



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PEMANFAATAN GELOMBANG MIKRO DALAM PROSES  
EKSTRAKSI DAUN SIMPUR (*Dillenia indica*) UNTUK  
MEMPEROLEH SENYAWA ANTIOKSIDAN**

**SKRIPSI**

**Ahmad Reza  
0405060075**

**FAKULTAS TEKNIK  
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA  
DEPOK  
JULI 2009**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PEMANFAATAN GELOMBANG MIKRO DALAM PROSES  
EKSTRAKSI DAUN SIMPUR (*Dillenia indica*) UNTUK  
MEMPEROLEH SENYAWA ANTIOKSIDAN**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik**

**Ahmad Reza  
0405060075**

**FAKULTAS TEKNIK  
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA  
KEKHUSUSAN TEKNIK KIMIA  
DEPOK  
JULI 2009**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

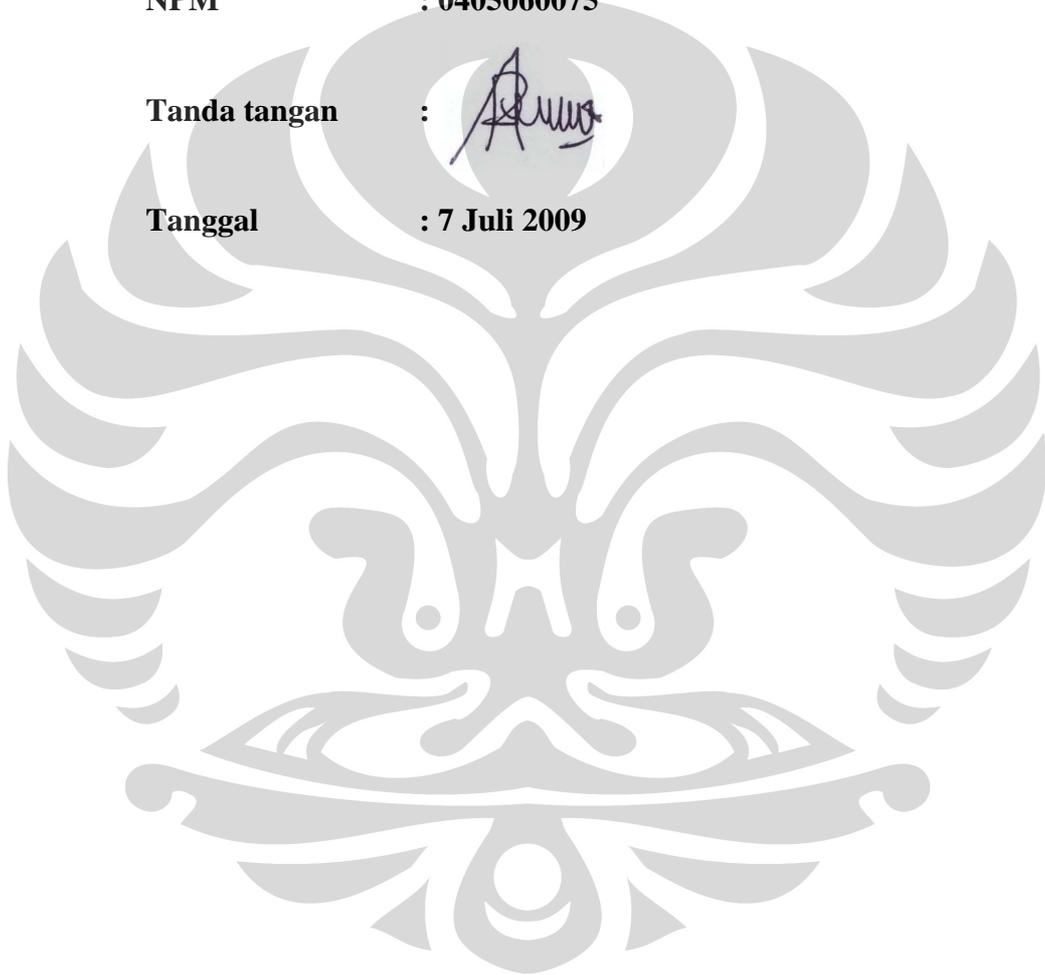
**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.**

**Nama : Ahmad Reza**

**NPM : 0405060075**

**Tanda tangan : **

**Tanggal : 7 Juli 2009**



## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Ahmad Reza  
NPM : 0405060075  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul Skripsi : Pemanfaatan Gelombang Mikro dalam Proses Ekstraksi Daun Simpur (*Dillenia indica*) untuk Memperoleh Seyawa Antioksidan

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Tania Surya Utami, ST., MT. (  )  
Pembimbing II : Ir. Rita Arbianti, M.Si (  )  
Penguji I : Dr. Heri Hermansyah, S.T., M.Eng (  )  
Penguji II : Dr. Ir. Anondho Wijanarko, M.Eng (  )

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 7 Juli 2009

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan hikmat-Nya penulis dapat menyelesaikan makalah skripsi ini. Makalah dengan judul “**Pemanfaatan Gelombang Mikro dalam Proses Ekstraksi Daun Simpur (*Dillenia indica*) untuk Memperoleh Senyawa Antioksidan**” ini disusun untuk memenuhi tugas skripsi. Dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tania Surya Utami, ST, M.T dan Ir. Rita Arbianti, M.Si selaku pembimbing skripsi yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama proses penyusunan makalah skripsi.
2. Prof. Dr. Ir. Widodo W. Purwanto, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTUI dan Pembimbing Akademis penulis.
3. Bapak dan Ibu serta Kakak dan Adik tercinta yang selalu memberikan doa, semangat, kasih sayang, cinta serta dukungan yang mengalir tanpa henti kepada penulis.
4. Keluarga baru Bioproses, khususnya Alba, Lila, Ayu, Wafa, Sutar, Tika, Ra, dan Jawir yang telah bersama-sama menjalani penelitian dan pembuatan skripsi.
5. Tya, Febry, Polu, dan Yuki sahabat yang banyak memberikan dukungan kepada penulis dan membuat hari-hari penulis menjadi berwarna.
6. Mas Eko yang membantu dalam pengerjaan penelitian di laboratorium.
7. Teman-teman GP'05 yang tidak bisa disebutkan satu persatu, semoga selalu kompak dan berkeluarga.

Dan akhirnya penulis berharap agar makalah ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Depok, Juli 2009

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS  
AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

---

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang betrandu tangan di bawah ini:

Nama : Ahmad Reza  
NPM : 0405060075  
Program Studi : Teknik Kimia  
Departemen : Teknik Kimia  
Fakultas : Teknik  
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

PEMANFAATAN GELOMBANG MIKRO DALAM PROSES EKSTRAKSI DAUN  
SIMPUR (*Dillenia indica*) UNTUK MEMPEROLEH SENYAWA ANTIOKSIDAN

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 7 Juli 2009

Yang menyatakan,



(Ahmad Reza)

## ABSTRAK

Nama : Ahmad Reza  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul : Pemanfaatan Gelombang Mikro dalam Proses Ekstraksi Daun Simpur (*Dillenia indica*) untuk Memperoleh Senyawa Antioksidan

Antioksidan merupakan penghambat oksidasi sehingga dapat digunakan sebagai pengawet bahan makanan. Selama ini antioksidan yang banyak digunakan adalah antioksidan sintetik, seperti BHA (*butylated hydroxyanisole*) atau BHT (*butylated hydroxytoluena*). Antioksidan ini tidak baik untuk kesehatan manusia sehingga diperlukan pengganti antioksidan sintetik dengan antioksidan alami yang dapat diperoleh dari bahan alam, seperti daun *Dillenia indica*. Pada penelitian sebelumnya, terbukti bahwa daun dan buah *Dillenia indica* mempunyai aktivitas antibakteri dan antioksidan.

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro (*Microwave-Assisted Extraction*) untuk mengekstrak daun *Dillenia indica*. Untuk mendapatkan aktivitas antioksidan optimum, maka dilakukan variasi terhadap volume pelarut etanol dan waktu ekstraksi. Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan metode *carotene bleaching*. Metode *carotene bleaching* merupakan metode untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan berdasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah peluruhan warna jingga karoten akibat oksidasi dalam sistem emulsi minyak goreng dan karoten.

Aktivitas antioksidan optimum yang didapatkan adalah 92,51% dengan volume pelarut etanol 100 mL dan waktu ekstraksi 8 menit. Aktivitas antioksidan optimum yang didapatkan dari metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, sonikasi, dan tekanan tinggi dibandingkan dengan analisis ragam (ANOVA). Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daun *Dillenia indica* dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan kondisi operasi yang digunakan pada saat ekstraksi (volume pelarut, ukuran serbuk daun, waktu ekstraksi, suhu, dan tekanan).

Kata kunci : *Dillenia indica*, Aktivitas Antioksidan, *Microwave Assisted-Extraction* (MAE), *Carotene Bleaching*, ANOVA

## ABSTRACT

Name : Ahmad Reza  
Study Program: Chemical Engineering  
Title : Utilization Microwave in Extraction Process of Simpur (*Dillenia indica*) Leaves to Get Antioxidant

Antioxidants are oxidation inhibitor so it can be used as food preservatives. Antioxidant synthetic widely used for food preservatives like BHA (butylated hydroxyanisole) and BHT (butylated hydroxytoluena). This antioxidant is not good for human health so it is necessary to replace antioxidant synthetic with natural antioxidant that get from nature, like *Dillenia indica* leaves. Based on prior study, it's proved that *Dillenia indica* fruits and leaves had antibacterial and antioxidant activity.

This study use microwave-assisted extraction (MAE) method to extract *Dillenia indica* leaves. Ethanol volume and extraction time will be evaluated to get optimum antioxidant activity. The antioxidant activity was assayed based on the beta carotene bleaching method. Carotene bleaching assay is a method to evaluate antioxidant activity based on capability of antioxidant to prevent discoloration of beta carotene caused by oxidation in emulsion system oil and carotene.

The optimum antioxidant activity is 92,51% by 100 milliliters ethanol volume and 8 minutes extraction time. Then the optimum antioxidant activity by microwave assisted extraction, sonication, and high pressure method will be compared with analysis variance (ANOVA). The result shows that antioxidant activity of extract *Dillenia indica* leaves is influenced by extraction method and operation condition when extraction process occurred (solvent volume, size of leaves powder, extraction time, temperature, and pressure).

Key word: *Dillenia indica*, Antioxidant Activity, Microwave-Assisted Extraction (MAE), Carotene Bleaching, ANOVA

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Permasalahan.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Batasan Masalah.....	4
1.5. Sistematika Penulisan.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. <i>State of The Art</i> .....	6
2.1.1. Penelitian Ekstraksi dengan Berbagai Metode.....	6
2.1.2. Penelitian Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro .....	7
2.1.1. Penelitian Famili <i>Dilleniaceae</i> .....	8
2.2. Simpur ( <i>Dillenia indica</i> L.).....	12
2.3. Antioksidan .....	14
2.3.1. Klasifikasi Antioksidan Berdasarkan Sumber .....	15

2.3.2. Klasifikasi Antioksidan Berdasarkan Mekanisme Kerja .....	17
2.3.3. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Carotene Bleaching .....	19
2.4. Ekstraksi Padat-Cair .....	22
2.5. Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro .....	24
2.5.1. Teori Gelombang Mikro .....	24
2.5.2. Instrumentasi .....	28
2.5.3. Prinsip Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro .....	30
2.5.4. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro .....	33
2.6. Analisis Varians (ANOVA) .....	37
2.5.1. Asumsi Dasar Analisis Varians .....	37
2.5.2. Prosedur Uji ANOVA .....	37
<b>BAB III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>40</b>
3.1. Rancangan Penelitian .....	40
3.1.1. Modifikasi Alat .....	40
3.1.2. Diagram Alir Penelitian .....	41
3.2. Alat dan Bahan .....	43
3.2.1 Peralatan .....	43
3.2.2. Bahan-Bahan .....	43
3.3. Preparasi Simplisia .....	44
3.4. Prosedur Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro .....	44
3.5. Prosedur Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode <i>Carotene Bleaching</i> .....	45
3.6. Prosedur Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode <i>Carotene Bleaching</i> Berdasarkan Variasi Penambahan Persentase Berat Ekstrak .....	46
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>47</b>
4.1. Modifikasi Oven Microwave .....	47
4.1.1. Reaktor Kaca dan Tutup Reaktor .....	48
4.1.2. Temperatur Kontrol .....	49
4.1.3. Kondenser .....	49

4.1.4. Karet Tahan Panas.....	49
4.2. Analisis Prosedur Penelitian .....	50
4.2.1. Preparasi Sampel Daun <i>Dillenia indica</i> .....	50
4.2.2. Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro .....	51
4.2.3. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode <i>Carotene Bleaching</i> .....	52
4.3. Hasil dan Analisis .....	54
4.3.1. Berat Ekstrak.....	54
4.3.2. Penentuan Laju Degradasi Beta Karoten .....	57
4.3.3. Pengaruh Volume Pelarut Etanol dalam Proses Ekstraksi Daun Simpur terhadap Aktivitas Antioksidan .....	60
4.3.4. Pengaruh Waktu Ekstraksi Daun Simpur terhadap Aktivitas Antioksidan .....	64
4.3.5. Pengaruh Penambahan Berat Ekstrak Daun Simpur terhadap Aktivitas Antioksidan .....	67
4.3.6. Uji ANOVA terhadap Aktivitas Antioksidan .....	68
<b>BAB IV. KESIMPULAN.....</b>	<b>72</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>73</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>77</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Diagram alir penelitian yang melibatkan famili <i>Dilleniaceae</i> .....	10
Gambar 2.2. Rangkuman penelitian terhadap famili <i>Dilleniaceae</i> dengan berbagai metode ekstraksi .....	11
Gambar 2.3. Pohon simpur.....	13
Gambar 2.4. Bunga dan daun simpur.....	13
Gambar 2.5. Buah simpur .....	13
Gambar 2.6. Struktur molekul hespiridin.....	16
Gambar 2.7. Struktur molekul senyawa $\beta$ -karoten .....	19
Gambar 2.8. Mekanisme reaksi senyawa karoten dengan radikal bebas .....	20
Gambar 2.9. Panjang gelombang optimum yang diserap beta karoten.....	21
Gambar 2.10. Penurunan absorbansi dengan metode <i>carotene bleaching</i> .....	21
Gambar 2.11. Skema tahapan dalam proses ekstraksi padat-cair .....	23
Gambar 2.12. Gelombang elektromagnetik, medan listrik E selalu tegak lurus arah medan magnetik H dan keduanya tegak lurus arah rambat gelombang. ....	25
Gambar 2.13. Spektrum gelombang elektromagnetik .....	25
Gambar 2.14. Perbedaan antara pemanasan konvensional dan pemanasan dengan gelombang mikro .....	26
Gambar 2.15. Skema oven gelombang mikro oven gelombang mikro terfokus dan oven gelombang mikro multimode .....	29
Gambar 2.16. Oven gelombang mikro multimode dengan 12 vesel.....	29
Gambar 2.17. (a) molekul air sebelum adanya medan magnet dan (b) molekul air akan berjajar akibat medan magnet.....	31
Gambar 2.18. Struktur dinding sel terong ungu sebelum pemanasan dan setelah pemanasan 3 menit dan 15 menit .....	33
Gambar 3.1. Peralatan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro .....	40
Gambar 3.2. Diagram alir penelitian.....	42
Gambar 4.1. Alat ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro .....	48
Gambar 4.2. Reaktor kaca dan tutup reaktor .....	48

