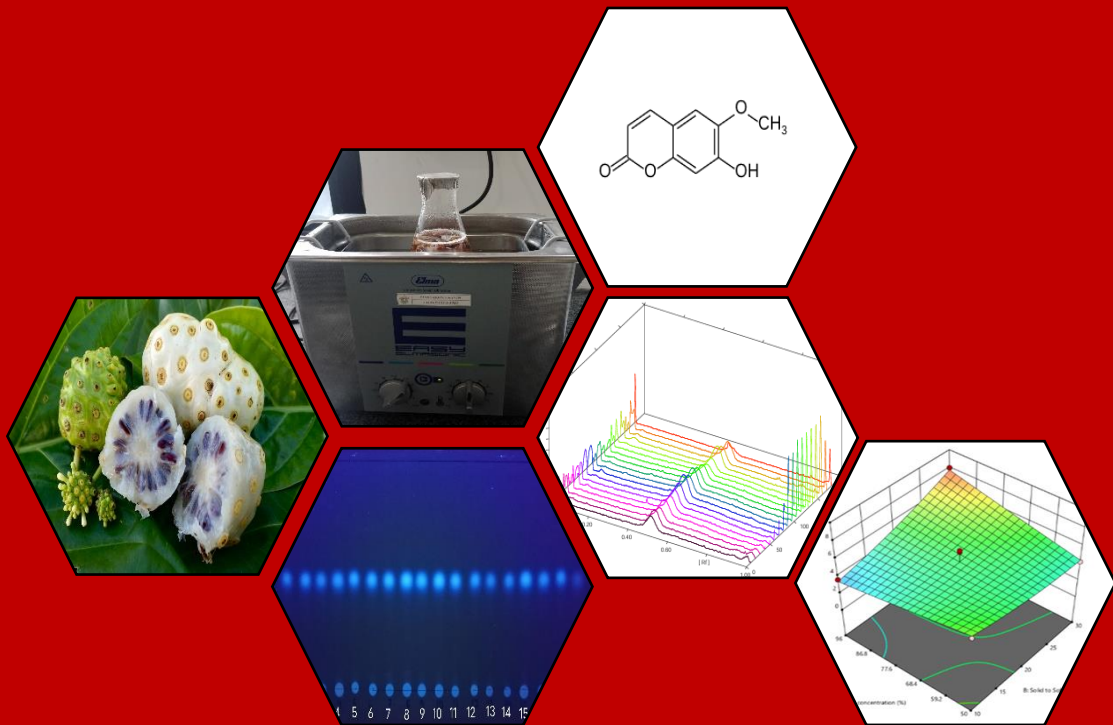


**OPTIMASI PARAMETER EKSTRAKSI SENYAWA SKOPOLETIN DARI
BUAH MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) YANG DIPEROLEH
MENGUNAKAN *ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION***



**SRI MAHARANI
N011211054**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2025**



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**OPTIMASI PARAMETER EKSTRAKSI SENYAWA SKOPOLETIN DARI BUAH
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) YANG DIPEROLEH MENGGUNAKAN
*ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION***

**SRI MAHARANI
N011211054**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2025**



Optimized using
trial version
www.balesio.com

**OPTIMASI PARAMETER EKSTRAKSI SENYAWA SKOPOLETIN DARI BUAH
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) YANG DIPEROLEH MENGGUNAKAN
*ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION***

**SRI MAHARANI
N011211054**

Skripsi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana

Program Studi Farmasi

pada

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2025**



Optimized using
trial version
www.balesio.com

SKRIPSI

**OPTIMASI PARAMETER EKSTRAKSI SENYAWA SKOPOLETIN DARI BUAH
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) YANG DIPEROLEH MENGGUNAKAN
ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION**

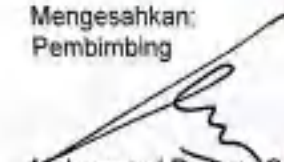
SRI MAHARANI
N011211054

Skripsi,

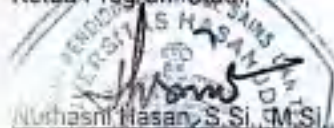
telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Farmasi
pada tanggal 6 Maret 2025 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan
pada

