikandung oleh tanaman. Senyawa bioaktif inilah yang akan memunculkan efek farmakologis maupun toksikologis pada manusia dan hewan (Azmir *et al.*, 2013). Biji *A.catechu* mengandung beberapa senyawa bioaktif antara lain fenolik, seperti tannin, katekin, epikatekin; alkaloid, seperti

arekolin, arekaidin, guvakolin, dan guvacine; flavonoid; sterol; asam lemak; dan lainnya (Salehi *et al.*, 2020).

A.catechu yang merupakan tanaman golongan palem pada umumnya banyak mengandung minyak, senyawa terpenoid, dan fenolik. Selain itu beberapa senyawa yang dikandung *A.catechu* antara lain β karoten dengan total 11,7 mg/100 g, asam kafeat, katekin dan prosianidin yang termasuk golongan flavan-3-ols y, dan β amirin pada lapisan pericarp. Sedangkan alkaloid terbanyak pada *A.catechu* antara lain arekolin, arekaidin, guvakolin, dan guvasin (Agostini, Costa, 2018).

Keberagaman tempat tumbuh *A. catechu* dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekundernya. Hal ini dapat dipengaruhi dari berbagai faktor, yakni jenis dan kondisi tanah, ketinggian tempat tumbuh tanaman yang berkaitan dengan paparan sinar UV, dan lain-lain (Octariani, Mayasari and Ramadhan, 2021). Pada penelitian ini digunakan sampel biji pinang dari beberapa daerah di Sulawesi Selatan; yakni Bulukumba, Sidrap, Masamba, Bone, dan Enrekang yang memiliki ketinggian tempat tumbuh yang berbeda-beda masing-masing ≤ 25 mdpl, ≤ 100 mdpl, ≤ 300 mdpl, ≤ 400 mdpl, dan ≤ 3.300 mdpl.

Salah satu metode ekstraksi yang saat ini dikembangkan adalah *Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)*. UAE merupakan salah satu metode ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonic mulai dari frekuensi 20 kHz – 2000 kHz (2 MHz) (Azwanida, 2015).

Menurut Azmir *et al.*, (2013), pemanfaatan gelombang ultrasonic pada metode ekstraksi ini frekuensinya dapat mencapai hingga 100 MHz. Kelebihan dari metode UAE antara lain mempercepat proses ekstraksi; dapat dilakukan dengan suhu yang rendah, yakni suhu ruangan; pelarut yang digunakan lebih sedikit; serta dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil. Berdasarkan studi ekstraksi propolis, metode ultrasonikasi ini merupakan metode yang paling efektif berdasarkan waktu ekstraksi dan persen rendemen yang dihasilkan serta memiliki selektifitas yang tinggi (Azwanida, 2015; Mandal, 2015).

Metode ekstraksi UAE menggunakan energi akustik, yaitu energi yang tidak diserap oleh molekul, namun ditransmisikan secara merata pada medium sehingga dapat membantu pelepasan senyawa dari sel tanaman. Kelebihan UAE dibandingkan metode konvensional adalah UAE memiliki energi akustik ini, yang menyebabkan terjadinya kavitasi. Dengan adanya kavitasi, maka akan menyebabkan terjadinya peningkatan pemecahan sel yang berakibat meningkatnya kemampuan penetrasi pelarut ke dalam sel dan perpindahan massa dari sel ke dalam pelarut, sehingga terjadinya peningkatan jumlah senyawa yang terekstraksi dari simplisia. Untuk menghasilkan proses ekstraksi yang efektif dan efisien, maka ada beberapa faktor yang perlu diperhatikan, antara lain pelarut, rasio, dan waktu ekstraksi (Azmir *et al.*, 2013; Mandal, 2015; Vinatoru, Mason and Calinescu, 2017)

Dibalik kelebihan-kelebihan metode ekstraksi UAE, terdapat juga kekurangan metode ini yang disebabkan oleh adanya momen kavitasi. Dari momen ini dapat menimbulkan zat pengoksidasi yang dapat menyebabkan degradasi senyawa ekstrak. Namun, adanya zat pengoksidasi ini kecil kemungkinan (Vinatoru, Mason and Calinescu, 2017).