Gambar 4.3. Kondenser.....	49
Gambar 4.4. (a) alas reaktor kaca dan (b) penyekat pada atap oven.....	50
Gambar 4.5. Berat ekstrak yang dihasilkan dengan variasi volume pelarut etanol .....	55
Gambar 4.6. Berat ekstrak yang dihasilkan dengan variasi waktu ekstraksi .....	56
Gambar 4.7. Reaksi oksidasi beta karoten .....	57
Gambar 4.8. Reaksi beta karoten dengan radikal peroksida .....	57
Gambar 4.9. Grafik orde satu reaksi degradasi beta karoten (variasi waktu ekstraksi 8 menit dan volume pelarut etanol 100 mL .....	58
Gambar 4.10. Laju degradasi ekstrak biji coklat (ekstrak etanol) dengan metode <i>carotene bleaching</i> .....	60
Gambar 4.11. Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak daun simpur dari ekstraksi variasi volume pelarut etanol.....	61
Gambar 4.12. Laju degradasi beta karoten dengan penambahan 5% senyawa bioaktif daun simpur yang diekstrak dengan variasi volume pelarut etanol.....	62
Gambar 4.13. Aktivitas antioksidan pada sampel uji variasi volume pelarut etanol.....	64
Gambar 4.14. Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak daun simpur dari variasi waktu ekstraksi .....	65
Gambar 4.15. Laju degradasi beta karoten dengan penambahan 5% senyawa bioaktif daun simpur yang diekstrak dengan variasi waktu ekstraksi.....	66
Gambar 4.16. Aktivitas antioksidan pada sampel uji variasi waktu ekstraksi.....	67
Gambar 4.17. Aktivitas antioksidan berdasarkan penambahan persentase berat ekstrak .....	68

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Ekstraksi bahan alam dengan bantuan gelombang mikro.....	8
Tabel 2.2. Hierarki taksonomi simpur.....	12
Tabel 2.3. Konstanta fisik untuk beberapa pelarut.....	27
Tabel 2.4. Laju pemanasan dan viskositas pelarut.....	32
Tabel 2.5. Suhu titik didih dan suhu di bawah gelombang mikro pada 175 psig dari berbagai pelarut.....	36
Tabel 3.1. Peralatan dan kegunaannya.....	43
Tabel 3.2. Bahan-bahan dan kegunaannya.....	44
Tabel 4.1. Aktivitas antioksidan pada variasi ekstraksi volume pelarut etanol.....	69
Tabel 4.2. Aktivitas antioksidan pada variasi waktu ekstraksi.....	70
Tabel 4.3. Aktivitas antioksidan optimum pada metode ekstraksi sonikasi, MAE, dan tekanan tinggi.....	70

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Masalah

Senyawa antioksidan merupakan inhibitor penghambat oksidasi. Cara kerja senyawa antioksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil (chem-is-try.org,2008). Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif. Stres oksidatif (*oxidative stress*) adalah ketidakseimbangan antara radikal bebas (prooksidan) dan antioksidan yang dipicu oleh dua kondisi umum, yaitu kurangnya antioksidan dan kelebihan produksi radikal bebas.

Senyawa antioksidan banyak dimanfaatkan untuk mengawetkan makanan karena kemampuannya menghambat reaksi oksidasi. Antioksidan yang disintesis melalui reaksi kimia seperti BHA dan BHT yang kini umum digunakan dalam makanan dikhawatirkan memiliki efek samping bagi kesehatan. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengganti senyawa antioksidan sintetik dengan antioksidan alami dari bahan alam. Bagian dari tumbuhan seperti buah, daun, akar, biji, dan kulit pohon dilaporkan memiliki senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan pada umumnya (Pratt,1990).

Simpur merupakan salah satu contoh bahan alam yang mengandung senyawa antioksidan. Simpur atau bernama latin *Dillenia indica L* bersinonim dengan *Dillenia speciosa* merupakan tumbuhan asli Asia. Tumbuhan ini tersebar di beberapa tempat seperti China – Yunnan, Subkontinen India (India dan Srilangka), Indocina (Thailand dan Vietnam) serta Melayu (Indonesia dan Malaysia) (ars-grin.gov,2008). Berdasarkan penelitian Iffa dan Lina, ekstrak buah simpur memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan (Iffa dan Lina, 2004). Adapun senyawa antioksidan yang teridentifikasi dalam buah simpur adalah BHT dan 1-dotriacontanol (Astrid,2005). Seperti halnya dengan buah, ekstrak daun simpur juga terbukti memiliki aktivitas

antioksidan (Utami,2007). Keberadaan daun simpur yang lebih melimpah dibandingkan buah menyebabkan penelitian selanjutnya akan difokuskan untuk mengekstrak daun..

Untuk mengisolasi senyawa antioksidan dari daun simpur dapat dilakukan dengan proses ekstraksi, seperti metode soklet, sonikasi, tekanan tinggi, dan *Supercritical Fluid Extraction* (SFE). Metode soklet memiliki prinsip yang hampir sama dengan distilasi, simplisia dimasukkan ke dalam refluks lalu diberi kalor sehingga uap hasil pemanasan selanjutnya dikondensasi untuk mendapatkan pelarut yang telah mengandung senyawa aktif yang ingin diambil. Kelemahan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang membutuhkan waktu 4-24 jam dan pelarut dengan volume 250-500 mL setiap ekstraksi (Dean,1998). Metode selanjutnya adalah sonikasi yang merupakan modifikasi dari metode maserasi. Metode ini memanfaatkan gelombang ultrasonik yang dapat menghancurkan sel daun sehingga mempercepat proses perpindahan massa senyawa bioaktif dari dalam sel ke pelarut. Walaupun waktu ekstraksi cukup singkat 3-15 menit, sonikasi relatif banyak menggunakan pelarut yaitu 150-300 mL (Dean,1998).Selain itu, metode sonikasi tidak otomatis sehingga peneliti perlu memantau ekstraksi secara intensif.

Kemudian metode SFE merupakan ekstraksi yang memanfaatkan fluida super kritis untuk mengekstrak bahan organik. Fluida superkritis memiliki kemampuan yang cepat untuk mengekstrak bahan organik dari bahan alam. Selain itu, fluida superkritis memiliki viskositas rendah dan koefisien difusi yang tinggi, sehingga perpindahan massa pada fluida superkritis lebih cepat dan mengurangi waktu ekstraksi (Dean,1998). Peralatan yang digunakan dalam metode ekstraksi ini sangat mahal. Metode tekanan tinggi merupakan penyederhanaan dari metode SFE. Namun, metode ini memiliki kelemahan yaitu preparasi alat yang lama dan sulit untuk mencapai kondisi operasi.

Pada penelitian ini akan digunakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro atau *Microwave Assisted Extraction* (MAE) untuk mengatasi berbagai kelemahan dari metode tersebut. Metode ini pertama kali digunakan pada tahun 1975 oleh Abu Samra untuk analisis logam dari contoh biologi dan

dikembangkan oleh Ganzler pada tahun 1986 untuk mengekstrak *lipids*, *antinutritives* dan pestisida dari tanah, benih dan makanan (Mandal,2007). Metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro memanfaatkan energi yang ditimbulkan oleh gelombang mikro yang merupakan bentuk radiasi non-ionisasi elektromagnetik. Ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro lebih sedikit menggunakan pelarut  $\pm 40$  mL dan mempersingkat waktu ekstraksi  $\pm 10-15$  menit dengan ekstrak yang didapatkan lebih banyak serta relatif lebih murah (Dean,1998). Selanjutnya, aktivitas antioksidan optimum yang diperoleh dari metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro akan dibandingkan dengan metode sonikasi dan tekanan tinggi dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA).

## 1.2. Rumusan Permasalahan

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan sebelumnya, maka dapat dikemukakan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh volume pelarut dan waktu ekstraksi terhadap aktivitas senyawa antioksidan dengan menggunakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro?
2. Bagaimana pengaruh persentase berat ekstrak daun simpur terhadap aktivitas antioksidan?
3. Apakah metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak daun simpur jika dibandingkan dengan metode sonikasi dan tekanan tinggi?

## 1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan pengaruh volume pelarut dan waktu ekstraksi terhadap aktivitas senyawa antioksidan dengan menggunakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro.
2. Mendapatkan persentase berat ekstrak optimum terhadap aktivitas antioksidan.

3. Membandingkan aktivitas senyawa antioksidan dari metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dengan metode tekanan tinggi dan sonikasi dengan menggunakan uji anova.

#### **1.4. Batasan Masalah**

Dalam penelitian ini, pembatasan terhadap masalah yang akan dibahas adalah sebagai berikut:

1. Sampel yang akan diekstrak adalah daun dari simpur yang diambil di sekitar Departemen Teknik Kimia FTUI Depok.
2. Sampel akan diekstraksi dengan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro (MAE) dengan menggunakan pelarut etanol.
3. Kondisi operasi ekstraksi akan berkisar pada temperatur  $\pm 5^{\circ}C$  dari titik didih etanol pada tekanan atmosfer.
4. Uji aktivitas senyawa antioksidan dengan menggunakan uji *caroten bleaching*.
5. Oven *microwave* yang digunakan merupakan oven domestik yang dimodifikasi

#### **1.5. Sistematika Penulisan**

Sistematika penulisan makalah ini adalah:

### **BAB I : PENDAHULUAN**

Terdiri dari latar belakang, rumusan permasalahan, tujuan penelitian, batasan masalah, dan sistematika penulisan.

### **BAB II : TINJAUAN PUSTAKA**

Berisi tinjauan tentang penjelasan umum yang diperlukan mengenai *State of the art* yang terdiri dari: penelitian ekstraksi dengan berbagai metode, penelitian ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, dan penelitian famili Dilleniaceae. Kemudian dilakukan pembahasan tentang simpur dan antioksidan: klasifikasinya

berdasarkan sumber dan mekanisme kerja serta uji aktivitas antioksidan dengan metode *Carotene Bleaching*. Kemudian dilakukan pembahasan mengenai ekstraksi padat-cair dan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro: teori gelombang mikro, instrumentasi, prinsip ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, dan faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro. Pada subbab terakhir pembahasan mengenai analisis varians (ANOVA).

### **BAB III : METODOLOGI PENELITIAN**

Menjelaskan langkah kerja yang diusulkan untuk melakukan ekstraksi senyawa antioksidan dari daun simpur dengan menggunakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dan menguji kandungan senyawa antioksidan dengan uji *carotene bleaching*.

### **BAB IV: HASIL DAN PEMBAHASAN**

Dalam bab ini akan dibahas tentang hasil dari penelitian yang dilakukan disertai dengan analisisnya.

### **BAB V: KESIMPULAN**

Bab ini memberikan kesimpulan akhir dari hasil penelitian dan analisa yang dilakukan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. *State of the Art*

##### 2.1.1. Penelitian Ekstraksi dengan Berbagai Metode

Ekstraksi adalah istilah yang digunakan untuk operasi yang melibatkan perpindahan suatu konstituen padat atau cair (*solute*) ke dalam cairan lain yaitu *solvent* atau pelarut. Ekstraksi dapat dilakukan dengan berbagai metode, seperti maserasi, soklet, SFE (*Supercritical Fluid Extraction*), tekanan tinggi, dan MAE (*Microwave Assisted Extraction*).

Maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling konvensional. Metode ini dilakukan untuk mendapatkan senyawa antioksidan dari akar teratai (Yang,2007). Ekstraksi dengan metode maserasi untuk mengekstrak akar teratai membutuhkan waktu satu minggu dengan *yield* optimum yang didapatkan sebesar 4,6% (w/w). Sedangkan soklet merupakan metode maserasi yang dimodifikasi. Metode ini untuk menyingkat waktu ekstraksi dengan metode maserasi dari satu minggu menjadi beberapa jam. Soklet digunakan untuk mengekstrak senyawa antioksidan dari anggur (Murthy,2002). Berat ekstrak optimum yang diperoleh adalah 5,2% (w/w) dengan waktu ekstraksi 6 jam.

Metode ekstraksi terus dikembangkan untuk mempersingkat waktu ekstraksi dan mendapatkan ekstrak yang lebih banyak serta volume pelarut yang lebih sedikit. Kemudian muncul metode baru dalam ekstraksi, yaitu SFE (*Supercritical Fluid Extraction*). SFE merupakan ekstraksi yang memanfaatkan fluida super kritis untuk mengekstrak bahan organik. Fluida superkritis memiliki viskositas rendah dan koefisien difusi yang tinggi, sehingga memudahkan perpindahan massa dari matriks ke pelarut. SFE dilakukan untuk mengekstrak minyak esensial dari *Merchantia convulta* (Xiao,2007). Dari penelitian ini *yield* optimum didapatkan pada saat waktu ekstraksi 35 menit dan volume pelarut 40 mL. Kekurangan dari metode ini adalah harga peralatannya yang mahal, sehingga dilakukan penyederhanaan terhadap metode SFE menjadi metode tekanan tinggi. Metode tekanan tinggi digunakan untuk

mengekstrak senyawa antioksidan dari *Dillenia indica* (Utami,2007). Aktivitas antioksidan optimum yang didapatkan pada waktu ekstraksi 50 menit dan volume pelarut 75 mL. Namun, metode tekanan tinggi memiliki kelemahan yaitu preparasi alat yang lama dan sulit untuk mencapai kondisi operasi.

### **2.1.2. Penelitian Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro**

Pertama kali metode ekstraksi dengan gelombang mikro dilakukan pada tahun 1975 oleh Abu-Samra yang menggunakan oven gelombang mikro domestik dalam melakukan analisis logam dari contoh biologi (Mandal,2007). Penelitian ini dipublikasikan pertama kali sepuluh tahun kemudian. Pada tahun 1986 Ganzler menggunakan metode ini untuk mengekstrak *lipids*, *antinutritives* dan pestisida dari tanah, benih dan makanan (Mandal,2007).

Sejak itu, metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dikembangkan untuk mengekstrak dari berbagai jenis simplisia seperti tanaman, biologi, lingkungan, matriks geologis dan metalik. Pada tahun 1998 Egizabal mengekstrak tanah yang mengandung senyawa fenol dan didapatkan hasil bahwa metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro lebih efektif dan efisien jika dibandingkan dengan metode soklet (Egizabal,1998). Hal ini dibuktikan dari penggunaan pelarut yang lebih sedikit (15 mL) dan singkatnya waktu pengekstraksian (16,5 menit) serta lebih banyaknya ekstrak yang didapatkan. ElKhorri menggunakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro untuk mengekstrak minyak dari cokelat (ElKhorri,2006). Dalam kesimpulannya, maka keuntungan menggunakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro adalah rendahnya pemakaian pelarut (40 mL), waktu ekstraksi yang singkat (460 detik), dan lebih sedikitnya pemakaian energi dengan lebih banyaknya ekstrak yang didapatkan. Dari berbagai penelitian ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, maka dapat diketahui bahwa waktu ekstraksi dipengaruhi oleh senyawa yang ingin diambil (analit) dan jenis pelarut yang digunakan. Tabel 2.1 menunjukkan waktu ekstraksi dari berbagai ekstraksi bahan alam dengan bantuan gelombang mikro.

**Tabel 2.1.** Ekstraksi bahan alam dengan bantuan gelombang mikro

Material Tanaman	Analit	Pelarut	Waktu Ekstraksi	Negara	Peneliti
<i>Cuminum cyminum</i> dan <i>Zanthoxylum bungeanum</i>	Minyak esensial	Tanpa pelarut	30 menit	Cina	Wang,2006
Semua bagian tumbuhan <i>Nothapodytes foetida</i>	Camptothecin	90% metanol	7 menit	India	Fulzele dan Sative,2005
Batang dan daun segar <i>Lippia alba</i>	Minyak esensial	Tanpa pelarut	30 menit	Kolombia	Stasbenko, 2004
Buah kering <i>Macleaya cordata</i>	Sanguinarine dan chelerythrine	0,1 M HCl	5 menit	Cina	Zhang,2005
Akar kering <i>Salvia milthiorriza</i>	Diterpenes seperti tanshinones	95% etanol	2 menit	Cina	Pan,2001
Kulit kayu kering <i>Eucommia ulmodies</i>	Asam geniposidic dan asam chlorogenic	Campuran air metanol	40 detik	Cina	Li,2004
Daun tembakau	Solanesol	Heksana:etanol (3:1)	40 menit	Cina	Zhou dan Liu,2006
Akar <i>licorice</i>	Asam glycyrrhizic	50-60% etanol dengan 1-2% amonia	4-5 menit	Cina	Pan,2000
Jus apel kering	Pektin	HCl	20,8 menit	Cina	Wang,2007
Buah beri kering dari <i>Embelia ribes</i>	Embelin	Aseton	80 detik	India	Latha,2006
Akar temulawak	Curcumol, curdione dan germacrone	Air	4 menit	Cina	Deng,2006
Daun teh hijau	Polifenok dan kafein	50% campuran ai etanol	4 menit	Cina	Pan,2003
<i>Artemisia annua L.</i>	Artemisnin	#6 minyak ekstraksi	12 menit	Cina	Hao,2003

Sumber: Mandal,2007

### 2.1.3. Penelitian Famili *Dilleniaceae*

#### ❖ Penelitian Famili *Dilleniaceae* di Dunia

Penelitian tentang famili *Dilleniaceae* dilakukan pada tahun 1971 oleh Smith untuk mengekstrak daun *Dillenia indica* yang menunjukkan keberadaan dari senyawa kaempferol. Pemeriksaan senyawa glikosida dalam daun segar menunjukkan keberadaan senyawa 7-diglikosida dan 3-diglikosida. Senyawa ini akan teroksidasi selama penengrangan daun membentuk senyawa flavonoid. Keberadaan senyawa flavonoid ini menunjukkan keberadaan senyawa antioksidan (Smith,1971).