Program Studi Farmasi
Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:
Pembimbing


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

Mengetahui:
Ketua Program Studi


Nurhasni Hasan, S. Si., M. Si.
IA. Pharm. Sc., Ph. D., Apt.
NIP. 19660116 201012 2 009



PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, skripsi berjudul "Optimasi Parameter Ekstraksi Senyawa Skopoletin Dari Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) yang Diperoleh Menggunakan *Ultrasound-Assisted-Extraction*" adalah benar karya saya dengan arahan dari pembimbing Muhammad Raihan S.Si., M.Sc.Stud., Apt. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka skripsi ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa skripsi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 16 Maret 2025


SRI MAHARANI
N011211054


METERAI
TEMPEL
739AMX178948102



UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena senantiasa memberikan berkat dan rahmat hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik sebagai persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana di Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Penulis menyadari bahwa dalam proses penyusunan skripsi ini terdapat berbagai halangan dan rintangan, namun skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya dukungan dari berbagai pihak. Dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan ucapan rasa syukur dan terima kasih kepada :

1. Bapak Muhammad Raihan., S.Si., M.Sc.Stud., Apt selaku dosen pembimbing yang telah dengan sabar dan ikhlas meluangkan waktu dan tenaganya untuk membimbing, mengarahkan, memfasilitasi serta memberikan saran kepada penulis mulai dari rencana penelitian, proses penelitian, penyusunan skripsi hingga penulis menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapak Ismail, S.Si., M.Si., Apt dan Bapak Andi Affandi., S.Si., M.Sc., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan perbaikan dan saran yang membangun untuk penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Civitas akademik Fakultas Farmasi yang telah berbagi ilmu dan pengetahuan selama menjalankan pendidikan dan staf yang telah membantu proses administrasi perkuliahan.
4. Kak Abdi, Kak Nina dan Kak Dewi selaku laboran laboratorium Fitokimia, Farmakognosi dan Biofarmaka yang banyak membantu selama proses penelitian berlangsung.
5. Kakekku Sahudi, nenekku Tina, Om Sabil, Om Sapar, Om Surman, Om Syarif, Om Sabaruddin, Tante Hardina, Tante Mariani, Tante Tariati, dan keluarga besar Nene Ipha yang telah menjadi *main system* dalam memberikan cinta, doa dan restu kepada penulis selama menempuh pendidikan. Khusus kepada Ayahanda Alm. Arbin Usman dan Ibunda Alm. Suriati Sahudi yang selalu menjadi motivasi penulis untuk menyelesaikan masa studi ini.
6. Sahabat-sahabat terdekat penulis, Aulia Nur Muhardina dan Muhammad Imran Aras yang senantiasa menjadi *support system* penulis selama menempuh pendidikan dan menjadi tempat penulis berbagi cerita. Temanku sobat Geng Skripsi yang memberikan dukungan. Syifa dan Elyana yang banyak membantu dalam penelitian dan pengurusan berkas ini.
7. Rekan-rekan Korps. Asisten Farmakognosi-Fitokimia yang telah kebersamai, mawadahi dan memberikan bantuan selama masa studi. Sobat Tim NADES yang memberikan bantuan dan saran selama masa penelitian. Tak lupa sobat angkatan Farmasi 2021 dan CYCLOSP021NE atas solidaritas, kekeluargaan, suka cita dalam menjalani dan mewujudkan cita-cita di Fakultas Farmasi. Serta sobat posko KKN-PK Maccirinna atas dukungan dan doanya.
8. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, yang telah membantu, mendoakan dan memberi motivasi, semoga kebajikannya bernilai pahala dan menjadi ibadah. Terima kasih banyak.



Penulis,

Sri Maharani

ABSTRAK

SRI MAHARANI. **Optimasi Parameter Ekstraksi Senyawa Skopoletin dari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang Diperoleh Menggunakan *Ultrasound-assisted Extraction*.** (dibimbing oleh Muhammad Raihan).