Pada tahun 2011, *Han et al* melakukan penelitian berupa proses ekstraksi polifenol dari *Areca catechu* dengan menggunakan metode *Ultrasonic assisted extraction* dengan melihat pengaruh berupa rasio simplisia dan pelarut, waktu, dan suhu sonikasi terhadap kandungan polifenol total *Areca catechu* (Han, 2011).

Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol 96% dikarenakan pelarut etanol bersifat polar yang memiliki nilai konstanta dielektrik sebesar 24,30. Etanol memiliki gugus hidrofilik yang mampu melarutkan senyawa polar seperti flavonoid, tanin dan polifenol, serta memiliki gugus alkil yang dapat menarik senyawa non polar, seperti steroid, terpenoid, dan alkaloid (Azmir *et al.*, 2013; Sri Yulianthi, Suhendra and Wrasiasi, 2017; Rizal, Nurhaeni and Ridhay, 2018; Nurhasanah *et al.*, 2019; Fitriani and Sanuddin, 2020).

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini dilakukan ekstraksi biji pinang (*Areca catechu* L.) dengan menggunakan metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dengan parameter lama ekstraksi dan lokasi tempat tumbuh sampel terhadap kadar metabolit sekundernya, yaitu polifenol total dan katekin.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka didapatkan rumusan masalah bagaimana pengaruh perbedaan tempat tumbuh pinang dan pengaruh perbedaan lama ekstraksi biji buah pinang (*Areca catechu* L.) dari beberapa daerah di Sulawesi Selatan dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)* terhadap kadar polifenol total dan katekin?

I.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini antara lain untuk menentukan pengaruh perbedaan tempat tumbuh pinang dan pengaruh perbedaan lama ekstraksi biji buah pinang (*Areca catechu* L.) dari beberapa daerah di Sulawesi Selatan dengan metode *Ultrasonic Assisted Extraction (UAE)* terhadap kadar polifenol total dan katekin.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

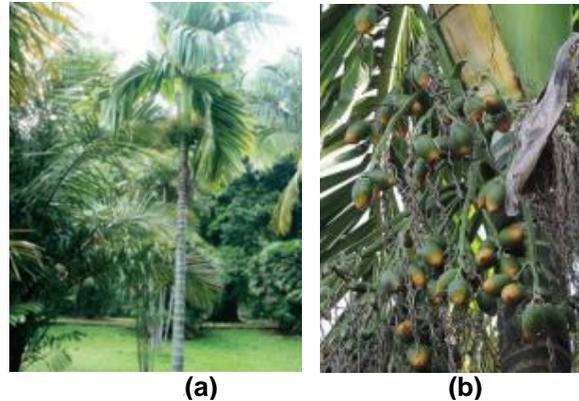
II.1 Pinang (*Areca Catechu* L.)

Tumbuhan pinang (*Areca catechu* L.) merupakan salah satu jenis tanaman palem yang biasanya tumbuh di daerah tropis, seperti Asia, Afrika Timur, dan Pasifik. Indonesia merupakan salah satu wilayah yang dapat ditemukan pinang di lingkungannya. Sulawesi menjadi salah satu wilayah yang diduga merupakan tempat persebaran aslinya (Silalahi, 2020).

Pinang telah lama digunakan oleh masyarakat, baik dengan tujuan pengobatan ataupun tujuan lainnya. Hal ini dikarenakan hampir semua bagian tumbuhan pinang dapat dimanfaatkan dan berguna (Silalahi, 2020)

Berikut taksonomi dari tumbuhan *Areca catechu* L. :

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Liliopsida / Monocotyledonae
Ordo : Arecales
Famili : Arecaceae / Palmae
Genus : *Areca*
Spesies : *Areca catechu* L.



Gambar 1. Pinang (*Areca catechu* L.) Tanaman pinang (Wahyuni, 2016) (b) Buah pinang (Silalahi, 2020)

Pinang dapat tumbuh pada tempat dengan ketinggian 1 – 1.400 m dpl, serta dapat tumbuh liar di tepi sungai, maupun di tempat lainnya. Namun, beberapa masyarakat sudah ada yang membudidayakan tanaman pinang ini.

