

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki berbagai macam jenis tanaman yang dapat dibudidayakan karena bermanfaat dan mempunyai kegunaan yang besar bagi manusia dalam bidang pengobatan. Tanaman obat telah lama dipercaya dapat mengobati beragam penyakit selama ribuan tahun (Wee et al., 2020). Saat ini, banyak masyarakat yang membiasakan hidup dengan menghindari bahan-bahan kimia sintesis dan lebih mengutamakan bahan-bahan alami. (Adithya Koirewoa & Indayany Wiyono, 2012)

Salah satu tanaman yang dapat digunakan dalam pengobatan adalah Legundi (*Vitex trifolia* L.). *V. trifolia* adalah tumbuhan semak yang dapat tumbuh hingga 6 meter, umumnya dikenal sebagai pohon suci berdaun tiga. Tanaman ini banyak digunakan dalam pengobatan tradisional di Cina, India, Asia Tenggara, Australia, dan Afrika Timur (Annamalai & Thangam, 2022; Bao et al., 2018). *V. trifolia* umumnya digunakan untuk mengobati penyakit seperti peradangan (Assaw et al., 2023), antimalaria (Mottaghpisheh et al., 2024), nyeri rematik, keseleo, infeksi saluran pernapasan, anti kanker atau diuretik. (Vo et al., 2022). Salah satu bagian tanaman yang digunakan adalah daun yang memiliki kandungan flavonoid seperti casticin, viteksin, luteolin, terpen seperti eucalyptol dan caryophyllene (Alam et al., 2002; Wee et al., 2020).

Viteksikarpin (3',5-dihidroksi-3,4',6,7-tetrametoksiflavin) atau dikenal juga dengan castisin, merupakan salah satu turunan flavonoid (Azizul et al., 2021) dengan rumus molekul $C_{19}H_{18}O_8$ dan berat molekul 374,34 yang merupakan senyawa yang diisolasi dari daun legundi yang telah lama dipercaya sebagai ramuan anti inflamasi (Rasul et al., 2014). Beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa viteksikarpin dapat menginduksi penghambatan sel kanker (Chan et al., 2018) dan menghambat trakeospasmodik yang diinduksi oleh histamin (Alam et al., 2002) Untuk memperoleh senyawa bioaktif tersebut dengan jumlah yang optimal, perlu dilakukan proses ekstraksi yang baik.

Metode ekstraksi untuk memperoleh senyawa dari tanaman umumnya dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton, heksana, dan etil asetat. Proses ini membutuhkan waktu yang lama serta tidak dapat dilakukan secara otomatis dan tidak dapat digunakan pada senyawa *thermolabile* (Puspita et al., 2023). Pelarut-pelarut organik tersebut bersifat toksik dan tidak ramah terhadap lingkungan. Pencarian pelarut yang tidak bersifat toksik dan ramah lingkungan perlu dipertimbangkan sebagai sebuah alternatif.

Metode yang dikembangkan untuk mendapatkan pelarut yang tidak bersifat toksik dan ramah lingkungan adalah dengan menggunakan pelarut baru yang dikenal sebagai *Natural Deep Eutektik Solvent* (NADES) (Plaza et al., 2021). NADES adalah campuran eutektik yang terdiri dari dua atau lebih ikatan senyawa alami yang bertindak sebagai *Hydrogen Bond Donors* (HBD) dan *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) seperti kolin klorida, urea, dan asam organik (Koutsoukos et al., 2019). Interaksi tersebut melibatkan ikatan hidrogen yang kuat antara kedua komponen (Cui et al., 2018) yang membentuk kompleks eutektik dengan titik leleh yang menurun secara signifikan, yang sangat baik untuk ekstraksi senyawa termolabil (Mohd Fuad et al., 2021; Plaza et al., 2021). NADES umumnya terdiri dari garam kuaterner, seperti turunan kolin



yang bertindak sebagai HBA serta gula, asam organik dan asam amino yang menjadi HBD (Santana et al., 2019). Gula, asam organik dan asam amino merupakan kandidat HBD terbaik untuk dikombinasikan dengan kolin klorida sebagai HBA untuk membentuk NADES yang mampu mengekstraksi untuk menarik senyawa fenolik dan flavonoid pada tanaman (Zain et al., 2021).

Viteksikarpin sebagai salah satu contoh flavonoid yang dapat diekstraksi dengan NADES. Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan penggunaan NADES untuk ekstraksi flavonoid seperti pada penelitian yang telah dilakukan oleh Vo et al. (2023) dalam mengekstraksi senyawa flavonoid dari buah murbei hitam dengan NADES sebagai pelarut mendapatkan hasil yang optimal, penelitian Peng et al. (2024) menunjukkan hal yang sama bahwa NADES mampu dengan baik mengekstraksi senyawa flavonoid pada daun kelor dan penelitian selanjutnya juga menunjukkan pengaruh pelarut NADES dalam mengekstraksi senyawa flavonoid dari daun *Bacopa monnieri* (Vo et al., 2024).