Latar Belakang. Skopoletin dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis yang berpotensi dalam pengobatan berbagai penyakit. Potensi yang ditawarkan mendorong dilakukannya ekstraksi secara *Ultrasound-Assisted Extraction* (UAE) untuk menarik senyawa skopoletin dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). **Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran parameter optimum ekstraksi secara *ultrasound-assisted extraction* yang dapat diprediksi untuk memperoleh senyawa skopoletin dari buah mengkudu. **Metode.** Pengujian dilakukan menggunakan pendekatan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan *Box-Behnken Design* (BBD) untuk menentukan parameter uji berupa waktu ekstraksi (15-45 menit), rasio sampel-pelarut (1:10–1:30 g/mL), dan konsentrasi etanol (50-96%). Optimasi dilakukan dengan metode UAE yang hasilnya kemudian dianalisis menggunakan KLT-Densitometri. **Hasil.** Analisis menunjukkan bahwa optimasi ekstraksi senyawa skopoletin menghasilkan rendemen sebanyak 28,1-44,5% dan kadar skopoletin sebesar 2,67 – 6,33 mg/g. Optimasi menunjukkan parameter ekstraksi secara linear dan kuadrat tidak signifikan mempengaruhi kadar skopoletin ($p>0,05$), kecuali waktu ekstraksi dan interaksi rasio sampel-pelarut dengan konsentrasi etanol ($p<0,05$). Model kuadrat yang digunakan memiliki R^2 sebesar 0,713 dan *lack of fit* yang tidak signifikan. **Kesimpulan.** Optimasi ekstraksi metode UAE dengan pendekatan RSM desain *Box Behnken* secara komprehensif belum menggambarkan secara keseluruhan kondisi optimal yang akurat dalam memprediksi kadar senyawa skopoletin pada buah mengkudu namun kondisi optimum ekstraksi selama 27 menit, rasio sampel-pelarut 1:12 g/mL dengan menggunakan etanol 50% diprediksi menghasilkan kadar skopoletin sebesar 5,593 mg/g dan rendemen ekstrak buah mengkudu sebesar 33,02%.

Kata kunci: *Morinda citrifolia* L., skopoletin, *ultrasound-assisted extraction*, *response surface methodology*, *Box-Behnken Design*



ABSTRACT

SRI MAHARANI. **Optimization of Extraction Parameters for Scopoletin from Noni Fruit (*Morinda citrifolia* L.) Using Ultrasound-Assisted Extraction.** (supervised by Muhammad Raihan).

Background. Scopoletin has been reported to possess potential pharmacological activities in the treatment of various diseases. This promising potential has prompted the use of ultrasound-assisted extraction to extract scopoletin from noni fruit (*Morinda citrifolia* L.). **Aims.** This study aimed to determine the optimal extraction parameters using ultrasound-assisted extraction that can be predicted to obtain scopoletin from noni fruit. **Methods.** The experiment was conducted using the Response Surface Methodology (RSM) with a Box-Behnken Design (BBD) to determine the test parameters, which included extraction time (15–45 minutes), sample-to-solvent ratio (1:10–1:30 g/mL), and ethanol concentration (50–96%). Optimization was performed using the UAE method, and the results were analyzed with (TLC-densitometry). **Results.** The analysis revealed that the optimization of scopoletin extraction resulted in yields ranging from 28.1% to 44.5%, with scopoletin content between 2,67 and 6,33 mg/g. Optimization indicated that linear and quadratic extraction parameters did not significantly affect scopoletin content ($p > 0.05$), except for the interaction between the sample-to-solvent ratio and ethanol concentration ($p < 0.05$). The quadratic model used showed an R^2 value of 0.713 and a non-significant lack of fit. **Conclusion.** The optimization of the UAE method using the RSM with a Box-Behnken design did not comprehensively depict the overall optimal condition for accurately predicting scopoletin content in noni fruit (*Morinda citrifolia* L.). However, the optimal condition of 27 minutes extraction time, a sample-to-solvent ratio of 1:12 g/mL, and 50% ethanol yielded scopoletin content of 5,593 mg/g and a noni fruit extract yield of 33.02%.