Pinang dapat tumbuh di berbagai macam tanah, namun yang paling sesuai dengan tumbuhan pinang adalah tanah berliat (*clay loam*). Selain itu, tanah tempat tumbuh pinang harus beraerasi baik, yaitu kelancaran pertukaran udara dalam tanah. Tumbuhan pinang dapat tumbuh subur dengan iklim tropis (Miftahorrachman, Matana and Salim, 2015).

Pinang merupakan tumbuhan yang tumbuh secara individual yang memiliki akar jenis serabut dan berwarna kecoklatan. Batangnya ramping yang dapat mencapai tinggi sampai 15 dengan diameter 20 cm, serta tidak bercabang (Wahyuni, 2016).

Daun tumbuhan pinang merupakan daun majemuk menyirip yang berjumlah sekitar 7-10 helai daun yang berkumpul di ujung batang dan

memiliki anak daun berkisar 30-50 pinak daun. Anak daunnya memiliki panjang sekitar 30 – 70 cm dengan lebar 3 – 7 cm (Wahyuni, 2016).

Bunga pinang merupakan bunga majemuk karena memiliki bunga jantan dan bunga betina. Bunga betina pinang terletak di pangkal rakila dengan panjang 1,2 – 2 cm, warnanya hijau kekuningan, dan bakal buah beruang satu. Sedangkan bunga jantannya terletak di sepanjang rakila dengan panjang 4 mm, warnanya putih kekuningan dan memiliki benang sari sebanyak 6 (Wahyuni, 2016).

Buah pinang berbentuk bulat telur sungsang memanjang dengan ukuran 5-10 cm x 3-5 cm. Biji pinang berbentuk lonjong, bulat, atau elips dan berwarna coklat sampai kemerahan (Wahyuni, 2016).

Pinang memiliki beragam sehingga dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional. Biji pinang dapat digunakan untuk mengurangi lemak darah, berperan sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiracun, antibakteri, antinematoda, serta immunosupresan (Wahyuni, 2016; Silalahi, 2020).

Buah pinang mengandung beberapa senyawa bioaktif, antara lain fenolik seperti tannin terkondensasi, tannin terhidrolisis, katekin, epikatekin, asam siringat, *jacareubin*, flavonon, krisoeriol, luteolin, dan isorhamnetin, alkaloid seperti arekolin, arekaidin, glusida; guvacolin, guvacine, isoguvacine; flavan; sterol; asam galat; asam lemak; asetilkolin; getah; lignin; minyak menguap dan tidak menguap; nikotin; serta garam (Wahyuni, 2016; Sari, 2019).

Buah pinang yang memiliki beragam manfaat dan khasiat tetap harus diperhatikan ketepatan penggunaannya. Bagi ibu hamil, ibu menyusui, anak-anak, penderita kanker esofagus, penderita esofagitis dan penyakit ginjal harus menghindari buah pinang (Wahyuni, 2016).

II.2 Metabolit Sekunder pada Pinang

Berbagai macam manfaat dan khasiat dari pinang dipengaruhi oleh metabolit sekunder yang dikandung oleh pinang. Hal ini dikarenakan metabolit sekunder memiliki aktifitas farmakologi yang disebabkan oleh struktur kimia metabolit sekunder yang beraneka ragam sehingga mengindikasikan potensi keragaman efek farmakologi (Saifudin, 2014). Metabolit sekunder awalnya berasal dari metabolit primer yang kemudian bereaksi dengan biokatalis melalui jalur biosintesis sehingga menjadi metabolit sekunder yang strukturnya beraneka ragam. Biji pinang mengandung banyak metabolit sekunder, namun yang paling menonjol adalah polifenol dan alkaloidnya (Chavan and Singhal, 2013).

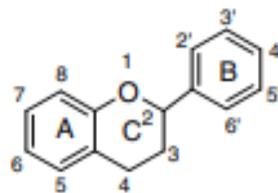
a. Polifenol

Senyawa fenol adalah senyawa yang memiliki dasar rangka atom karbon (C) dan cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil (OH) (Cseke *et al.*, 2006; Widaryanto and Azizah, 2018).