Pada tahun 1981 oleh Savitri untuk mengekstrak jaringan batang *Dillenia pentagyna* Roxb di India. Penelitian ini mendapatkan bahwa ekstrak batang *Dillenia pentagyna* Roxb mengandung *naringenin 7-galactosyl glucoside* dan *dihydroquercetin 5-galactoside* yang tergolong dalam senyawa *flavanone glycoside*, serta *rhamnetin 3-glucoside* yang termasuk dalam senyawa *flavonol glycoside* (Savitri,1981).

Pada tahun 1995 Nick mengekstrak tanaman *Dillenia papuana* yang telah dikenal sebagai tanaman obat di Papua New Guini. Pada ekstrak yang diisolasi dari tanaman ini ditemukan *2 $\alpha$ -hydroxy-3-oxoolean-12-en-30-oic acid*, *2-oxo-3 $\beta$ -hydroxyolean-12-en-30-oic acid* dan *1 $\alpha$ -hydroxy-3-oxoolean-12-en-30-oic acid* yang juga dikenal dengan nama asam *dillenic A, B* dan *C* tergolong dalam senyawa asam *triterpenoid oleanene* dan berperan sebagai antibakteri (Nick, 1995).

Pada tahun 2004 Abdille mengekstrak daging buah *Dillenia indica* dan menguji aktivitas antioksidannya. Dari penelitiannya tersebut, diketahui bahwa ekstrak buah *Dillenia indica* memiliki aktivitas antioksidan (Abdille,2004). Proses preparasi senyawa antioksidan dari buah *Dillenia indica* telah dipatenkan oleh India sejak tahun 2003.

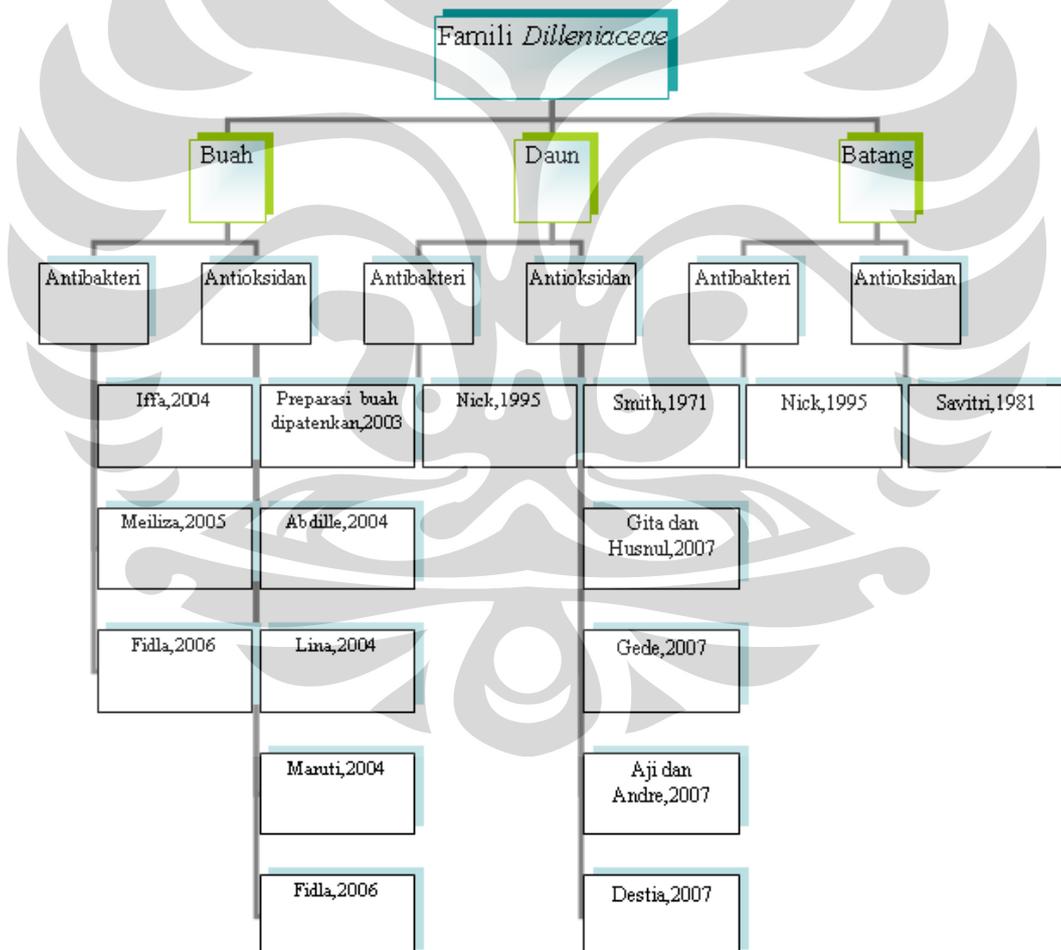
#### ❖ Penelitian Famili *Dilleniaceae* di Indonesia

Penelitian mengenai *Dillenia indica* di Indonesia hanya dilakukan oleh tim peneliti dari Teknik Kimia UI. Pada tahun 2004 Iffa dan Lina berhasil mengisolasi senyawa antibakteri dan antioksidan dari daging buah *Dillenia indica*. Daging buah diekstrak dengan pelarut heksana dan etanol, menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, yang diujikan pada bakteri *E. Coli* berjenis ATCC dengan metode cakram (Iffa,2004) dan aktivitas antioksidan, yang diujikan pada minyak kedelai dengan metode *carotene bleaching* (Lina,2004). Pada pengujian aktivitas antiobakteri terhadap bakteri *E. Coli* menunjukkan bahwa 25 mg/mL fraksi ekstrak heksana mempunyai aktivitas yang dapat bersaing dengan antibiotik komersial klorofenikol (Iffa,2004). Pada pengujian aktivitas antioksidan, kedua fraksi, baik fraksi ekstrak

heksana dan fraksi ekstrak etanol, menunjukkan adanya aktivitas antioksidan (Lina dan Maruti,2004).

Studi lebih lanjut dilakukan untuk mengetahui struktur dari senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dan antioksidan. Untuk ekstrak heksana, hasil identifikasi menunjukkan senyawa antibakteri yang terkandung dalam daging buah matang *Dillenia indica* adalah golongan terpenoid yaitu guaiol, eudesmol, bulnesol, dan  $\beta$ -sitosterol. Sedangkan untuk senyawa antioksidannya adalah BHT dan 1-dotriacontanol (Astrid,2005).

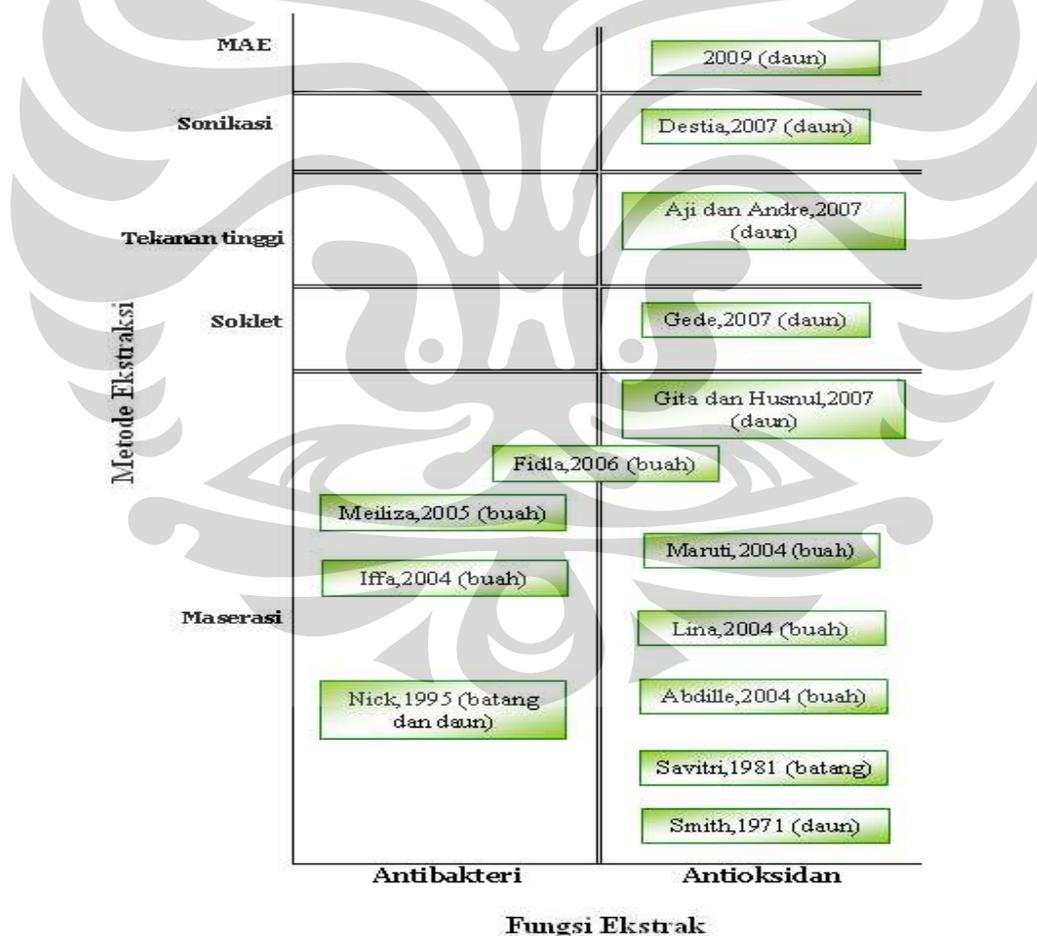
Berikut ini merupakan diagram alir penelitian yang melibatkan famili *Dilleniaceae*.



**Gambar 2.1.** Diagram alir penelitian yang melibatkan famili *Dilleniaceae*

Penelitian selanjutnya difokuskan pada daun *Dillenia indica* karena memiliki jumlah yang lebih melimpah dibandingkan dengan buah. Pada tahun 2007, Indika berhasil mengidentifikasi senyawa yang terdapat di dalam ekstrak daun *Dillenia indica* dengan menggunakan MS, IR,  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  dan ditemukannya senyawa fenolik, salah satu jenis antioksidan (Indika,2007). Pada tahun yang sama, dilakukan ekstraksi daun *Dillenia indica* dengan metode ekstraksi yang berbeda, yaitu tekanan tinggi, soklet, dan sonikasi (Utami, 2007). Aktivitas antioksidan optimum yang didapatkan dari metode ekstraksi sonikasi, soklet, dan tekanan tinggi berturut-turut adalah 99,65% , 96,57% , dan 98,6943%.

Berikut ini merupakan rangkuman penelitian yang pernah dilakukan terhadap famili *Dilleniaceae* dengan menggunakan bermacam-macam metode ekstraksi.



Gambar 2.2. Rangkuman penelitian terhadap famili *Dilleniaceae* dengan berbagai metode ekstraksi

## 2.2. Simpurn (*Dillenia indica* L.)

Simpurn memiliki hierarki taksonomi dari yang tertinggi sampai yang terendah seperti pada Tabel 2.2.

**Tabel 2.2.** Hierarki taksonomi simpurn

<i>Kingdom</i>	<i>Plantae</i>
<i>Subkingdom</i>	<i>Tracheobionta</i>
<i>Division</i>	<i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	<i>Magnoliopsida</i>
<i>Subclass</i>	<i>Dilleniidae</i>
<i>Order</i>	<i>Dilleniales</i>
<i>Family</i>	<i>Dilleniaceae</i>
<i>Genus</i>	<i>Dillenia</i>
<i>Species</i>	<i>Dillenia indica</i> L.

Sumber: wikipedia.org,2008

Tumbuhan ini termasuk ke dalam suku Dilleniaceae yang meliputi 300-an spesies dan 11 genus. Di beberapa tempat simpurn dikenal dengan berbagai nama, seperti sempurn (Sunda), junti (Jawa), Ma tat (Thailand), Wu ya guo (Cina), Biwa modoki (Jepang), dillenia atau *elephant apple* (Inggris), chulta atau hondapara (India), fruta-estrela (Portugis), árvore-da-pataca, árvore-do-dinheiro atau flor-de-abril (Brazil) (ars-grin.gov,2008).

Selain terdapat di kawasan Asia, simpurn juga terdapat di Ekuador, Suriname, serta di negara-negara kepulauan Pasifik, seperti Mikronesia, Polinesia, dan Celadonia Baru (hear.org,2008). Hal ini dikarenakan penyebaran simpurn juga dilakukan manusia. Biji simpurn ditanam di lahan yang subur, di lahan-lahan bekas tebangun ataupun di lahan-lahan kosong pada areal hutan tanaman industri (Prosea,1995).

Simpur merupakan pohon yang selalu berdaun hijau dan memiliki ukuran tinggi pohon sampai dengan 15 meter dan diameter batang mencapai 120 cm (Prosea,1995). Permukaan kulit kayunya halus, namun mengelupas sedikit berwarna cokelat-jingga atau jingga tua. Daunnya memiliki panjang 15-36 cm dengan struktur permukaan bergerigi yang jelas dipengaruhi tulang daun. Bunganya besar dengan diameter 15-20 cm dengan lima mahkota bunga berwarna putih dan sejumlah benang sari berwarna kuning (wikipedia.org,2008). Benang sari terkumpul dalam dua kelompok, yang tersusun di sebelah dalam lebih besar. Buahnya memiliki diameter 5-12 cm dan buah tidak pecah secara sepotong pada saat matang (Prosea,1995).



**Gambar 2.3.** Pohon simpur



**Gambar 2.4.** Bunga dan daun simpur



**Gambar 2.5.** Buah simpur

Buah *Dillenia indica* memiliki rasa asam dan di India umumnya digunakan sebagai bumbu kari dan untuk membuat selai dan agar-agar. Buahnya yang asam dapat ditambahkan gula sehingga dapat dijadikan minuman dingin (*The Wealth of India, 1952*). Buah *Dillenia indica* juga kaya akan nutrisi (Gopalan, Ramasastri, & Balasubramaniam, 1971) dan dapat diproses menjadi produk komersial seperti minuman dan minuman siap saji serta sirup (Saikia & Saikia, 2002) (Abdille,2004).

Selain itu, buah yang mentah dapat dimasak dan dibuat asinan serta secara medis digunakan sebagai obat pencahar/cuci perut dan untuk sakit perut. Sedangkan sari buahnya sebagai minuman pendingin untuk demam dan sebagai obat batuk dengan mencampurkan gula, serta bila digosok dengan air dapat dipakai sebagai sabun dan *shampoo* (Prosea,1995). Sementara itu, kayunya digunakan untuk konstruksi interior dan juga digunakan sebagai kayu bakar. Varietas yang berkayu merah gelap memiliki tingkat kerapatan  $560-650 \text{ kg/m}^3$  dengan kadar air 15%. Tanaman ini juga sering ditanam sebagai hiasan (Prosea,1995).