Keywords: *Morinda citrifolia* L., scopoletin, ultrasound-assisted extraction, response surface methodology, Box-Behnken Design



Optimized using
trial version
www.balesio.com

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN PENGAJUAN	i
HALAMAN PENGESAHAN	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	v
UCAPAN TERIMA KASIH	v
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR ISTILAH	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
BAB II METODE PENELITIAN	3
2.1 Alat dan Bahan	3
2.2 Metode Kerja	3
BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	7
3.1 Penetapan Kadar Air Simplisia	7
3.2 Pengaruh Faktor Tunggal	7
3.3 Kurva Baku Skopoletin	8
3.4 Pengujian Spesifisitas Metode Analisis	8
3.5 Uji Kesesuaian Sistem	10
3.6 Ekstraksi Buah Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.)	12
3.7 Hasil Optimasi Parameter Ekstraksi Senyawa Skopoletin	12
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	17
4.1 Kesimpulan	17
4.2 Saran	18
DAFTAR PUSTAKA	19
LAMPIRAN	22



DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
1. Parameter uji optimasi proses ekstraksi skopoletin.....	4
2. Rancangan Box Bhenken Design	4
3. Parameter uji kesesuaian sistem	10
4. Variabel input dan respon rancangan Box Behnken.....	12
5. Hasil uji signifikansi dan analisis varian model kuadratik	13



DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
1. Struktur skopoletin	1
2. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap kadar senyawa skopoletin.....	7
3. Pengaruh rasio sampel-pelarut terhadap kadar senyawa skopoletin.....	7
4. Pengaruh konsentrasi etanol terhadap kadar senyawa skopoletin	8
5. Grafik linearitas kurva baku skopoletin	8
6. Profil densitogram pengujian spesifisitas	9
7. Kromatogram pengujian spesifisitas	9
8. Kromatogram penentuan uji kesesuaian sistem	10
9. Pemisahan dua kromatogram yang berdekatan	11
10. Kromatogram simetris dan asimetris.....	16
11. Profil KLT ekstrak buah mengkudu	13
12. Densitogram ekstrak buah mengkudu dan baku skopoletin.....	13
13. Plot permukaan respon 3d dan kontur 2d antar faktor	16
14. Grafik kondisi optimum variabel faktor dan variabel respon.....	17
15. Profil densitogram ekstrak buah mengkudu	39
16. Densitogram kadar senyawa skopoletin	39
17. Pengambilan sampel buah mengkudu.....	39
18. Perajangan sampel buah mengkudu	39
19. Pengeringan dengan oven dehidrator.....	39
20. Simplisia buah mengkudu Penguapan pelarut dengan rotavapor.....	39
21. Pengukuran kadar air simplisia dengan <i>moisture analysis</i>	39
22. Penimbangan simplisia buah mengkudu	39
23. Ekstraksi secara ultrasonikasi.....	40
24. Penguapan pelarut dengan rotavapor.....	40
25. Penguapan ekstrak dengan <i>waterbath</i>	40
26. Penotolan sampel pada lempeng KLT	40
27. Elusi lempeng KLT dengan fase gerak	40
28. <i>Scanning</i> lempeng KLT dengan <i>TLC-Scanner</i>	40



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian.....	22
2. Optimasi Proses Ekstraksi	23
3. Perhitungan	27
4. Data Pengaruh Faktor Tunggal	31
5. Data densitogram	32
6. Dokumentasi Penelitian	39
7. Determinasi Tanaman	41



DAFTAR ISTILAH

Lambang/singkatan	Arti dan penjelasan
BBD	<i>Box Behnken Design</i>
CCD	<i>Central Composite Design</i>
KE	Konsentrasi Etanol
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
mg/g	Miligram per gram
RSM	<i>Response Surface Methodology</i>
RSP	Rasio sampel-pelarut
UAE	<i>Ultrasound Assisted-Extraction</i>
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
WE	Waktu Ekstraksi
$\mu\text{g/ml}$	Mikogram per mililiter