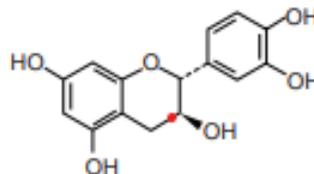
Senyawa fenol berdasarkan jumlah gugus hidrofiliknya (OH) dibagi menjadi 1-,2-, dan fenol poliatomik. Senyawa yang memiliki gugus hidrofilik lebih dari satu dalam cincin aromatik disebut senyawa polifenol.. Polifenol merupakan termasuk golongan polimer yang terbagi lagi menjadi dua, yaitu

flavonoid dan non flavonoid..Senyawa polifenol dalam biji pinang memiliki beberapa efek farmakologis antara lain sebagai antioksidan, antimutagenik, dan antitumor (Sari, 2019).

Berdasarkan penelitian, salah satu senyawa polifenol yang terkandung dalam biji pinang adalah katekin. Diketahui kadar katekin dalam biji pinang cukup tinggi. Katekin memiliki rumus struktur dasar flavan-3-ol yang masuk ke dalam golongan flavanol di dalam pembagian kelompok flavonoid. Katekin yang memiliki rumus molekul $C_{15}H_{14}O_6$ diketahui merupakan salah satu golongan senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Selain itu, diketahui katekin dan analognya bersifat anti alergi, anti kanker, anti mutasi, anti inflamasi, dapat membersihkan radikal bebas serta meningkatkan fungsi hati (Hasanah, Siti and Adang, 2012; Sari, 2019).



Gambar 2. Struktur Flavonoid (Cseke *et al.*, 2006)



Gambar 3. Struktur Katekin (Cseke *et al.*, 2006)

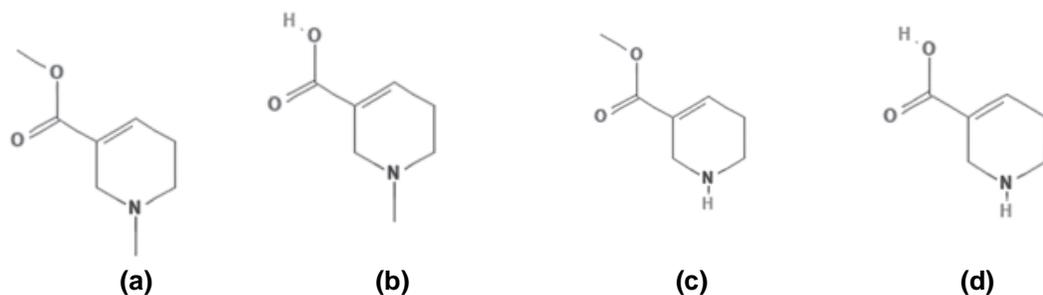
Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hidayah (2019), diketahui bahwa aktivitas antioksidan pinang muda lebih besar dibandingkan pinang yang tua. Diketahui IC_{50} pinang muda adalah 56,6, sedangkan IC_{50} pinang tua

adalah 67,50. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Baik buah pinang muda maupun tua sama-sama memiliki aktivitas antioksidan, namun buah pinang muda memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan pinang tua.

b. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung atom nitrogen yang menyebabkan alkaloid bersifat basa. Alkaloid dalam tanaman bersifat antiherbivora kemoprotektif yang melindungi dari serangga serta mengatur faktor pertumbuhan tanaman (Cseke *et al.*, 2006).

Alkaloid terbanyak yang dikandung oleh biji pinang antara lain arekolin, guvakolin, arekaidin, dan guvasin. Alkaloid yang dikandung oleh biji pinang dapat menyebabkan efek stimulan pada sistem saraf pusat, seperti euforia, relaksasi, dan konsentrasi yang meningkat (Cseke *et al.*, 2006; Gheddar *et al.*, 2020).



Gambar 4. Struktur senyawa alkaloid dalam biji pinang (a) Arekolin, (b) Arekaidin, (c) Guvakolin, (d) Guvasin (Cseke *et al.*, 2006)

II.3 Simplisia

Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia (Kemenkes RI, 2017), simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk

tujuan pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, hewani, dan pelikan atau mineral (Widaryanto and Azizah, 2018).

Simplisia nabati berupa bahan alam yang berasal dari tanaman, baik seluruh bagian tanaman ataupun bagian tertentu saja, atau eksudat tanaman. Simplisia hewani dapat berupa seluruh bagian hewani, bagian tertentu saja, ataupun eksudat yang dihasilkan dari hewan. Contohnya antara lain lanolin, hormon, produk endokrin, dan beberapa enzim, sedangkan simplisia pelikan atau mineral berwujud bahan mineral atau pelikan, yang belum mengalami pengolahan, atau telah mengalami pengolahan dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimiawi (Widaryanto and Azizah, 2018).