### 2.3. Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus antioksidan didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil (chem-is-try.org,2008). Secara alamiah, senyawa antioksidan terdapat dalam hampir di semua bahan pangan, terutama yang memiliki lemak atau minyak. Namun, fungsi senyawa tersebut sebagai antioksidan berkurang akibat degradasi kimia ataupun fisika selama proses pengolahan maupun penyimpanan. Oleh karena itu, perlu ditambahkan senyawa antioksidan ke dalam bahan pangan untuk menambah daya tahan bahan pangan sehingga akan lebih awet dan lebih baik kualitasnya. Penambahan antioksidan ini bertujuan untuk mencegah reaksi oksidasi, yang dapat menyebabkan penurunan mutu bahan pangan, seperti bau tengik pada minyak goreng yang merupakan hasil reaksi akhir autooksidasi.

Reaksi autooksidasi merupakan suatu reaksi berantai, di mana inisiator dan propagatornya adalah suatu radikal bebas (Scott,1998). Penambahan antioksidan dimaksudkan untuk memperlambat terjadinya reaksi autooksidasi. Tahapan inisiasi, tahap di mana mulai terbentuk radikal bebas, penambahan antioksidan berfungsi sebagai senyawa yang dapat menyerap sinar UV (*UV absorber*) atau senyawa yang dapat meniadakan aktivitas dari ion logam (*metal deactivator*).

Penambahan antioksidan pada tahap propagasi dapat memutus rantai pembentukan radikal baru. Pada tahap terminasi, penambahan antioksidan dimaksudkan agar tidak terjadi produk baru yang lebih stabil dengan sifat yang sudah berbeda dengan senyawa asalnya. Dengan demikian, penambahan antioksidan dapat berperan pada tahap inisiasi, propagasi ataupun terminasi (Boer,1999).

Secara umum, antioksidan diharapkan memiliki ciri-ciri sebagai berikut (Coppen,1983):

1. Aman dalam penggunaannya
2. Tidak memberikan efek samping yang merugikan terhadap warna, rasa aroma dan nilai gizi pada makanan
3. Efektif pada konsentrasi rendah
4. Tetap stabil pada proses pengolahan produk dan selama penyimpanan makanan
5. Tidak memberikan efek racun dalam jumlah yang berlebihan
6. Tersedia dengan harga yang murah

### **2.3.1. Klasifikasi Antioksidan Berdasarkan Sumber**

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi kelompok, yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami.

#### **1. Antioksidan Sintetik**

Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Penggunaan antioksidan sintetik ini dipicu oleh semakin pesatnya perkembangan industri bahan pangan. Contoh antioksidan sintetik antara lain Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT), propil galat, Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial.

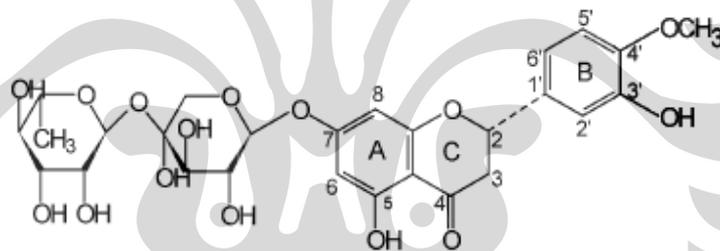
#### **2. Antioksidan Alami**

Antioksidan alami adalah antioksidan hasil ekstraksi bahan alam tumbuhan. Beberapa tumbuhan memiliki kandungan antioksidan. Kandungan antioksidan tersebut berhubungan erat dengan komposisi senyawa kimia yang terdapat di

dalamnya. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah berasal dari tumbuhan, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji, dan serbuk sari. Beberapa contoh antioksidan yang didapatkan dari tumbuhan:

❖ Hesperidin

Hesperidin merupakan senyawa flavon dari kelompok flavonoid. Senyawa ini dapat diisolasi dari kulit buah jeruk, seperti *Citrus aurantium* L., *Citrus sinensis* L, dan *Citrus unshiu* Marco. Penelitian yang pernah dilakukan dengan jus jeruk manis dan jeruk mandarin menunjukkan 22% mengurangi kanker usus dan 29% mengurangi kanker paru-paru (Wilmsen,2005). Senyawa hesperidin bekerja sebagai antioksidan dengan cara menangkap radikal bebas dan kelompok oksigen reaktif, yang berhubungan dengan beberapa kerusakan jaringan dan penyakit seperti kanker dan penuaan.



**Gambar 2.6.** Struktur molekul hesperidin

Sumber: Wilmsen,2005

❖ Asam sinamat

Asam sinamat dan turunannya seperti apigenin, luteolin, turunan trisin, kafein, asam sinapik, dan isomer asam klorogenik dapat mencegah pembentukan senyawa peroksida pada otak tikus (Almeida,2006). Senyawa ini ditemukan dalam batang tebu yang berguna dalam terapi untuk stress oksidatif.

❖ Polifenol

Senyawa polifenol dan turunannya seperti hidrosinamat, asam ester, kaempferol, dan quercetin terdapat di dalam brokoli (Bidchol,2009). Dalam penelitian

menunjukkan bahwa senyawa ini telah dikembangkan untuk pencegahan atau terapi terhadap penyakit-penyakit yang diasosiasikan dengan radikal bebas. Senyawa antioksidan alami polifenol ini adalah multifungsional dan dapat beraksi sebagai (a) pereduksi, (b) penangkap radikal bebas, (c) pengkelat logam, (d) peredam terbentuknya singlet oksigen.

❖ **Tokoferol**

Tokoferol atau dikenal dengan vitamin E dipercaya sebagai sumber antioksidan yang bekerja mencegah lipid peroksidasi dari asam lemak tak jenuh dalam membran sel dan membantu oksidasi vitamin A serta mempertahankan kesuburan. Vitamin E disimpan dalam jaringan adiposa dan dapat diperoleh dari minyak nabati terutama minyak kecambah, gandum, kacang-kacangan, biji-bijian, dan sayuran hijau. Alfa tokoferol ditemukan dalam kulit padi (Zigoneanu,2006). Aktivitas tokoferol sebagai antioksidan disebabkan oleh sifatnya sebagai donor hidrogen kepada radikal bebas dari asam lemak tak jenuh sehingga reaksi berantai dari radikal dapat terhenti.

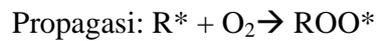
### 2.3.2. Klasifikasi Antioksidan Berdasarkan Mekanisme Kerja

Antioksidan dapat menghambat jalannya reaksi oksidasi melalui beberapa mekanisme, yaitu donor proton, *radical scavenger*, *oxygen quencher*, inhibisi dengan enzim dan sinergis (Scott,1998). Antioksidan bertindak sebagai donor hidrogen di mana hidrogen tersebut akan berikatan dengan radikal bebas dari lemak sehingga membentuk senyawa stabil. Pemberian atom hidrogen ini juga merupakan tahap awal dari mekanisme antioksidan melalui *radical scavenger* (pemerangkap radikal). Radikal baru yang terbentuk akan dapat langsung bergabung dengan radikal-radikal lain membentuk senyawa yang tidak reaktif dan relatif stabil. Beberapa contoh *radical scavenger* adalah tokoferol, asam galat, beta karoten, BHA, dan BHT.

Pada mekanisme *radical scavenger*, asam lemak jika diberi inisiator, misalnya cahaya, panas, enzim atau logam berat, maka akan terjadi tahap reaksi inisiasi membentuk radikal bebas. Reaksi inisiasi pada oksidasi asam lemak:



Radikal bebas ini akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida yang sangat reaktif. Reaksi ini merupakan tahap propagasi, reaksinya:



Radikal-radikal yang terbentuk dapat dideaktifkan dengan jalan mengikatnya dengan senyawa yang dikenal sebagai *radical scavenger*. Pada tahap permulaan, *radical scavenger* akan memberikan atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga dapat menghambat pembentukan radikal peroksida. Penghilangan radikal dengan memberikan senyawa yang merupakan *radical scavenger* akan memutuskan rantai reaksi. Radikal antioksidan yang terbentuk bersifat stabil dan dapat langsung bergabung dengan radikal lain untuk membentuk senyawa yang inert.

Jika radikal peroksi tersebut dibiarkan saja, maka radikal peroksi akan lebih lanjut menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru. Reaksi ini merupakan tahap terminasi, reaksinya:



Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggungjawab atas aroma makanan berlemak.

Berdasarkan mekanisme reaksi yang telah dijelaskan, maka antioksidan dapat digolongkan menjadi dua bagian, yaitu:

### **1. Antioksidan Primer**

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang proses reaksinya terjadi dengan pemutusan rantai radikal bebas yang sangat reaktif, dan diubah menjadi senyawa yang tidak reaktif atau stabil. Antioksidan dapat berperan sebagai donor hidrogen (*chain breaking donor/CB-D*) atau juga berperan sebagai akseptor elektron (*chain breaking acceptor/CB-A*) (Scott,1998). Mekanisme ini terjadi pada tahap propagasi dari reaksi oksidasi.

### **2. Antioksidan Sekunder**

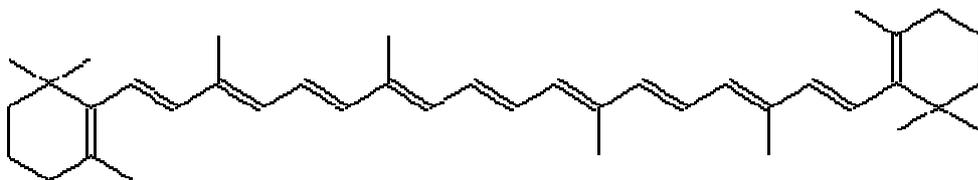
Antioksidan sekunder adalah senyawa yang dapat mengurangi kecepatan reaksi autooksidasi lemak dengan beberapa mekanisme, yaitu mengikat oksigen singlet (*singlet oxygen quencher*) dan menyerap sinar ultraviolet (UV absorber)

sebagai contoh senyawa flavonoid. Mekanisme lainnya adalah sebagai deaktivator dari ion logam (*metal deactivator*), yaitu melalui pembentukan senyawa kompleks. Contohnya adalah asam sitrat dan asam askorbat. Ketiga mekanisme yang disebutkan di atas terjadi pada tahap inisiasi dari reaksi oksidasi (Scott, 1998).

### 2.1.3. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode *Carotene Bleaching*

Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa dalam menghambat terjadinya reaksi oksidasi. Terdapat beberapa metode untuk menentukan aktivitas antioksidan, yaitu DPPH (*2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl*), FRAP (*Ferric reducing/antioxidant power*) dan metode *carotene bleaching*. Metode DPPH digunakan untuk menguji suatu senyawa bertindak sebagai penangkap radikal bebas atau donor hidrogen. Mekanisme metode ini adalah radikal DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui donor hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna dari ungu menjadi kuning (Othman, 2005). Metode FRAP mengukur pengurangan warna pada reaksi antioksidan dengan *ferric tripyridyltriazine* ( $\text{Fe}^{3+}$ /TPTZ) kompleks menghasilkan *ferrous tripyridyltriazine* ( $\text{Fe}^{2+}$ /TPTZ). Reaksi ini berhubungan dengan pemutusan radikal bebas secara paksa dengan memberikan atom hidrogen (Othman, 2005).

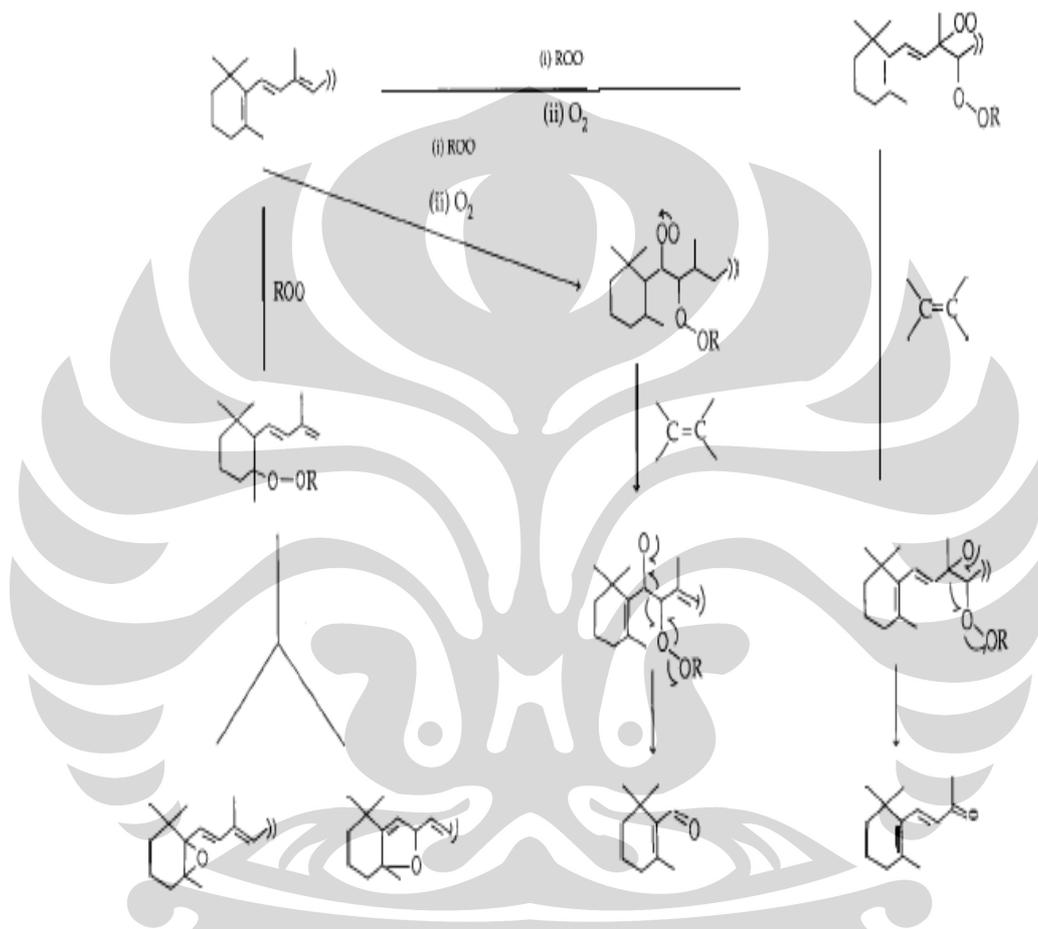
Metode *carotene bleaching* merupakan metode spektrofotometri yang didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah peluruhan warna jingga karoten akibat oksidasi dalam sistem emulsi minyak goreng dan  $\beta$  karoten. Minyak goreng yang teroksidasi selama pemanasan menghasilkan hidroperoksida yang dapat menyerang senyawa karoten yang memiliki banyak ikatan rangkap terkonjugasi seperti pada Gambar 2.7.



**Gambar 2.7.** Struktur molekul senyawa  $\beta$ -karoten

Sumber: chm.bris.ac.uk, 2009

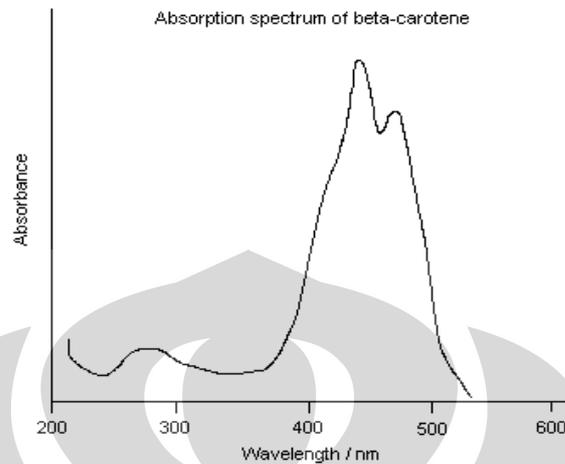
Akibat reaksi antara hidroperoksida dan senyawa karoten, senyawa karoten akan kehilangan ikatan rangkap serta gugus kromofornya sehingga kehilangan warna karakteristiknya. Gambar berikut menunjukkan reaksi antara molekul karoten dengan radikal bebas seperti ROO\*.