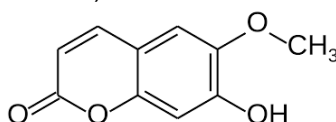
BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) merupakan salah satu tanaman famili *Rubiaceae* yang dilaporkan memiliki potensi pada pengobatan berbagai penyakit (Ali *et al.*, 2016). Ekstrak dan jus buah mengkudu dapat bermanfaat sebagai agen antioksidan (Zin *et al.*, 2002), antijamur (Wang *et al.*, 2009), antidiabetes (Shivananda *et al.*, 2011), antiinflamasi (Dussosoy *et al.*, 2011), imunostimulan (Palu *et al.*, 2008), antibakteri (Sunder *et al.*, 2011), antiulser (Srikanth & Muralidharan, 2009) dan antikanker (Lv *et al.*, 2011). Sebagian besar komponen bioaktif yang diidentifikasi pada buah mengkudu berupa senyawa fenolik yaitu damnakantal, morindon, alizarin, aukubin, nordamnakantal, rubiadin, rubiadin-1-metil eter, skopoletin, asam kaproat, asam asperulosidik, dan morenon (Zin *et al.*, 2007; Abou *et al.*, 2017).

Skopoletin (7-hidroksi-6-metoksi kumarin) merupakan kelompok kumarin sederhana yang berasal dari 1,2-benzopiron yang disintesis melalui jalur fenilpropanoid (Firmansyah *et al.*, 2021). Penelitian Wigati *et al.* (2017) dan Armenia *et al.* (2019) menunjukkan bahwa skopoletin memiliki sifat antihipertensi melalui mekanisme penghambatan aktivitas *angiotensin-converting enzim* (ACE), hal ini menyebabkan penurunan tekanan sistolik, diastolik dan tekanan arterial tanpa menghasilkan efek yang signifikan pada detak jantung. Efek farmakologi lainnya berupa anti alergi (Cheng *et al.*, 2012), antikanker (Antika *et al.*, 2023), antivirus SARS-CoV-2 (Baggieri *et al.*, 2023), antioksidan (Sam-Ang *et al.*, 2023), dan imunomodulator (Alkorashy *et al.* 2020).



Gambar 1. Struktur skopoletin (Firmansyah *et al.*, 2021)

Potensi yang ditawarkan senyawa skopoletin dalam berbagai aplikasi kesehatan telah mendorong para peneliti untuk mengembangkan metode ekstraksi yang efisien. Salah satu tahap yang paling krusial dalam proses pemisahan dengan ekstraksi adalah menarik senyawa skopoletin yang ada dalam tanaman (Firmansyah *et al.*, 2021). Beberapa metode ekstraksi telah dikembangkan untuk mengekstraksi skopoletin dari berbagai tanaman, baik metode konvensional dan metode modern (Antika *et al.*, 2022). Salah satu metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk memperoleh skopoletin adalah dengan bantuan ultrasonikasi atau *ultrasound-assisted extraction* (UAE). Studi terbaru melaporkan bahwa rendemen skopoletin pada tanaman *Convolvulus pluricaulis* yang diperoleh dari metode ekstraksi UAE adalah 31,87% (Tatke & Rajan, 2014). dari buah mengkudu menggunakan metode UAE telah dilakukan (Wigati *et al.*, 2017) dengan perolehan kadar skopoletin sebanyak 1,30 µg/L. yang dilakukan oleh Tasfiyati *et al.* (2023) menunjukkan bahwa kandungan skopoletin dari simplisia serbuk mengkudu adalah sekitar 234.65 ± 9.83 µg/g.