II.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman obat yang dilakukan oleh cairan penyari. Prinsip dari ekstraksi adalah proses osmosis dan difusi, dan akan terus berlanjut hingga konsentrasi zat aktif di dalam sel dan di luar sel seimbang (Najib, 2018).

Berdasarkan ilmu pengetahuan dan teknologi yang semakin canggih, maka ekstraksi terbagi menjadi metode konvensional dan metode ekstraksi tingkat lanjut. Metode ekstraksi konvensional antara lain maserasi, digesti, perkolasi, dan soxhlet. Sedangkan metode ekstraksi tingkat lanjut antara lain *microwave assisted extraction* (MAE), dan *ultrasonic-assisted extraction* (UAE) (Belwal *et al.*, 2018). Berikut uraian metode ekstraksi tersebut (Mandal, 2015; Julianto, 2019) :

1. Maserasi

Metode ini dengan merendam simplisia dengan pelarut yang sesuai dalam jangka waktu tertentu sehingga terjadi kontak antara keduanya. Metode ini cocok untuk simplisia yang mengandung senyawa yang tidak tahan panas (termolabil).

2. Digesti

Sama dengan metode maserasi, namun yang membedakan ialah dilakukan dengan suhu 40°C - 60°C.

3. Perkolasi

Pada metode ini menggunakan perkolator, sampel dibasahi dengan sejumlah pelarut dan dibiarkan dalam wadah tertutup dengan waktu tertentu.

4. Soxhlet

Metode ekstraksi ini diperlukan untuk senyawa target memiliki kelarutan yang terbatas dalam pelarut. Metode ini dilakukan dalam satu wadah yang secara kontinyu pelarutnya yang terkondensasi akan menetes dan merendam sampel. Sehingga akan membawa senyawa yang terlarut ke dalam labu penampung.

5. *Microwave-assisted extraction (MAE)*

Pada metode MAE, dengan adanya gelombang mikro memiliki medan listrik yang dapat menghasilkan panas melalui rotasi dipolar dan konduksi ionik. Panas dari gelombang mikro akan mengganggu ikatan hidrogen yang lemah dan migrasi ion terlarut sehingga akan terjadi peningkatan penetrasi pelarut ke dalam sampel.

6. *Ultrasonic-assisted Extraction (UAE)*

Metode ini memanfaatkan gelombang ultrasonic dengan frekuensi 20 kHz – 2000 kHz. Prinsip dari metode ini adalah meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam sel dengan adanya fenomena kavitasi akustik yang mengganggu dinding sel hingga pecah. UAE cocok digunakan untuk senyawa yang bersifat tidak stabil terhadap panas.

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi pada suatu tanaman, baik dari segi sampel tanaman yang digunakan ataupun pelarutnya. Antara lain sifat tanaman atau tumbuhan yang dijadikan sebagai simplisia, ukuran partikel sampel tanaman atau tumbuhan, konten kelembaban, sifat pelarut yang digunakan, dan perbandingan antara simplisia dengan pelarut (Mandal, 2015).

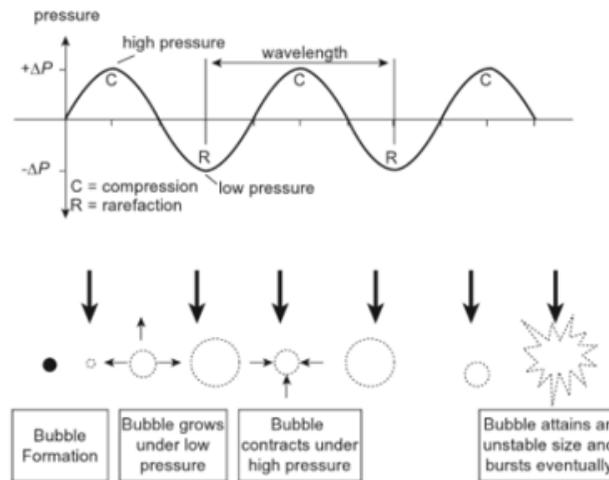
II.5 Ultrasonic-assisted Extraction (UAE)