**Gambar 2.8.** Mekanisme Reaksi senyawa karoten dengan radikal bebas

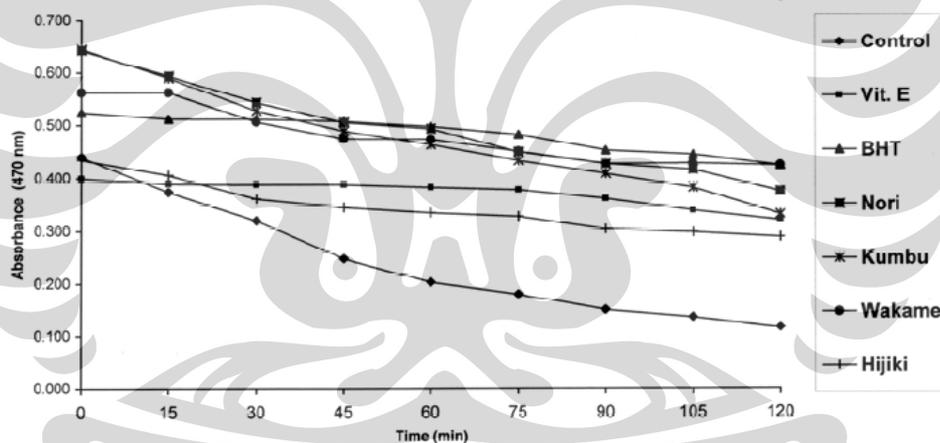
**Sumber:** Burton, 1988

Pengukuran penurunan intensitas warna karoten dilakukan dengan pembacaan absorbansi, seperti pada Gambar 2.9. Spektrum gelombang yang diserap oleh karotenoid paling kuat adalah antara 400-500 nm yang merupakan spektrum hijau/biru. Dengan penambahan antioksidan ke dalam sistem emulsi tersebut, radikal hidroperoksida akan dinetralkan oleh antioksidan.



**Gambar 2.9.** Panjang gelombang optimum yang diserap beta karoten

Sumber: chm.bris.ac.uk,2009



**Gambar 2.10.** Penurunan absorbansi dengan metode *carotene bleaching*

Sumber: Amin Ismail dan Tan Siew Hong,2002

Data absorbansi sampel uji dan kontrol yang didapatkan menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang merupakan persentase pencegahan pemudaran warna jingga pada karoten. Aktivitas antioksidan ekstrak dievaluasi dengan menggunakan persamaan (Jayaprakasha,2001):

$$AA = 100 \left[ 1 - \left( \frac{A_o - A_t}{A_o^0 - A_t^0} \right) \right] \quad (2.1)$$

di mana:  $A_o$  dan  $A_t^0$  = nilai absorbansi yang terukur pada waktu nol inkubasi sampel dan kontrol

$A_t$  dan  $A_t^0$  = nilai absorbansi yang terukur pada waktu 120 menit inkubasi sampel dan kontrol

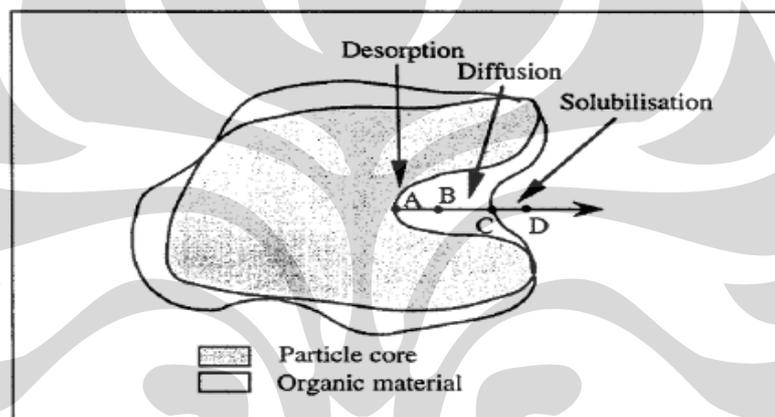
#### 2.4. Ekstraksi Padat-Cair

Ekstraksi merupakan suatu cara yang digunakan untuk operasi yang melibatkan perpindahan senyawa dari suatu padatan atau cairan ke cairan lain yang berfungsi sebagai pelarut. Prinsip dasar ekstraksi adalah berdasarkan kelarutan. Untuk memisahkan zat terlarut yang diinginkan dari fasa padat, maka fasa padat dikontakkan dengan fasa cair. Pada kontak dua fasa tersebut, zat terlarut terdifusi dari fasa padat ke fasa cair sehingga terjadi pemisahan komponen padat.

Proses ekstraksi padat cair memiliki beberapa metode, seperti maserasi, soklet, tekanan tinggi, SFE (*Supercritical Fluid Extraction*), dan MAE (*Microwave-Assisted Extraction*). Metode yang paling konvensional adalah perendaman yang lebih dikenal dengan maserasi. Kata maserasi berasal dari bahasa latin yaitu *maserase* yang artinya merendam. Metode ini dilakukan dengan merendam bahan ke dalam cairan di dalam kontainer tertutup selama beberapa hari disertai pengocokan. Metode soklet memiliki prinsip yang hampir sama dengan distilasi, simplisia dimasukkan ke dalam refluks lalu diberi kalor sehingga uap hasil pemanasan selanjutnya dikondensasi untuk mendapatkan pelarut yang telah mengandung senyawa aktif yang ingin diambil. Kemudian metode SFE merupakan ekstraksi yang memanfaatkan fluida super kritis untuk mengekstrak bahan organik. Fluida superkritis memiliki viskositas rendah dan koefisien difusi yang tinggi, sehingga memudahkan perpindahan massa dari matriks ke pelarut. Metode tekanan tinggi merupakan

penyederhanaan dari metode SFE sehingga proses ekstraksi yang terjadi tidak jauh berbeda dengan SFE.

Model dari proses ekstraksi padat-cair dapat diandaikan dengan sebuah biji yang ditutupi dengan lapisan poros impermiabel organik. Berdasarkan model kinetika Pawliszyn, senyawa yang berada di permukaan inti, diekstrak dalam beberapa langkah, yaitu desorpsi dari permukaan matriks, difusi ke lapisan poros impermeabel organik menuju larutan, dan solubilisasi senyawa ke dalam pelarut (Letellier dan Budzinski,1999). Lebih jelasnya dapat dilihat pada Gambar 2.11.



**Gambar 2.11.** Skema tahapan dalam proses ekstraksi padat-cair  
(AB: desorpsi, BC: difusi, CD: solubilisasi)

**Sumber:** Letellier dan Budzinski,1999

Berikut ini merupakan beberapa faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi padat-cair:

1. Ukuran partikel

Ukuran partikel padat harus dibuat sekecil mungkin untuk mendapatkan kinerja ekstraksi yang lebih tinggi. Semakin kecil ukuran partikel padat maka akan meningkatkan luas permukaan padat sehingga akan meningkatkan luas kontak antara padat dan cair

## 2. Konsentrasi ekstraktan

Untuk mendapatkan persentase ekstraksi yang lebih tinggi dibutuhkan konsentrasi yang lebih besar. Semakin besar konsentrasi maka partikel-partikel ekstraktan yang lebih banyak menarik senyawa yang ingin diekstrak.

## 3. Suhu

Temperatur yang digunakan tidak boleh terlalu rendah dan juga tidak terlalu tinggi. Bila suhu terlalu rendah maka kinerja proses ekstraksi akan turun sebaliknya pada suhu yang terlalu tinggi ekstraksi menurun karena air menguap dan konsentrasi larutan akan naik

## 4. Waktu

Peningkatan waktu akan meningkatkan persentase ekstraksi karena meningkatnya kemungkinan kontak antara partikel cair dengan padat

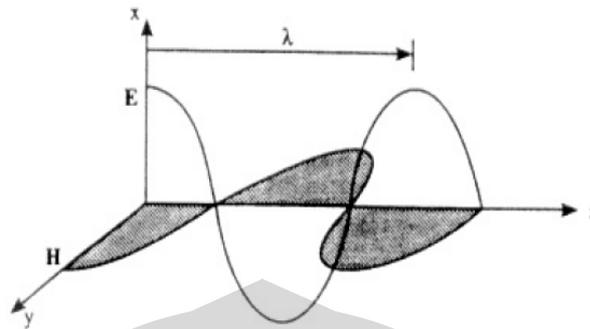
## 5. Kecepatan pengadukan

Kecepatan pengadukan akan mempengaruhi homogenisasi konsentrasi pada ekstraktan. Semakin meningkatnya kecepatan pengadukan maka keadaan larutan makin homogen sehingga persentase ekstraksi akan meningkat.

## **2.5. Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro**

### **2.5.1. Teori Gelombang Mikro**

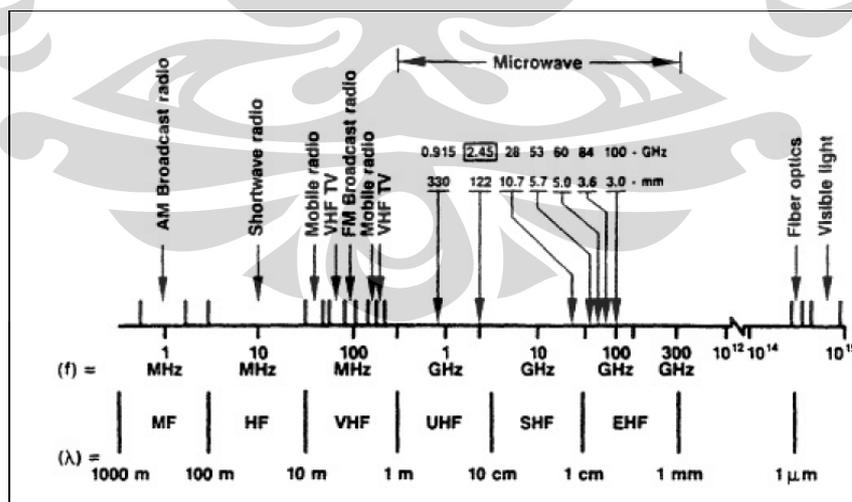
Gelombang mikro merupakan salah satu jenis gelombang elektromagnetik. Gelombang elektromagnetik timbul akibat adanya perubahan medan listrik yang diikuti oleh perubahan medan magnetik secara terus-menerus yang merambat ke segala arah. Medan listrik dan medan magnetik selalu saling tegak lurus dan keduanya tegak lurus terhadap arah perambatan gelombang.



**Gambar 2.12.** Gelombang elektromagnetik, medan listrik E selalu tegak lurus arah medan magnetik H dan keduanya tegak lurus arah rambat gelombang

Sumber: Stein,2004

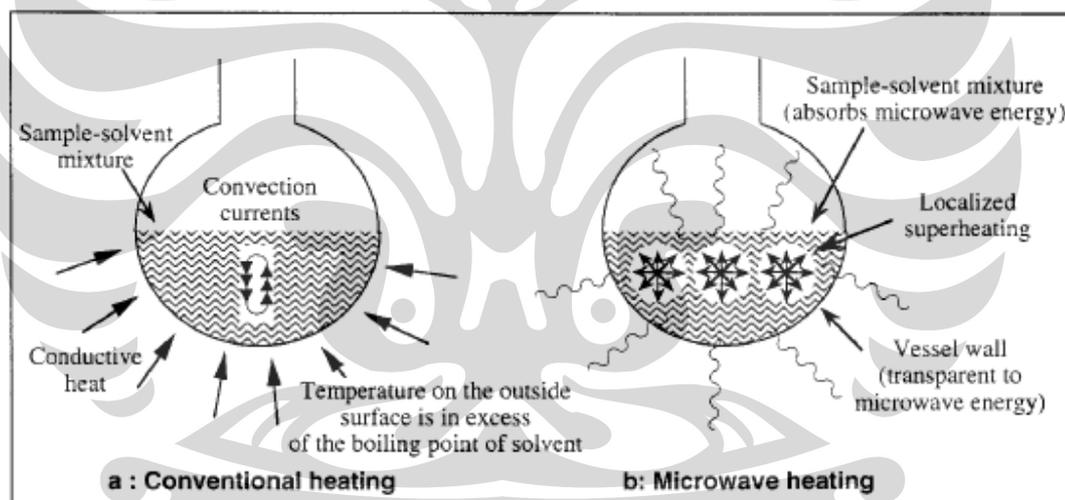
Gelombang mikro memiliki panjang gelombang antara 1 mm sampai dengan 1 m, atau memiliki frekuensi antara 300 megahertz dan 300 gigahertz (Letellier dan Budzinski,1999). Gelombang mikro dengan panjang gelombang 1-25 cm secara luas digunakan untuk radar dan telekomunikasi (Stein,2004). Sedangkan, gelombang mikro dengan frekuensi 2450 MHz atau setara dengan panjang gelombang 12,2 cm digunakan sebagai oven gelombang mikro. Pada frekuensi tersebut gelombang mikro memiliki energi sebesar 0,23 cal/mol (0,94 J/mol) (Letellier dan Budzinski,1999).



**Gambar 2.13.** Spektrum gelombang elektromagnetik

Sumber: Stein,2004

Dalam ilmu pengetahuan modern, gelombang mikro memiliki dua tujuan utama yaitu komunikasi dan sebagai garis vektor energi. Aplikasi selanjutnya gelombang mikro langsung berinteraksi dengan material yang memiliki kemampuan untuk mengubah energi elektromagnetik yang diserapnya menjadi energi panas. Gelombang mikro terbentuk dari dua bidang tegak lurus yang beresilasi, yaitu medan elektrik dan medan magnet yang akan menimbulkan pemanasan (Mandal,2007). Tidak seperti pemanasan konvensional yang bergantung pada peristiwa konduksi-konveksi yang sebagian besar energinya berpindah ke lingkungan, sedangkan pemanasan dengan gelombang mikro terjadi pada target dan selektif. Oleh karena itu, tidak ada panas yang berpindah ke lingkungan ketika pemanasan dengan gelombang mikro terjadi dalam sistem tertutup.



**Gambar 2.14.** Perbedaan antara (a) pemanasan konvensional dan (b) pemanasan dengan gelombang mikro

Sumber: Letellier dan Budzinski, 1999

Efisiensi pemanasan pelarut di bawah gelombang mikro tergantung pada sifat dielektrik bahan yang didefinisikan oleh dua parameter. Pertama adalah konstanta dielektrik ( $\epsilon'$ ) yang menggambarkan kepolaran dari molekul di dalam sebuah bidang elektrik. Kedua adalah *dielectric loss factor* ( $\epsilon''$ ), mengukur efisiensi energi

gelombang mikro yang diserap dengan mengubahnya menjadi panas. Dengan kedua parameter tersebut, maka akan di dapatkan persamaan (Mandal,2007):

$$\tan \delta = \frac{\epsilon'}{\epsilon''} \quad 2.2.$$

di mana  $\delta$  adalah faktor disipasi yang didefinisikan dengan kemampuan dari pelarut untuk menyerap energi gelombang mikro dan memanaskan molekul di sekitarnya.

Air memiliki konstanta dielektrik paling besar dibandingkan pelarut lainnya (Tabel 2.3.). Namun, faktor disipasi air lebih rendah dibandingkan dengan pelarut lain. Sehingga laju penyerapan energi gelombang mikro pada air lebih tinggi dibandingkan laju disipasi panas pada sistem. Peristiwa ini menyebabkan efek *superheating* yang terjadi ketika air berada di dalam matriks. Efek *superheating* yang terpusat pada satu tempat mempunyai efek positif dan negatif, tergantung kepada matriks. Dalam beberapa kasus peristiwa ini meningkatkan difusivitas dari analit ke matriks, sedangkan dalam kasus lainnya pemanasan yang hebat dapat menyebabkan degradasi analit. Untuk mendapatkan distribusi panas yang maksimum melalui matriks, pemilihan pelarut paling tepat yaitu yang memiliki konstanta dielektrik dan faktor disipasi yang besar.