Metode ultrasonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk menghasilkan efek kavitasi yang menyebabkan peningkatan transfer massa dan interaksi antara pelarut dengan sampel (Ponphaiboon *et al.*, 2023), kavitasi ini menyebabkan dinding sel hancur, penetrasi pelarut ke dalam sel bertambah dan memfasilitasi pelepasan isi sel sehingga efisiensi ekstraksi meningkat (Shen *et al.*, 2023). UAE atau ultrasonikasi dianggap sebagai metode ekstraksi yang ramah lingkungan dengan penggunaan pelarut yang minim, waktu ekstraksi yang singkat, biaya rendah, pengoperasian yang sederhana dengan rendemen yang tinggi (Bitwell *et al.*, 2023). Meskipun ultrasonikasi menawarkan banyak keunggulan, optimasi proses ekstraksi seringkali melibatkan banyak parameter atau variabel yang saling berinteraksi. Untuk mengatasi kompleksitas ini, pendekatan komputasional seperti *Response Surface Methodology* (RSM) dapat menjadi alat optimasi dalam mengidentifikasi interaksi antar parameter (Said *et al.*, 2015).

Metode RSM adalah sebuah metode statistik yang digunakan untuk memahami interaksi antara variabel independen (faktor/input) dan variabel dependen (respon) dalam menemukan kondisi optimal dengan meminimalkan jumlah eksperimen yang diperlukan (Gulyas *et al.*, 2023). RSM dapat menggambarkan hubungan kompleks antara variabel input dan respon menggunakan model matematika (Wahyuni *et al.*, 2024). Selain metode RSM, pendekatan lain yang dapat digunakan berupa *factorial design* maupun pendekatan kemometrik lainnya seperti *Principle Component Analysis* (PCA) dan *Partial Least Square* (PLS).

Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan optimasi ekstraksi menggunakan ultrasonikasi terhadap kadar senyawa skopoletin buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan parameter waktu ekstraksi, rasio sampel-pelarut serta konsentrasi pelarut yang digunakan.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana gambaran parameter optimum ekstraksi secara *ultrasound-assisted extraction* yang dapat diprediksi untuk memperoleh senyawa skopoletin dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.).

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui gambaran parameter optimum ekstraksi secara *ultrasound-assisted extraction* yang dapat diprediksi untuk memperoleh senyawa skopoletin dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.).



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa alat-alat gelas (Pyrex[®]), seperangkat alat KLT-densitometer, botol coklat, cawan porselen, *chamber* (Camag[®]), lampu UV 254 dan 366 nm, oven dehidrator (Papalole[®]), mikropipet (Nichiryo[®]), *microtube* (GS Bio[®]), *moisture analyzer* (Kern[®]), rotary *evaporator* (Heidolph[®]), ultrasonikasi (Elma[®]), timbangan digital (Acis[®]), TLC *Scanner* (Camag[®]), tip (Biologix[®]) dan *waterbath* (Memmer[®]).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu aquadest, asam sulfat 10%, baku skopoletin *purity* $\geq 99\%$ *analytical grade* (SigmaAldrich[®]), buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), etanol 96% (Onemed[®]), etil asetat, heksan (Merck[®]), lempeng KLT silika gel GF₂₅₄ (Merck[®]), kertas saring, metanol pro analisis (Merck[®]), dan tisu.

2.2 Metode Kerja

2.2.1 Penyiapan sampel

Sampel buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang didapatkan di Kec. Tamalanrea, Kota Makassar diidentifikasi spesiesnya di Laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin dengan melakukan determinasi tanaman sehingga diperoleh nomor 032/SKIT/Farmakognosi/X/2024. Selanjutnya, buah mengkudu dengan tekstur keras dan berwarna putih dipilih dan disortasi basah. Dilakukan pencucian sampel menggunakan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada buah. Setelah itu, sampel dirajang dengan dipotong kecil-kecil untuk memudahkan proses ekstraksi. Sampel kemudian dikeringkan menggunakan oven dehidrator pada suhu 50°C selama 48 jam. Setelah pengeringan, simplisia buah mengkudu di ukur kadar airnya dengan menggunakan *moisture analyzer*.