Ultrasonic-assisted Extraction (UAE) merupakan metode ekstraksi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik. Berdasarkan intensitas dan frekuensinya, maka UAE terbagi menjadi dua, yaitu ultrasonik diagnostik dan daya ultrasonik. Pada ultrasonik diagnostik memiliki intensitas gelombang yang rendah dan frekuensi yang tinggi berkisar 100 kHz hingga 1 MHz. Sebaliknya daya ultrasonik memiliki intensitas gelombang yang tinggi dengan frekuensi yang rendah berkisar antara 16 kHz hingga 100 kHz. Pada jenis ultrasonik inilah yang dimanfaatkan untuk aplikasi ekstraksi bahan alam (Rutkowska, Namieśnik and Konieczka, 2017).

UAE merupakan suatu metode ekstraksi yang menggunakan energi akustik, yakni energi mekanik yang tidak diserap oleh molekul, melainkan ditransmisikan ke seluruh medium. Gelombang ultrasonik ditransmisikan ke dalam medium melalui gelombang tekanan dengan menginduksi gerakan getaran molekul yang secara bergantian merapatkan dan meregangkan struktur molekul medium karena tekanan yang bervariasi terhadap waktu.

Gelombang yang merambat ke dalam medium akan menghasilkan fenomena siklus tekanan yang tinggi (kompresi) dan siklus tekanan rendah (pelebaran) yang kecepatannya bergantung pada frekuensi getaran gelombang (Mandal, 2015).

Siklus tekanan yang tinggi akan menyebabkan molekul terdorong bersama-sama, sedangkan siklus bertekanan rendah (ekspansi) akan menyebabkan molekul-molekul tersebut terpisah. Jika siklus bertekanan rendah memiliki intensitas yang cukup tinggi, maka dapat terbentuk gelembung ataupun rongga cairan. Gelembung akan bertumbuh hingga mencapai titik kritis, dan selanjutnya akan pecah sehingga akan melepaskan sejumlah besar energi, momentum inilah yang dinamakan dengan kavitasi. Pelepasan molekul tanaman dari matriks disebabkan oleh luas permukaan kontak yang lebih besar antara fase padat dengan cair (Mandal, 2015; Rutkowska, Namieśnik and Konieczka, 2017).



Gambar 5. Fenomena Kavitasasi pada Ultrasonic-assisted Extraction (Mandal, 2015)

Beberapa keuntungan dari ekstraksi metode UAE ini antara lain peningkatan perpindahan massa tanaman, penetrasi pelarut yang lebih baik, proses ekstraksi yang dapat dilakukan pada suhu yang rendah, laju ekstraksi yang lebih cepat, serta persen rendemen yang dihasilkan cukup banyak (Rutkowska, Namieśnik and Konieczka, 2017; Vinatoru, Mason and Calinescu, 2017).

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi UAE, antara lain sebagai berikut (Mandal, 2015; Rutkowska, Namieśnik and Konieczka, 2017) :

1. Daya ultrasonik

Daya akustik dalam UAE merupakan salah satu parameter efisiensi, dalam hal ini hasil ekstraksi seperti persen rendemen dan komposisi ekstrak.

2. Frekuensi ultrasonik

Frekuensi yang memiliki satuan Hertz (Hz) dapat berpengaruh pada proses ekstraksi dikarenakan akan menentukan ukuran gelembung yang akan

terbentuk serta memiliki pengaruh terhadap ketahanan terhadap perpindahan massa.

3. Intensitas ultrasonik

Intensitas yang memiliki satuan W/cm berarti jumlah energi yang dimasukkan ke dalam media atau sebagai kerapatan energi akustik. Intensitas ultrasonik berhubungan dengan amplitudo tekanan gelombang akustik. Peningkatan amplitudo getaran, akan menghasilkan proses runtuhnya gelembung yang lebih keras.

4. Pelarut

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi ini perlu diperhatikan antara lain dari segi viskositas, tegangan permukaan dan tekanan uap pelarut, serta kelarutan senyawa target. Parameter tersebut akan mempengaruhi fenomena kavitasi. Semakin tinggi gaya kohesi antara molekul cairan maka akan sulit terjadinya fenomena kavitasi.