**Tabel 2.3.** Konstanta fisik untuk beberapa pelarut

Pelarut	Konstanta Dielektrik ( $\epsilon'$ )	Loss Factor ( $\epsilon''$ )	$\tan \delta \cdot 10^4$
Air	80	12	1500
Aseton	20,7	11,5	5555
Metanol	23,9	15,2	6400
Etanol	7	1,6	2286
Heksana	1,88	0,00019	0,1
Etil Asetat	6,02	3,2	5316

**Sumber:** Armstrong,1999

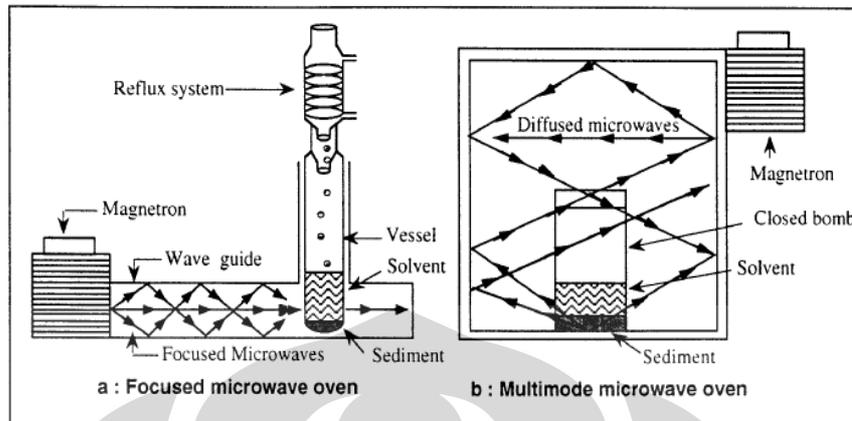
### 2.5.2. Instrumentasi

Saat ini, terdapat dua jenis ekstraktor gelombang mikro yang secara komersial tersedia, yaitu oven sistem vesel tertutup dan oven sistem vesel terbuka. Parameter utama yang dipertimbangkan ketika menggunakan oven sistem vesel tertutup, yaitu pelarut, temperatur, tekanan, daya, dan waktu ekstrak (Armstrong,1999). Ketika bekerja dengan oven sistem vesel tertutup, perlu memperhatikan keselamatan, contohnya kemungkinan terjadinya ledakan. Sedangkan oven sistem vesel terbuka sederhana dan umumnya aman untuk digunakan. Parameter dalam optimasi dibatasi pada pelarut, daya, dan waktu (Armstrong,1999).

Oven sistem vesel tertutup juga dikenal sebagai oven dengan sistem multimode. Radiasi gelombang mikro pada jenis oven ini terjadi secara tidak beraturan sehingga setiap zona di dalam oven terkena radiasi termasuk vesel yang berisi simplisia. Sedangkan oven sistem vesel terbuka juga dikenal dengan oven dengan sistem monomode/terfokus. Radiasi gelombang mikro pada oven jenis ini terfokus pada tempat di mana simplisia berada, sehingga bidang elektrik pada sistem ini lebih kuat dibandingkan sistem sebelumnya (Mandal,2007).

Empat komponen utama dari oven gelombang mikro, baik oven dengan sistem multimode ataupun oven dengan sistem monomode, yaitu (Mandal,2007):

- Generator gelombang mikro adalah magnetron yang berfungsi membangkitkan energi gelombang mikro.
- Pemandu gelombang digunakan untuk menyebarkan gelombang mikro dari sumber ke rongga mikro gelombang.
- Aplikator/vesel di mana simplisia ditempatkan.
- Sirkulator yang memungkinkan gelombang mikro untuk berpindah hanya dalam arah maju.

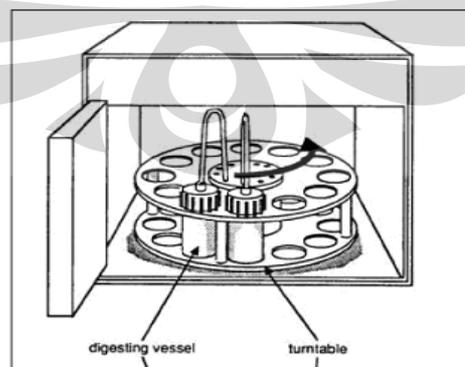


**Gambar 2.15.** Skema oven gelombang mikro (a) oven gelombang mikro terfokus dan (b) oven gelombang mikro multimode

Sumber: Mandal,2007

Kelebihan menggunakan oven gelombang mikro multimode (Mandal,2007):

- Tingkat kerugian dari substansi yang mudah menguap selama radiasi gelombang mikro dapat dihindari.
- Dibutuhkan pelarut yang sedikit karena tidak terjadi evaporasi, tidak dibutuhkan penambahan pelarut untuk menjaga volume pelarut tetap konstan.
- Tidak perlu penanganan uap yang dihasilkan di dalam vesel yang berpotensi membahayakan peneliti.
- Dapat mengekstrak 12-24 simplisia dalam waktu yang bersamaan.



**Gambar 2.16.** Oven gelombang mikro multimode dengan 12 vesel

Sumber: Armstrong,1999

Kekurangan menggunakan oven gelombang mikro multimode:

- a) Harus diperhatikan faktor keselamatan karena tekanan di dalam oven tinggi yang mempunyai risiko ledakan.
- b) Terbatasnya kuantitas simplisia yang dapat diekstrak (0,5-1 gram/vesel).
- c) Besarnya daya yang dibutuhkan karena gelombang mikro tidak terfokus.
- d) Vesel harus didinginkan terlebih dahulu di dalam oven, hal ini untuk menghindari terjadinya penguapan dari bahan yang mudah menguap.

Kelebihan menggunakan oven gelombang mikro terfokus:

- a) Meningkatkan faktor keselamatan dari pengoperasian alat pada tekanan atmosfer.
- b) Dapat menambahkan reagen selama penanganan.
- c) Proses pemanasan lebih efisien karena semua energi terfokus pada satu simplisia.
- d) Kapasitas simplisia lebih besar dapat mencapai 10 gram.

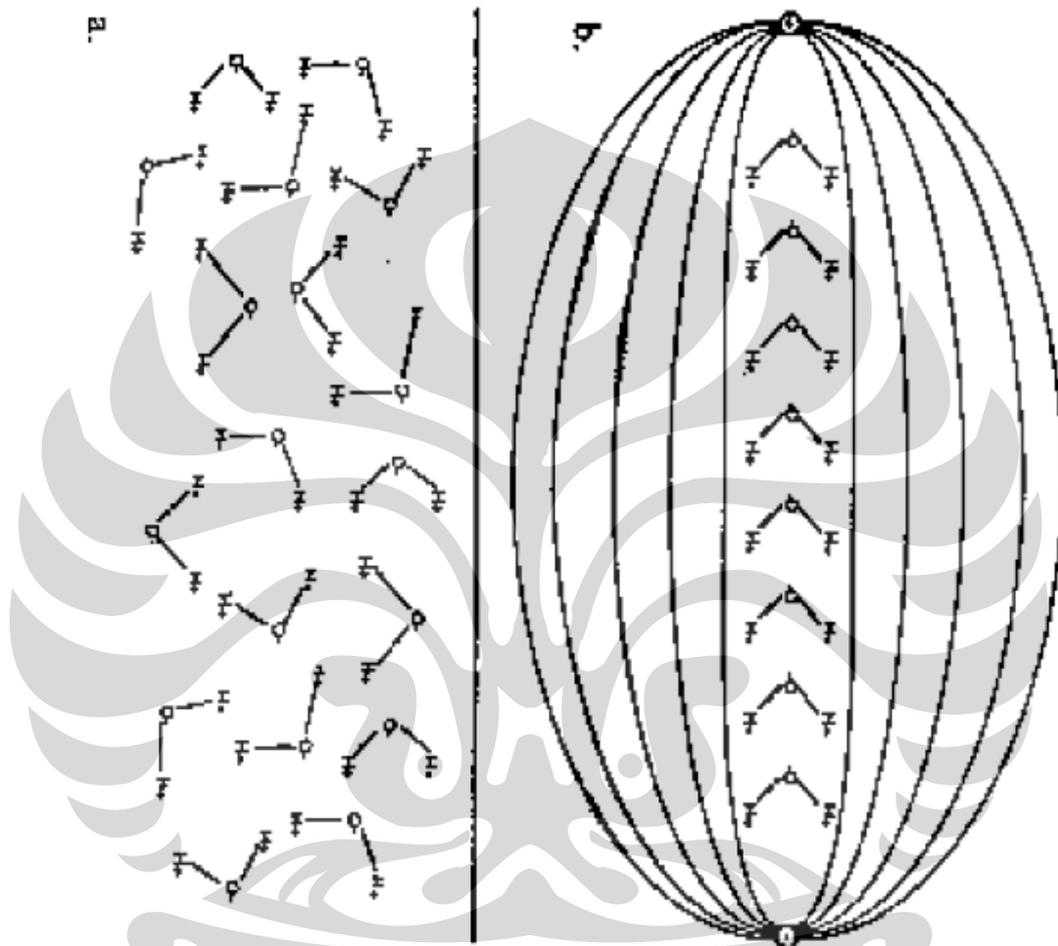
Kekurangan menggunakan oven gelombang mikro terfokus:

- a) Simplisia yang dapat diekstrak hanya sekali selama satu kali proses.
- b) Waktu operasi yang dibutuhkan biasanya lebih lama dibandingkan dengan menggunakan oven gelombang mikro multimode.

#### **2.4.3. Prinsip Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro**

Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro merupakan proses ekstraksi yang memanfaatkan energi yang ditimbulkan oleh gelombang mikro dalam bentuk radiasi non-ionisasi elektromagnetik (Armstrong,1999). Energi ini dapat menyebabkan pergerakan molekul dengan migrasi ion dan rotasi dari dua kutub, tetapi tidak mengubah struktur molekulnya. Pada umumnya ekstraksi menggunakan pelarut polar sebagai pengekstraknya, tetapi ekstraksi juga dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut nonpolar, seperti heksana dan toluena dengan cara

menambahkan aditif polar ataupun serat yang dapat menyerap gelombang mikro (Armstrong,1999). Proses rotasi dari molekul dapat dilihat pada gambar berikut:



**Gambar 2.17.** (a) molekul air sebelum adanya medan listrik dan  
(b) molekul air akan berjajar akibat medan listrik

**Sumber:** Armstrong,1999

Pada awalnya, molekul air tidak beraturan, namun dengan adanya medan listrik yang ditimbulkan gelombang mikro mengakibatkan molekul air menjadi berjajar. Perubahan medan listrik yang cepat pada gelombang mikro mengakibatkan terjadinya perputaran dipol yang berarti penyusunan kembali dipol. Peristiwa ini

terjadi berulang kali sehingga menimbulkan energi dalam bentuk panas akibat rotasi molekul tersebut (Mandal,2007).

Laju pemanasan pelarut pada ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro tergantung pada tiga faktor, yaitu konduksi ionik, viskositas, dan *dielectric loss factor*. Ketika menggunakan pelarut organik keterlibatan konduksi ionik dapat diabaikan. Namun, kebanyakan matriks dari hasil pertanian mengandung sedikit spesi ion seperti garam. Laju pemanasan secara umum meningkat akibat konsentrasi ion juga meningkat di dalam simplisia. Viskositas simplisia mempengaruhi kemampuan untuk menyerap energi gelombang mikro karena mempengaruhi perputaran molekul. Ketika molekul “dalam posisi terkunci” karena viskositas molekul, pergerakan molekul berkurang sehingga membuat molekul sulit untuk tersusun dalam bidang gelombang mikro. Hal ini akan menurunkan pemanasan akibat perputaran dua kutub. Pada subbab sebelumnya telah dijelaskan bahwa faktor disipasi ( $\delta$ ) akan mempengaruhi laju pemanasan. Dengan faktor disipasi yang besar, maka lebih cepat panas yang akan dipindahkan ke pelarut.

**Tabel 2.4.** Laju pemanasan dan viskositas pelarut

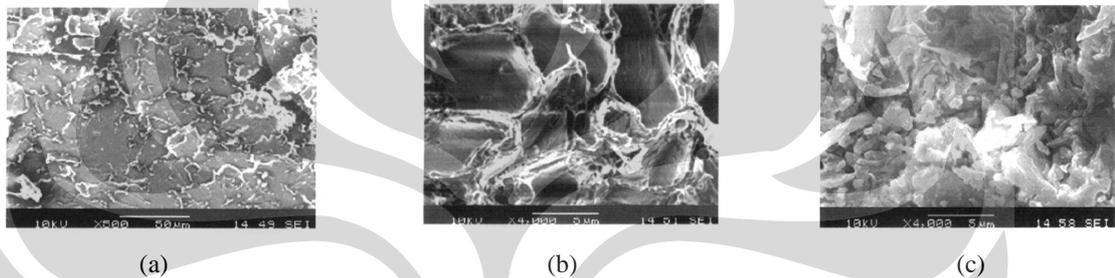
<b>Pelarut</b>	<b>Titik didih (°C)</b>	<b>Viskositas (cP,25°C)</b>	<b>Laju pemanasan (K/det)</b>
Air	100	0,89	1,01
Aseton	56	0,3	2,2
Metanol	65	0,54	2,11
Etanol	78	0,69	1,2
Heksana	69	0,3	0,05
Etil Asetat	77	0,43	1,78

**Sumber:** Armstrong,1999

Faktor-faktor yang mendominasi ekstraksi analit dari matriks dengan bantuan gelombang mikro adalah kelarutan analit dalam pelarut, kinetika perpindahan massa analit dari matriks menjadi larutan, dan kekuatan interaksi dari analit/matriks. Untuk simplisia dengan komposisi yang seragam dan terbatasnya porositas, laju ekstraksi

ditentukan oleh difusi analit menuju permukaan partikel matriks. Temperatur yang lebih tinggi akan meningkatkan laju difusi dan mempercepat laju ekstraksi. Hal ini dikarenakan panas yang terjadi dapat mengubah sel tanaman yang dapat dibedakan secara fisik, seperti pada terong ungu (Qing,2005).

Pemanasan akibat gelombang mikro menyebabkan dinding sel hancur. Sehingga analit yang akan diekstrak keluar dari sel dan dapat berdifusi ke pelarut. Pada Gambar 2.18. dapat dilihat perbedaan dinding sel terong ungu sebelum dan setelah pemanasan oleh gelombang mikro.



**Gambar 2.18.** Struktur dinding sel terong ungu (a) sebelum pemanasan, (b) setelah pemanasan 3 menit, dan (c) setelah pemanasan 15 menit

Sumber: Qing,2005

#### 2.4.4. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro

Beberapa faktor yang mempengaruhi ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro (Mandal,2007):

##### 1. Sifat dan Volume Pelarut

Pemilihan pelarut yang tepat merupakan dasar untuk proses ekstraksi yang optimum. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro berdasarkan pada kelarutan senyawa ekstrak, interaksi antara pelarut dan simplisia, serta sifat pelarut dalam menyerap gelombang mikro. Pemilihan pelarut seharusnya berdasarkan selektivitas yang tinggi dari komponen matriks yang tidak diinginkan.

Pada dasarnya ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dapat menggunakan pelarut seperti yang digunakan pada metode soklet. Tapi, tidak dapat diambil kesimpulan bahwa penggunaan pelarut yang lebih optimum pada ekstraksi

dengan gelombang mikro dibandingkan dengan soklet. Contohnya, ekstraksi jahe dengan menggunakan pelarut heksana yang memberikan ekstrak lebih sedikit pada ekstraksi dengan gelombang mikro dibandingkan dengan soklet. Di sisi lain, penggunaan etanol sebagai pelarut akan memberikan hasil ekstrak yang lebih banyak pada ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dibanding dengan soklet. Perbedaan ini dikarenakan perbedaan sifat dielektrik dari kedua pelarut.

Seperti penjelasan sebelumnya, ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro akan lebih baik menggunakan pelarut yang memiliki sifat dielektrik. Heksana merupakan molekul non polar, yang menyebabkan tidak timbulnya panas saat penyorotan gelombang mikro, sedangkan etanol memiliki kapasitas yang baik dalam menyerap gelombang mikro yang dapat menimbulkan panas dan dapat mempercepat proses ekstraksi. Oleh karena itu, sifat dielektrik pelarut mempunyai peranan penting terhadap pemanasan dalam proses ekstraksi.