2.2.2 Pengujian pengaruh faktor tunggal

Faktor yang akan dioptimasi berupa waktu, rasio sampel-pelarut dan konsentrasi etanol diuji secara terpisah. Untuk parameter waktu, rentang yang diuji adalah 10, 20, 30, 40 dan 50 menit. Untuk parameter rasio sampel dan pelarut, digunakan simplisia buah mengkudu sebanyak 10 g dan dilakukan pengujian pada rentang perbandingan 1:10, 1:15, 1:20, 1:25 dan 1:30. Parameter konsentrasi etanol yang diujikan adalah 0%, 30%, 50%, 70% dan 96%. Faktor konstan yang digunakan dalam pengujian ini meliputi waktu 30 menit, rasio sampel terhadap pelarut sebesar 1:20 g/mL, etanol yang dipertahankan pada 75%. Hasil ekstraksi berdasarkan analisis secara statistik untuk menetapkan rentang nilai yang optimal parameter optimum pada prosedur optimasi.



2.2.3 Optimasi ekstraksi buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

2.2.3.1 Penentuan parameter uji

Parameter uji berupa waktu ekstraksi, rasio sampel-pelarut dan konsentrasi etanol. Pengujian parameter waktu ekstraksi adalah 15-45 menit, rasio sampel-pelarut berupa 1:10-1:30 g/mL dan konsentrasi pelarut yaitu 50-96%. Rancangan optimasi dibuat melalui aplikasi *Design Expert*[®] menggunakan rancangan Box Behnken untuk menentukan variabel input dan variabel respon. Variabel input terdiri dari waktu ekstraksi (X_1), rasio sampel-pelarut (X_2) dan konsentrasi EtOH (X_3). Variabel respon terdiri dari kadar skopoletin (Y_1) dan rendemen (*yield*) (Y_2). Variabel respon dibagi menjadi 3 level dengan desain yang terdiri dari 17 eksperimen acak dengan 5 replikasi pada titik pusat 0 (*central point*). Parameter uji ini dapat dilihat pada **Tabel 1** dibawah ini.

Tabel 1. Parameter uji optimasi proses ekstraksi skopoletin

Faktor	Parameter uji	Unit	Coded levels		
			-1	0	+1
X_1	Waktu ekstraksi	menit	15	30	45
X_2	Rasio sampel-pelarut	g/mL	10	20	30
X_3	Konsentrasi EtOH	%	50	73	96
Variabel dependen			Levels		
Y_1	<i>Yield</i>	%	Maximum		
Y_2	Kadar skopoletin	mg/g	Maximum		

2.2.3.2 Ekstraksi buah mengkudu

Sebanyak 10 g simplisia buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) diekstraksi secara ultrasonikasi menggunakan pelarut etanol sesuai dengan rancangan pada **Tabel 2**. dibawah ini.

Tabel 2. Rancangan Box Behnken Design

Run	Coded Variable			Uncoded Variable		
	X_1 (min)	X_2 (g/mL)	X_3 (%)	Y_1 (mg/g)	Y_2 (%)	WE (min)
1	-1	-1	0			15
2	0	1	-1			30
3	1	0	-1			45
4	0	0	0			30
5	0	0	0			30
6	-1	0	-1			15
7	-1	0	1			15
8	0	1	1			30
9	0	-1	-1			30
10	1	1	0			45
11	1	1	0			15
12	0	0	0			30
13	0	1	1			45
14	-1	1	1			30
15	0	0	0			30
16	0	0	0			30
17	0	0	0			30



17	+1	-1	0	45	1:10	73
----	----	----	---	----	------	----

Keterangan: WE : Waktu Ekstraksi; RSP : Rasio sampel-pelarut; KE : Konsentrasi EtOH

Ekstrak cair yang diperoleh disaring lalu dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* yang suhunya diatur menjadi 50°C dengan kecepatan 150 rpm. Ekstrak kental yang diperoleh diuapkan diatas *waterbath* dengan suhu 50°C lalu disimpan dalam desikator. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dihitung persen rendemennya menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak (g)}}{\text{Bobot simplisia (g)}} \times 100\% \quad (1)$$

Ekstrak kental tersebut dianalisis dengan KLT-densitometri untuk memperoleh profil KLT, densitogram dan kadar skopoletin. Hasil pengukuran kadar skopoletin kemudian diolah data dengan pendekatan *Response Surface Methodology* sehingga dari olah data ini diperoleh parameter optimum ekstraksi.