5. Suhu

Penting untuk memilih suhu ekstraksi sesuai dengan senyawa target. Peningkatan suhu pada proses ekstraksi akan menyebabkan peningkatan hasil ekstraksi.

Berdasarkan kontak sampel dengan gelombang ultrasonik, maka UAE terbagi menjadi dua. Yaitu *probe ultrasonic* dan *ultrasonic bath*. Pada *probe ultrasonic*, sampel akan dikenai gelombang ultrasonik tanpa penghalang.

Sedangkan pada *ultrasonic bath*, gelombang ultrasonik perlu melintasi cairan dalam alatnya terlebih dahulu lalu masuk ke dalam matriks tumbuhan (Rutkowska, Namieśnik and Konieczka, 2017)

Kelebihan dari metode ekstraksi UAE jenis *ultrasonic bath* antara lain gaya akustik yang dihasilkan didistribusikan secara merata ke seluruh medium. Namun, jenis ini juga memiliki kekurangan karena jumlah daya dan intensitas gelombang ultrasonik yang tidak begitu besar (Mandal, 2015).

II.6 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi berarti teknik pemisahan campuran yang didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cair) dan fase gerak (cair atau gas) yang menyebabkan terjadinya perbedaan migrasi dari masing-masing komponen. (Wulandari, 2011; Gandjar and Rohman, 2017).

KLT merupakan salah satu kromatografi planar. Fase diam dari KLT merupakan lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar dan merupakan penjerap berukuran kecil. Penjerap yang paling sering digunakan adalah silika dan serbuk selulosa. Sementara mekanisme sorpsi pada KLT adalah partisi dan adsorpsi. Pada partisi, solut akan terdistribusi secara merata pada fase diam dan fase gerak sesuai dengan kelarutan relatif diantara keduanya. (Gandjar and Rohman, 2017).

Pemisahan pada kromatografi ini dihentikan sebelum semua fase gerak melewati seluruh permukaan fase diam. Solut dikarakterisasi dengan jarak migrasi solut terhadap jarak ujung fase geraknya yang diistilahkan dengan

faktor retardasi solut (R_f) yang dapat dihitung dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solut}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Nilai R_f terbaik adalah 0,2 – 0,8 untuk deteksi UV dan 0,2 – 0,9 untuk deteksi visibel (Wulandari, 2011; Gandjar and Rohman, 2017). Bercak yang dihasilkan pada KLT umumnya bercak yang tidak berwarna. Untuk menampakkan bercak secara fisika dengan fluoresensi sinar ultraviolet dengan menggunakan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Sedangkan secara kimiawi dengan menyemprot lempeng dengan reagen kromogenik yang akan bereaksi dengan gugus fungsional dalam analit sehingga bercak menjadi berwarna (Gandjar and Rohman, 2017).

II.7 KLT – Densitometri

Senyawa yang telah dipisahkan pada KLT dapat dianalisis secara kualitatif maupun kuantitatif dengan menggunakan metode densitometri yang berdasarkan interaksi reaksi elektromagnetik (REM) noda analit pada fase diam KLT berupa intensitas cahaya yang mengenai molekul senyawa pada noda yang akan menentukan intensitas cahaya yang diabsorpsi, ditransmisi, dipantulkan oleh noda analit dari intensitas REM semula (Wulandari, 2011).

Analisis kualitatif analit pada densitometri ditentukan dengan membandingkan nilai R_f analit dengan standar yang kemudian dibandingkan spektrum keduanya. Sedangkan analisis kuantitatif analit ditentukan dengan

membandingkan tinggi puncak dan luas area kurva noda analit dengan tinggi puncak dan luas area kurva standar pada fase diam yang diketahui konsentrasinya (Wulandari, 2011).

II.8 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Visibel merupakan salah satu metode analisis senyawa baik secara kualitatif maupun kuantitatif yang berdasarkan pada radiasi elektromagnetik. Sinar ultraviolet dan sinar visibel merupakan salah satu contoh radiasi elektromagnetik yang merambat dalam bentuk gelombang. Sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang berkisar 200 – 400 nm dan sinar visibel mempunyai panjang gelombang berkisar 400-750 nm (Gandjar and Rohman, 2017).