Volume pelarut dalam mengekstrak juga merupakan faktor yang penting. Volume pelarut harus cukup untuk memastikan seluruh matriks tumbuhan tercelup ke dalam pelarut selama waktu radiasi. Secara umum rasio yang lebih besar dari volume pelarut dengan simplisia kemungkinan efektif pada metode soklet. Hal ini berbeda dengan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro. Penggunaan pelarut tergantung pada jenis simplisia, misalkan ekstraksi pada pectin yang menggunakan volume pelarut lebih sedikit untuk mendapatkan ekstrak yang lebih banyak ketika pH 1. Hal ini jelas berbeda saat mengekstrak flavonoid dari *S. Medusa* yang mendapatkan hasil lebih baik seiring meningkatnya rasio cairan/padatan dari 25:1 (mL/g) hingga 100:1 (mL/g). Namun, dengan banyaknya pelarut yang digunakan berarti semakin banyak energi dan waktu yang diperlukan untuk mengkondensasi larutan ekstraksi dan proses pemurnian. Maka ditemukanlah rasio cairan/padatan yang cocok untuk mendapatkan produk flavonoid yang besar dari kultur sel kering, yaitu 50:1 (mL/g). Namun, dalam banyak aplikasi rasio 10:1 (mL/mg) hingga 20:1 (ml/mg) merupakan rasio yang optimum. Efisiensi pemanasan pelarut di bawah gelombang mikro juga harus diperhatikan karena evaporasi pelarut akan bergantung pada seberapa cepatnya pemanasan di bawah gelombang mikro.

## 2. Waktu Ekstraksi

Waktu merupakan parameter lain yang mempengaruhi banyaknya analit yang diekstrak. Secara umum, dengan peningkatan waktu ekstraksi maka jumlah analit yang diekstrak meningkat, meskipun terdapat risiko kemungkinan terjadinya degradasi. Seringkali waktu 15-20 menit cukup untuk mengekstrak. Sebuah studi optimasi waktu ekstraksi penting karena waktu ekstraksi bervariasi dengan penggunaan bagian tanaman yang berbeda. Waktu radiasi juga mempengaruhi sifat dielektrik pelarut. Pelarut seperti air, etanol, dan methanol bisa meningkatkan panas secara cepat pada penyorotan gelombang mikro yang lebih lama. Dengan demikian berisiko terhadap zat yang termolabil.

## 3. Daya Oven Gelombang Mikro

Daya oven gelombang mikro dan waktu radiasi adalah dua faktor yang mempengaruhi satu sama lain. Misalkan saat ekstraksi ginseng di bawah kondisi yang berbeda. Pada umumnya, efisiensi ekstraksi meningkat dengan menaikkan daya oven gelombang mikro dari 30 hingga 150 W. Selama waktu ekstraksi yang singkat (1 dan 2 menit), *recovery* meningkat dengan dinaikkannya daya oven gelombang mikro. Ekstraksi dengan daya yang tinggi dan waktu yang lama menimbulkan risiko termal degradasi. Pada daya yang lebih tinggi akan mengurangi kemurnian ekstrak. Hal ini dikarenakan dengan suhu yang lebih tinggi, ketika daya dijaga lebih tinggi, dinding sel akan cepat rusak. Akibatnya, analit yang diinginkan bersama zat pengotor keluar menuju pelarut. Untuk menghindari hal ini, maka daya yang lebih rendah digunakan agar dinding sel rusak perlahan sehingga memungkinkan ekstraksi yang selektif. Dengan oven sistem vesel tertutup, pemilihan daya tergantung pada jumlah simplisia yang diekstrak selama sekali ekstraksi, dalam sekali ekstraksi dapat mencapai 12 vesel. Daya harus dipilih dengan benar untuk menghindari suhu yang berlebih, yang dapat menyebabkan larutan terdegradasi dan tekanan berlebih di dalam vesel.

#### 4. Karakteristik Matriks

Ukuran partikel dari material yang diekstrak umumnya berkisar 100  $\mu\text{m}$  – 2 mm. Bubuk halus dapat mempercepat ekstraksi dengan menjadikan luas permukaan yang lebih besar sehingga terjadi kontak yang lebih baik antara matriks tanaman dan pelarut. Partikel yang lebih halus juga akan meningkatkan penetrasi yang lebih dalam dari gelombang mikro. Kekurangan jika menggunakan partikel yang lebih halus adalah sulitnya pemisahan matriks dari larutan.

#### 5. Suhu

Daya oven gelombang mikro dan suhu sangat berhubungan satu sama lain dan perlunya perhatian yang khusus jika menggunakan oven sistem vesel tertutup. Dalam oven sistem vesel tertutup, suhu dapat mencapai di atas titik didih pelarut. Hal ini dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

**Tabel 2.5.** Suhu titik didih dan suhu di bawah gelombang mikro pada 175 psig dari berbagai pelarut

<b>Pelarut</b>	<b>Titik didih (<math>^{\circ}\text{C}</math>)</b>	<b>Suhu pada 175 psig</b>
Diklorometana	39,8	140
Aseton	56,2	164
Metanol	64,7	151
Heksana	68,7	-
Etanol	78,3	164
Asetonitril	81,6	194
2-propanol	82,4	145
Petrol eter	35-80	-
Aseton/Heksana (1:1)	52	156

Keterangan : - = tidak terjadi pemanasan

**Sumber:** Letellier dan Budzinski, 1999

Tabel 2.5. menunjukkan suhu yang dicapai oleh pelarut menggunakan gelombang mikro berada di bawah kondisi bertekanan. Peningkatan suhu ini

berhubungan dengan naiknya tekanan dalam sistem tertutup, hal ini dapat meningkatkan faktor perhatian untuk keselamatan.

## 2.5. Analisis Varians (ANOVA)

Analisis varians (ANOVA) merupakan suatu teknik statistik yang memungkinkan untuk mengetahui apakah dua atau lebih *mean* populasi akan bernilai sama dengan menggunakan data dari sampel-sampel masing-masing populasi (Harinaldi,2005). Analisis varians juga dapat digunakan dalam pengujian hipotesis sampel ganda untuk *mean*, namun biasanya analisis varians lebih efektif digunakan untuk menguji tiga atau lebih populasi. Tentunya jumlah variabel yang berkaitan dengan sampel bisa satu atau lebih.

### 2.5.1. Asumsi Dasar Analisis Varians

Analisis varians akan menjadi teknik statistik yang valid untuk diterapkan dengan menggunakan asumsi-asumsi sebagai berikut (Harinaldi,2005):

1. Populasi yang dikaji memiliki distribusi normal.
2. Pengambilan sampel dilakukan secara acak dan setiap sampel independen/tidak terikat sampel yang lain.
3. Populasi-populasi di mana nilai sampel-sampel diperoleh memiliki nilai varians populasi yang sama

Jadi asumsi ketiga dapat dinyatakan sebagai:

$$\sigma_1^2 = \sigma_2^2 = \sigma_3^2 = \dots = \sigma_k^2$$

di mana:

k = jumlah populasi

### 2.5.2. Prosedur Uji ANOVA

Secara umum prosedur uji ANOVA mengikuti prosedur uji hipotesis yang terdiri dari tujuh langkah, yaitu (Harinaldi,2005):

### 1. Pernyataan hipotesis nol dan hipotesis alternatif

Dalam uji ANOVA, hipotesis nolnya adalah sampel-sampel yang diambil dari populasi-populasi saling independen yang memiliki *mean* sama. Dengan kata lain, hipotesis nol dan hipotesis alternatifnya adalah:

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \dots = \mu_k$$

$H_1$  : tidak seluruh *mean* populasi sama

di mana:  $k$  = jumlah seluruh *mean* populasi sama

Jika hipotesis alternatif diterima maka dapat disimpulkan bahwa sekurangnya terdapat satu *mean* populasi yang berbeda dari populasi yang lainnya. Namun, analisis varians tidak dapat mengungkapkan dengan pasti berapa banyak populasi yang *mean*-nya berbeda dan analisis varians juga tidak bisa menjelaskan *mean* dari populasi yang mana yang berbeda.

### 2. Pemilihan tingkat kepentingan.

Biasanya digunakan tingkat kepentingan 0,01 atau 0,05

### 3. Penentuan distribusi pengujian yang digunakan:

Dalam uji ANOVA yang digunakan adalah distribusi *F*. Nilai-nilai dalam distribusi disajikan dalam bentuk tabel (terdapat pada bagian lampiran), yang dapat ditentukan dengan mengetahui:

- tingkat kepentingan.
- Derajat kebebasan, ( $df_{num}$ ) yang digunakan sebagai pembilang dalam rasio uji adalah  $df_{num} = k - 1$   
Di mana:  $k$  = jumlah populasi/sampel
- Derajat kebebasan, ( $df_{den}$ ) yang digunakan sebagai penyebut dalam rasio uji adalah  $df_{den} = T - k$

Di mana:

$T$  = jumlah total anggota sampel di seluruh populasi yang diuji

$$= n_1 + n_2 + n_3 + \dots + n_k$$

$k$  = jumlah populasi/sampel

#### 4. Pendefinisian daerah penolakan atau daerah kritis:

Daerah penerimaan dan penolakan dibatasi oleh nilai kritis  $F_{cr}$

#### 5. Pernyataan aturan keputusan (*decision rules*):

Tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$  jika  $RU_F > F_{cr}$ . Jika sebaliknya terima  $H_0$ .

#### 6. Rasio uji:

$$RU_F = F_{test} = \left( \frac{SS_{treat}}{SS_{err}} \right) \quad (2.3)$$

di mana, perhitungan untuk bagian pembilang dan penyebut untuk rumus ini:

$$\text{➤ } SS_{treat} = \frac{(\sum x_{ij}A)^2 + (\sum x_{ij}B)^2 + (\sum x_{ij}C)^2 + \dots - \left( \frac{GT^2}{T} \right)}{k} \quad (2.4)$$

$$\text{➤ } SS_{err} = SS_{tot} - SS_{treat} \quad (2.5)$$

$$\text{➤ } SS_{tot} = \sum (x_{ij})^2 - \left( \frac{GT^2}{T} \right) \quad (2.6)$$

di mana:

$x_{ij}$  = data pada setiap sampel uji

$k$  = jumlah sampel

$GT$  = jumlah semua sampel uji

$T$  = jumlah total anggota sampel di seluruh populasi yang diuji

#### 7. Pengambilan keputusan secara statistik:

Jika nilai rasio uji berada pada daerah penerimaan maka hipotesis nol diterima, sedangkan jika berada pada daerah penolakan maka hipotesis nol ditolak.

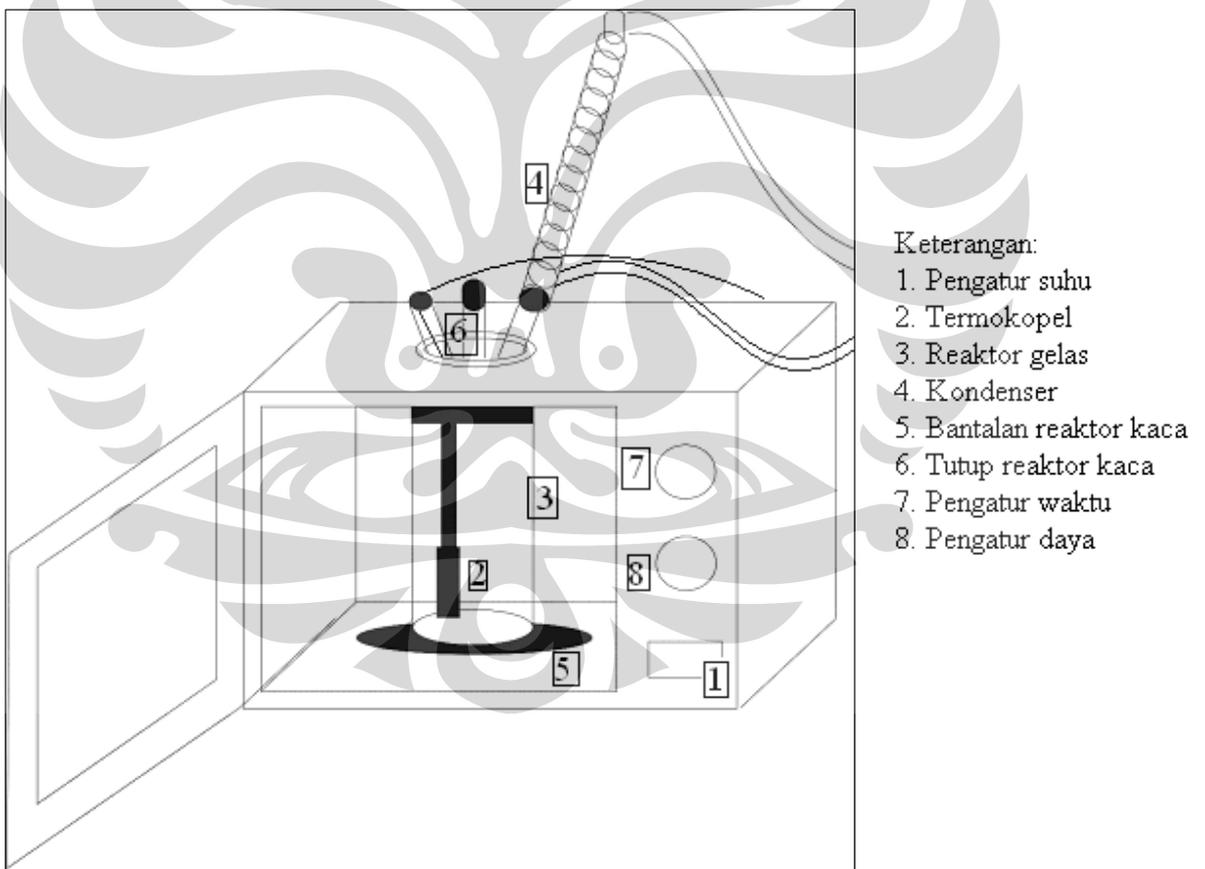
## BAB III METODE PENELITIAN

### 3.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini terbagi menjadi dua tahap, yaitu modifikasi alat dan penelitian laboratorium.

#### 3.1.1. Modifikasi Alat

Penelitian akan diawali dengan memodifikasi oven gelombang mikro domestik. Oven gelombang mikro yang telah dimodifikasi dapat dilihat pada Gambar 3.1.