2.2.4 Preparasi larutan baku

Sebanyak 10 mg baku skopoletin ditimbang dan dilarutkan dengan metanol pro analisis dalam vial lalu dipindahkan ke dalam labu tentukur dan dicukupkan hingga 10 mL menggunakan etanol pro analisis hingga terbentuk larutan stok (1000 µg/mL). Larutan stok selanjutnya diencerkan dalam labu tentukur menggunakan etanol pro analisis untuk memperoleh larutan standar 10, 20, 30, 40 dan 50 µg/mL.

2.2.5 Analisis kadar skopoletin menggunakan KLT-Densitometri

Masing-masing sebanyak 100 mg ekstrak buah mengkudu dilarutkan dengan etanol 96% dalam *microtube* dan dicukupkan hingga 1 mL. Tiap sampel dan baku ditotol sebanyak 2,5 µL dengan mikropipet pada lempeng KLT silika gel GF₂₅₄ yang berukuran 20 x 10 cm. Lempeng dielusi menggunakan fase gerak heksan : etil asetat (1:1 v/v) sebanyak 20 mL. Lempeng yang telah dielusi diamati dibawah UV 366 nm lalu di pindai dengan TLC Scanner. Dilakukan pencatatan nilai Rf (*Retardation factor*) dan AUC (*Area Under Curve*).

2.2.6 Pengujian spesifisitas metode analisis

Masing-masing sampel ekstrak, larutan *spike* sampel dan larutan baku skopoletin dengan konsentrasi 10 ppm ditotolkan sebanyak 2,5 µL pada lempeng KLT silika gel GF₂₅₄. Lempeng KLT dikembangkan menggunakan fase gerak heksan:etil asetat (1:1 v/v) lalu diamati di bawah UV 366 nm dan dipindai menggunakan TLC Scanner. Hasilnya kemudian diamati dan dibandingkan.



M (*Response Surface Methodology*) dengan Aplikasi Design

analisis parameter optimum proses ekstraksi menggunakan desain *Response Surface Methodology* (RSM). RSM adalah teknik statistik dan

matematika yang berguna untuk mengembangkan, meningkatkan dan mengoptimalkan proses, teknik ini terdiri dari beberapa variabel input atau variabel independen yang berpotensi mempengaruhi ukuran kinerja/karakteristik kualitas produk yang biasa disebut sebagai respon (Myers *et al.*, 2009).

Pendekatan model RSM yang sering digunakan yaitu *Central Composite Design* (CCD) dan *Box Behnken Design* (BBD). Dalam optimasi ini digunakan pendekatan RSM model Desain Box–Behnken. Untuk membentuk *response surface*, BBD memerlukan tiga tingkat level (-1, 0, dan +1) dan dapat digunakan untuk jumlah faktor antara 3 dan 21. Titik-titik pusat (*central points*) ditandai dengan “0” dan digunakan untuk menghasilkan istilah model kuadratik dan untuk menganalisis efek interaksi orde kedua antara faktor-faktor. Salah satu keuntungan BBD adalah tidak mengandung kombinasi sehingga semua faktor berada pada tingkat tertinggi atau terendah secara bersamaan, oleh karena itu tidak perlu melakukan pengukuran dalam situasi ekstrem (*vertex kubus*) (Gulyas *et al.*, 2023).

2.2.6.1 Tahapan pembuatan rancangan

Rancangan respon dibuat melalui aplikasi *Design Expert*® 13 dengan pendekatan *Box Behnken Design* untuk menentukan variabel input (independen) dan variabel respon (dependen). Variabel input terdiri dari waktu ekstraksi (X_1), rasio sampel-pelarut (X_2) dan konsentrasi EtOH (X_3). Variabel respon terdiri dari kadar skopoletin (Y_1) dan rendemen (Y_2).

2.2.7.2 Tahapan analisis respon

Variabel respon yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *Design Expert*® 13 untuk menentukan rumus model kuadrat.