Pada spektrofotometri UV-Vis terdapat dua sumber lampu, yaitu lampu deuterium yang digunakan untuk daerah UV dan lampu halogen kuarsa atau lampu tungsten yang digunakan untuk daerah visibel. Cahaya dari kedua lampu akan diteruskan ke monokromator yang berfungsi untuk mendispersikan cahaya dengan panjang gelombang tertentu yang kemudian dilewatkan pada sampel dan akan terbaca oleh detektor (Gandjar and Rohman, 2017).

Pada aspek kuantitatif, berkas sinar radiasi yang mengenai larutan sampel dan diteruskan diperhitungkan intensitasnya. Radiasi sinar yang diserap oleh larutan sampel ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap jika tidak ada penyerap lainnya (Watson, 2013; Gandjar and Rohman, 2017).

Penyerapan cahaya pada larutan sampel diatur dengan Hukum Lambert-Beer yang dinyatakan sebagai berikut (Gandjar and Rohman, 2017)

$$\text{Log } \frac{I_0}{I} = abc$$

$$A = abc$$

Keterangan :

I_0 = intensitas radiasi yang masuk

I = intensitas radiasi yang ditransmisikan

A = absorban

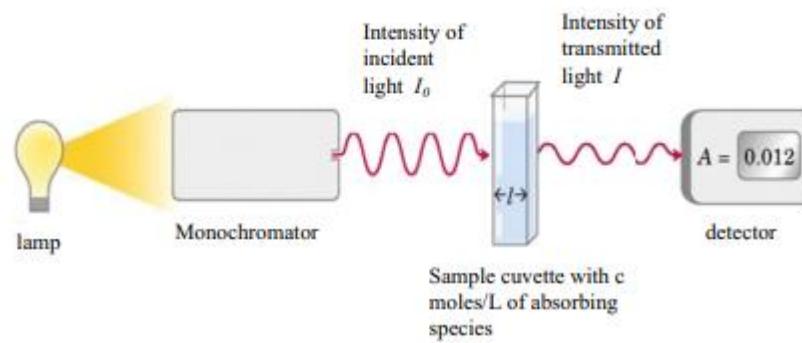
a = absorptivitas

b = tebal kuvet (cm)

c = konsentrasi

Hukum Lambert-Beer menyatakan bahwa intensitas yang diteruskan oleh larutan sampel berbanding lurus dengan tebal kuvet dan konsentrasi larutan. Dalam hal ini, penyerapan akan terjadi apabila volume larutan mempunyai penampang luas yang sama (Watson, 2013; Gandjar and Rohman, 2017).

Kelebihan dari metode spektrofotometri ini antara lain murah, mudah digunakan, serta dapat memberikan presisi yang baik. Sedangkan kelemahan dari metode ini adalah selektivitasnya yang sedang serta tidak mudah diterapkan pada analisis campuran (Watson, 2013).



Gambar 6. Mekanisme Spektrofotometer UV Vis (Kafle,2019)

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah ayakan nomor mesh 20 dengan ukuran lubang pengayak sebesar 850 μ m (MBT®), blender (Philips®), botol coklat 300 mL, cawan porselin, lampu UV 254 dan UV 366 nm, eksikator, labu tentukur (Pyrex®), mangkok, neraca analitik (Satorius®), oven (Mettler®), pipa kapiler, pipet mikro, seperangkat alat gelas (Pyrex®), sonikator Branson 1510, spektrofotometer UV-Vis, tabung *ependorf*, TLC scanner dan *water bath*.

Bahan yang digunakan adalah ammonia, aqua destillata, arekolin hirobromida (Sigma-Aldrich®), biji pinang (*Areca catechu* L.), etanol 96%, etil asetat, FeCl₃ 1%, Follin-Ciocalteu, katekin hidrat (Sigma-Aldrich®), kertas saring, lempeng *Silica Gel* GF-254, metanol PA, n-heksan, dan NaOH 1%.

III.2 Penyiapan simplisia

Buah pinang muda yang diperoleh dari Kabupaten Bulukumba, Sidrap, Masamba, Bone, dan Enrekang dicuci terlebih dahulu. Kemudian biji pinang dipisahkan terlebih dahulu dari buahnya dan dirajang, kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven simplisia dengan suhu 50°C.