Berdasarkan penelitian Dai et al. (2016) membuktikan bahwa NADES dapat menjadi pelarut yang sangat baik untuk berbagai metabolit dengan polaritas rendah hingga sedang yang tidak larut atau sulit larut dalam air, sehingga menyebabkan efisiensi ekstraksi yang tinggi. NADES digunakan sebagai pelarut hijau dalam beberapa penelitian untuk mengekstrak metabolit sekunder melalui teknik ekstraksi non-konvensional seperti gelombang mikro dan ultrasonik (Jovanović et al., 2023; F. X. Xu et al., 2021; Zhang et al., 2022). NADES yang digabungkan dengan metode ekstraksi modern memberikan efisiensi yang lebih tinggi dibandingkan pelarut konvensional karena NADES dengan polaritas dan konstanta dielektrik yang tinggi menghasilkan efisiensi yang meningkat (Ruesgas-Ramón et al., 2017).

Salah satu metode ekstraksi modern yang umum digunakan adalah *Microwave assisted extraction* (MAE), ada banyak keuntungan dengan metode ini, termasuk waktu ekstraksi yang lebih singkat, jumlah pelarut yang sedikit dibutuhkan untuk diekstraksi, hasil yang lebih baik, dan kemampuan untuk mengurangi emisi karbon dioksida (Datu et al., 2019). Hal ini disebabkan karena besarnya kerusakan pada struktur dinding sel tanaman yang diakibatkan adanya kombinasi suhu tinggi dan radiasi gelombang mikro yang diubah menjadi panas melalui konduksi ionik, sehingga panas yang dihasilkan langsung ke jaringan tanaman (Kowalska et al., 2023). Rusaknya sel tumbuhan tersebut mempermudah senyawa target keluar dan terekstraksi (Hasdar et al., 2021).

Sejauh ini penelitian terkait pengaruh kondisi MAE yang berbeda (jenis pelarut, waktu radiasi dan daya gelombang mikro) khususnya terhadap kandungan viteksikarpin menggunakan pelarut NADES belum dilaporkan. Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian terkait optimasi penggunaan pelarut *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) berbasis kolin klorida terhadap kandungan viteksikarpin pada daun *V. trifolia*



ah

engaruh pelarut jenis NADES berbasis kolin klorida terhadap senyawa viteksikarpin dari daun *Vitex trifolia* yang diekstraksi dengan metode MAE?

parameter optimum dari metode MAE yang dilakukan untuk mengekstraksi senyawa viteksikarpin dari daun *Vitex trifolia* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh pelarut (NADES) terhadap konsentrasi senyawa viteksikarpin dari daun *Vitex trifolia* yang diekstraksi menggunakan MAE
2. Untuk mendapatkan parameter optimum dari metode MAE terhadap senyawa viteksikarpin pada daun *Vitex trifolia*

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat sebagai landasan informasi dan pengembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi tentang penggunaan pelarut NADES berbasis kolin klorida berbantu *Microwave Assisted Extraction* (MAE) yang optimal dalam mengekstraksi senyawa viteksikarpin yang terdapat pada daun *V. trifolia*



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini berupa eksperimental laboratorium, yang dikerjakan dengan menggunakan pelarut *Natural Deep Eutectic solvent* (NADES) yang berbasis kolin klorida untuk mengekstraksi senyawa viteksikarpin pada daun *Vitex trifolia*.

2.2 Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Fakultas farmasi dan Laboratorium Biofarmaka, Pusat Kegiatan Penelitian Universitas Hasanuddin. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2024.

2.3 Alat dan Bahan

2.3.1 Alat penelitian

Alat alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Microwave Assisted Extraction (MAE), mikropipet, timbangan analitik, oven simplisia, corong Büchner, hotplate stirrer, densitometri dan peralatan gelas (Pyrex®) lainnya.

2.3.2 Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, kolin klorida (*Sigma.Aldrich*), gliserin, glukosa, asam sitrat, asam laktat, asam tartrat, etanol96%, etil asetat, n-heksan, kapas, plat KLT, ekstrak daun *V. trifolia* dan viteksikarpin (*MarkHerb*)

2.4 Prosedur Kerja

2.4.1 Pengambilan dan penyiapan sampel penelitian

Penyiapan simplisia

Sampel daun *V. trifolia* yang diambil dari kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan. Sampel dikumpulkan dan disortasi basah kemudian dirajang lalu dikeringkan menggunakan oven simplisia pada suhu 50°C

2.4.2 Pembuatan larutan NADES

NADES (Natural Deep Eutectic Solvent) pada penelitian ini disiapkan dengan mencampurkan komponen Hydrogen Bond Acceptor (HBA) dan Hydrogen Bond Donor (HBD) dalam rasio molar yang telah ditentukan. Komponen HBA yang digunakan adalah kolin klorida, sedangkan komponen HBD terdiri dari asam tartrat, glukosa, gliserin, asam laktat, dan asam sitrat (Tabel 1).

2.4.3 Ekstraksi dengan *Microwave Assisted Extraction* (MAE)

Ekstraksi dilakukan dengan melarutkan simplisia 1 g dalam 20 ml NADES, kemudian sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan diekstraksi menggunakan MAE dengan daya 144 Watt dalam waktu 5 menit. Campuran yang dihasilkan disaring sehingga menghasilkan ekstrak kental.

2.4.4 Penentuan NADES berbasis kolin klorida dalam ekstraksi senyawa

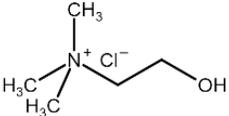
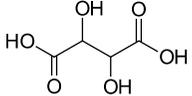
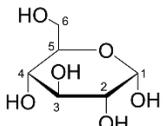
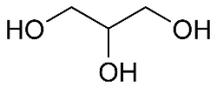
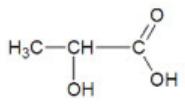
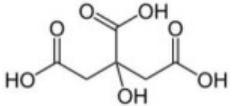


pada daun *V. trifolia*

lakukan dengan cara masing-masing hasil ekstrak variasi pelarut menggunakan mikropipet pada fase diam lempeng TLC aluminium ukuran 20 cm x 10 cm, batas bawah 1,5 cm dan batas atas 0.5 cm tolan ekstrak 1 cm. Proses ini dilakukan sebanyak tiga kali tidak dilakukan secara sekaligus. Setiap pengulangan dilakukan an mikropipet yang berbeda untuk memastikan akurasi dan

menghindari kontaminasi. Setelah itu, lempeng dielusi menggunakan fase gerak heksan:etil asetat (2:1). Kemudian, lempeng yang telah ditotol dimasukkan ke dalam instrumen Densitometry CAMAG TLC Scanner 3 dengan program analisis winCATS Planar Chromatography.

Tabel 1. Rasio Kombinasi NADES berbasis kolin klorida

<i>Hydrogen Bond Acceptors</i>	Struktur Kimia	Rasio	<i>Hydrogen Bond Donors</i>	Struktur Kimia	Rasio
Kolin Klorida		2 Molar	Asam Tartrat		1 Molar
			Glukosa		
			Gliserin		
			Asam Laktat		
			Asam Sitrat		



2.4.5 Skringing NADES

Analisis dan verifikasi hasil optimasi NADES

Analisis optimasi dilakukan dengan uji deskriptif, dengan uji normalitas terlebih dahulu. Jika data terdistribusi dengan normal, maka hasil dapat dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji lanjutan dengan melihat signifikansi dengan *multiple comparisons*. Untuk menentukan kombinasi NADES terbaik

Optimasi ekstraksi NADES dengan metode *Response Surface Methodology* (RSM)

Hasil optimasi dilakukan menggunakan metode RSM *Box-Behnken Design* (BBD) menggunakan kombinasi NADES terbaik dari hasil skringing. Optimasi dilakukan dengan faktor sebagai berikut : rasio simplisia pelarut (1:10, 1:20 dan 1:30) power watt (144, 430 dan 720 watt) dan waktu ekstraksi (1, 3 dan 5 menit). Desain faktor optimasi NADES terhadap viteksikarpin dapat dilihat pada Tabel 2 Kemudian dianalisis kadar viteksikarpin menggunakan instrument KLT Densitometry CAMAG TLC Scanner 3 program analisis *winCATS Planar chromatography*.

Tabel 2. Desain faktor optimasi NADES terhadap viteksikarpin

Faktor	Unit	Level		
		-1	0	1
Rasio Simplisia-Pelarut	g/ml	1:10	1:20	1:30
Power Watt	Watt	144	430	720
Lama Ekstraksi MAE	Menit	1	3	5

Pengolahan data hasil optimasi NADES

Data yang diperoleh kemudian dioptimasi menggunakan analisis densitometri yang selanjutnya diolah dengan analisis kemometri menggunakan aplikasi *Desain Expert v.13* dengan desain kombinasi *Box-Behnken*, meliputi analisis dan optimasi.