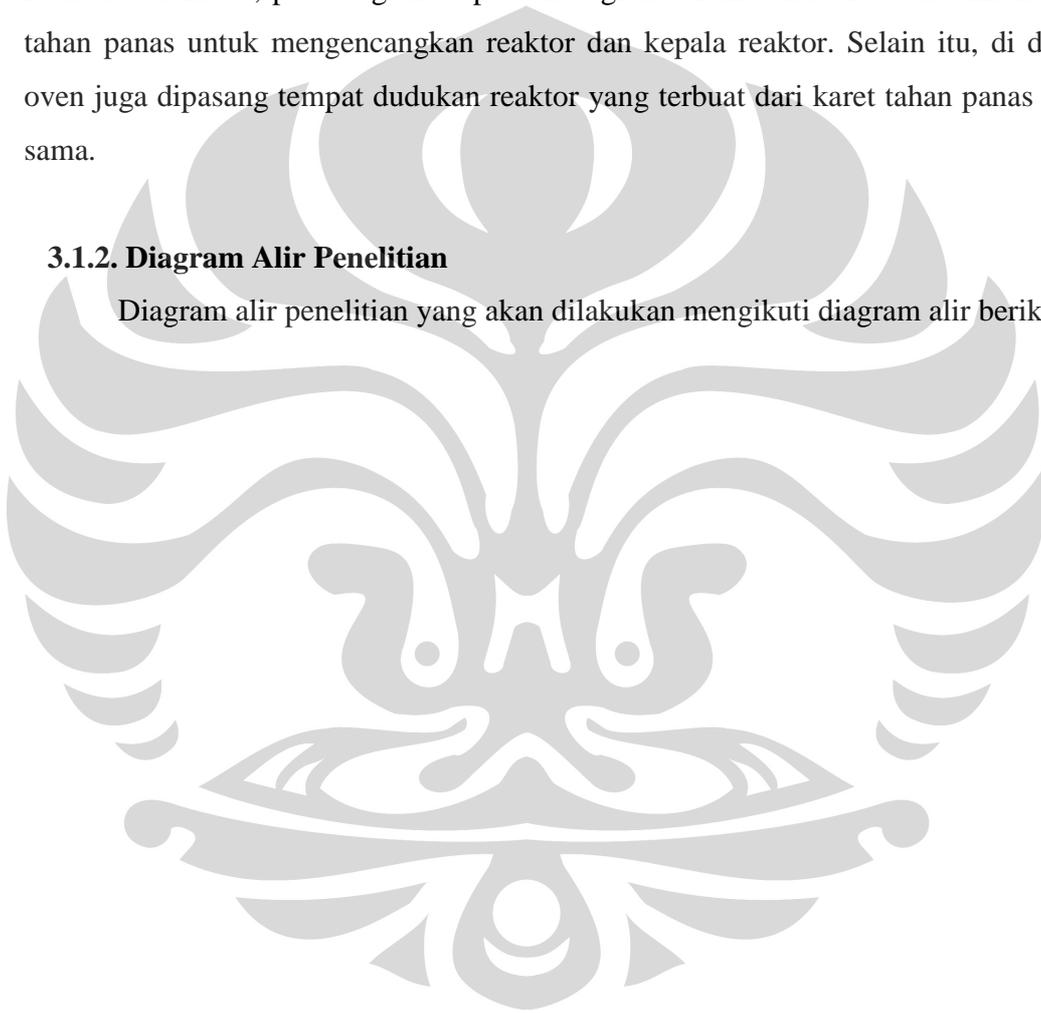


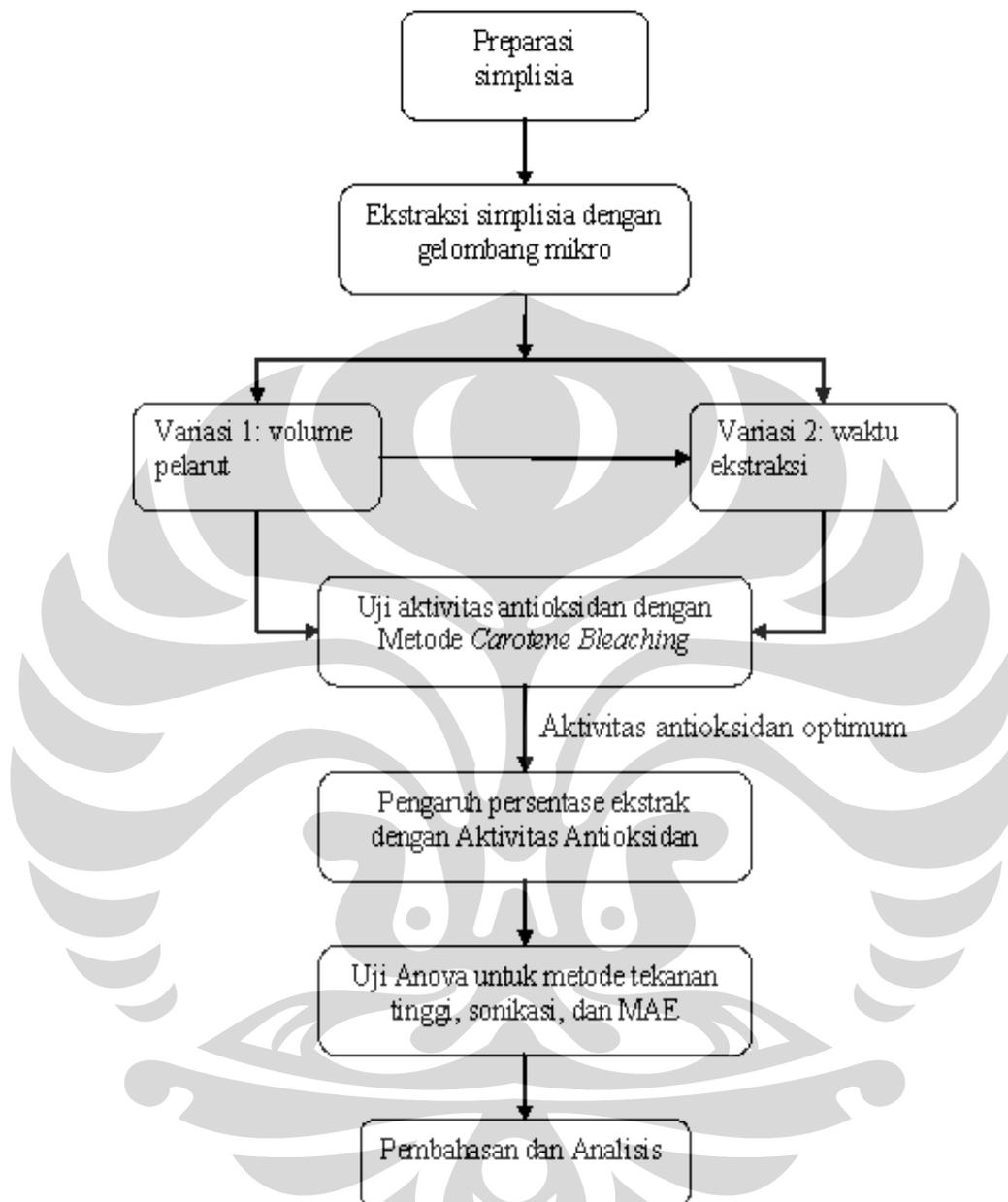
**Gambar 3.1.** Peralatan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro

Oven gelombang mikro yang digunakan merupakan oven domestik yang biasa digunakan di rumah. Kemudian dilakukan modifikasi terhadap oven tersebut dengan cara membuat lubang di atap oven dan menyambungkannya dengan termokopel. Lubang tersebut digunakan untuk memasang kondenser dan menghubungkan termokopel dengan kabel. Reaktor kaca dan kondenser dihubungkan dengan kepala reaktor. Selain itu, pada bagian atap oven bagian dalam dan luar ditambahkan karet tahan panas untuk mengencangkan reaktor dan kepala reaktor. Selain itu, di dalam oven juga dipasang tempat duduk reaktor yang terbuat dari karet tahan panas yang sama.

### **3.1.2. Diagram Alir Penelitian**

Diagram alir penelitian yang akan dilakukan mengikuti diagram alir berikut:





Gambar 3.2. Diagram alir penelitian

Pada Gambar 3.2. dapat dilihat bahwa penelitian akan diawali dengan preparasi simplisia. Kemudian, simplisia akan diekstrak dengan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro. Ekstraksi dilakukan dengan dua variasi, yaitu volume pelarut etanol dan waktu ekstraksi. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dari

pelarutnya, dengan menggunakan penangas air dan *hot plate*. Setelah itu, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari hasil ekstrak tersebut.

### 3.2. Alat dan Bahan

Peralatan dan bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian terdiri dari berbagai macam. Jenis dan fungsinya dapat dilihat pada Tabel 3.1. dan 3.2.

#### 3.2.1. Peralatan

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini beserta kegunaannya dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Peralatan dan kegunaannya

No.	Alat	Kegunaan
1.	<i>Blender</i>	Menghaluskan daun
2.	<i>Sieve analyzer</i>	Mengayak simplisia daun
3.	Timbangan digital	Menimbang bahan
4.	Oven gelombang mikro	Tempat terjadinya pemanasan
5.	Kondenser	Mendinginkan uap pelarut
6.	Bejana	Tempat terjadinya ekstraksi
7.	<i>Hot plate</i>	Menguapkan pelarut
8.	Spektrofotometer	Mengukur absorbansi komponen yang akan diuji aktivitas antioksidannya
9.	Oven	Menginkubasi simplisia
10.	Lemari pendingin	Menyimpan dan mengawetkan bahan
11.	<i>Plastic wrap</i>	Penutup wadah agar terlindung dari kontaminan
12.	Kertas saring <i>Whatman</i>	Menyaring daun simpur dari ekstrak
13.	Alat-alat gelas, seperti: cawan petri, gelas piala, pipet, gelas ukur, <i>beaker glass</i> , dan lain-lain	Wadah bahan, alat bantu penelitian

#### 3.2.2. Bahan-bahan

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini beserta kegunaannya dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Bahan-bahan dan kegunaannya

No.	Bahan	Kegunaan
1.	Daun <i>Dillenia indica</i>	Sebagai simplisia
2.	Etanol	Sebagai pelarut
3.	$\beta$ -Carotene	Digunakan untuk uji antioksidan
4.	Kloroform	Pelarut dalam uji aktivitas antioksidan
5.	Minyak goreng	Media uji aktivitas antioksidan

### 3.3. Preparasi Simplisia

Simplisia merupakan daun *Dillenia indica* yang diambil dari pekarangan Departemen Teknik Kimia FTUI Depok. Kemudian, simplisia dikeringkan selama 14 hari pada suhu ruang sampai daun dapat dihancurkan dengan tangan. Untuk menghancurkan simplisia digunakan *blender* sampai berbentuk serbuk. Simplisia yang sudah menjadi serbuk, kemudian disaring dengan *sieve analyzer* untuk mendapatkan ukuran serbuk yang seragam, yaitu 0,25-0,8 mm. Simplisia disimpan di tempat tertutup pada suhu ruang.

### 3.4. Prosedur Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro

Langkah-langkah yang dilakukan dalam prosedur ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro adalah sebagai berikut:

#### 1. Variasi Volume Pelarut

1. Memasukkan simplisia yang telah dipreparasi ke reaktor kaca sebanyak 2 gram
2. Memasukkan pelarut etanol ke labu sebanyak 100 mL, dan divariasikan volume pelarut etanol dari 100 mL, 80 mL, 60 mL, 40 mL, dan 20 mL.
3. Menyusun alat sesuai dengan Gambar 3.2.
4. Menyalakan oven dengan mengeset pada suhu 78°C.
5. Mengeset waktu ekstraksi pada waktu 20 menit

6. Setelah selesai ekstraksi, simplisia dibiarkan dingin di dalam oven selama 5 menit.
7. Memisahkan ekstrak dari pelarutnya dengan menggunakan penangas air dan *hot plate*
8. Ekstrak yang diperoleh ditutup rapat dan dibungkus *plastic wrap*.
9. Setiap ekstrak diuji aktivitas antioksidan dan didapatkan volume pelarut yang optimum.

## 2. Variasi Waktu Ekstraksi

1. Memasukkan simplisia yang telah dipreparasi ke labu sebanyak 2 gram
2. Memasukkan pelarut etanol dengan volume yang optimum
3. Menyusun alat sesuai dengan Gambar 3.2.
4. Menyalakan oven dengan mengeset suhu pada 78°C.
5. Mengeset waktu ekstraksi pada waktu 20 menit dan divariasikan waktu ekstraksi dari 20 menit, 16 menit, 12 menit, 8 menit, sampai 4 menit.
6. Setelah selesai ekstraksi, simplisia dibiarkan dingin di dalam oven selama 5 menit.
7. Memisahkan ekstrak dari pelarutnya dengan menggunakan penangas air dan *hot plate*
8. Ekstrak yang diperoleh ditutup rapat dan dibungkus *plastic wrap*.
9. Setiap simplisia diuji aktivitas antioksidan dan didapatkan waktu ekstraksi yang optimum

### 3.5. Prosedur Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode *Carotene Bleaching*

Langkah-langkah yang dilakukan dalam uji aktivitas antioksidan dengan metode *Carotene Bleaching* adalah sebagai berikut:

1. Sebanyak 0,2 mg  $\beta$ -Keroten dilarutkan ke dalam 20 mL kloroform.
2. Mencampurkan 4 mL larutan tersebut ke dalam 0,2 gr minyak goreng curah.

3. Campuran diencerkan dengan menggunakan etanol-kloroform dengan perbandingan 3:2 sampai dengan 100 mL.
4. Melarutkan ekstrak dalam campuran ini sebanyak 5% dari jumlah minyak yang ditambahkan dan menginkubasinya pada suhu 80°C.
5. Mengukur absorbansi simplisia dan *blank* (kontrol negatif) dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang  $\lambda = 453$  nm pada waktu 0, 15, 30, 60, 75, 90, 105, dan 120 menit.
6. Menentukan konsentrasi karoten akhir berdasarkan kurva kalibrasi.

### **3.6. Prosedur Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode *Carotene Bleaching* Berdasarkan Variasi Penambahan Persentase Berat Ekstrak**

Setelah mendapatkan volume pelarut dan waktu ekstraksi yang optimum, maka dilakukan variasi persentase berat ekstrak, sebagai berikut:

1. Sebanyak 0,2 mg  $\beta$ -Karoten dilarutkan ke dalam 20 mL kloroform.
2. Mencampurkan 4 mL larutan tersebut ke dalam 0,2 gr minyak goreng curah.
3. Campuran diencerkan dengan menggunakan etanol-kloroform dengan perbandingan 3:2 sampai dengan 100 mL.
4. Melarutkan ekstrak dalam campuran ini sebanyak 5% dari jumlah minyak yang ditambahkan dan menginkubasinya pada suhu 80°C.
5. Mengukur absorbansi simplisia dan *blank* (kontrol negatif) dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang  $\lambda = 453$  nm pada waktu 0, 15, 30, 60, 75, 90, 105, dan 120 menit.
6. Menentukan konsentrasi karoten akhir berdasarkan kurva kalibrasi.
7. Mengulangi prosedur yang sama untuk berat ekstrak sejumlah 10% dan 15% dari jumlah minyak yang ditambahkan.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada bab ini, akan dipaparkan mengenai analisis dan prosedur kerja beserta data hasil penelitian yang telah diperoleh.

#### **4.1. Modifikasi Oven Microwave**

Modifikasi oven microwave dengan menambahkan refluks dilakukan untuk mengurangi risiko terjadinya ledakan. Hal ini dikarenakan sistem berada di tekanan atmosferik dan uap yang mudah terbakar tidak memenuhi oven *microwave*. Modifikasi oven *microwave* telah dilakukan oleh beberapa peneliti dalam melakukan proses ekstraksi, seperti yang dilakukan oleh Qing dalam proses ekstraksi polisakarida yang terkandung di dalam *Solanum nigrum* (Qing,2005). Oven *microwave* jenis WP650D dengan daya keluaran 650 W secara mekanik dimodifikasi agar sesuai dengan sistem refluks yang memungkinkan ekstraksi bekerja pada tekanan atmosferik.

Pada penelitian ini, oven *microwave* yang dipakai adalah oven *microwave* domestik yang biasa digunakan dalam proses pemanasan makanan. Pemilihan ini dikarenakan oven *microwave* domestik lebih murah dibandingkan menggunakan ekstraktor *microwave*. Oven *microwave* yang digunakan bermerk Panasonic dengan daya maksimal 800 watt dan frekuensi 2450 MHz. Sebelum dimulainya penelitian, maka dilakukan modifikasi oven *microwave* yang merupakan peralatan utama dalam proses ekstraksi. Tampilan modifikasi oven *microwave* dapat dilihat pada Gambar 4.1.



**Gambar 4.1.** Alat ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro

#### **4.1.1. Reaktor Kaca dan Tutup Reaktor**

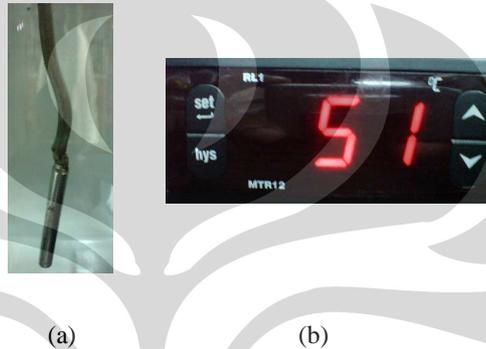
Reaktor kaca dibuat tahan panas dan bening agar gelombang mikro dapat menembus sehingga dapat menimbulkan panas pada bahan-bahan tertentu. Tutup reaktor berfungsi untuk menghubungkan reaktor dengan kondenser dan termokopel. Selain itu, tutup ini juga berfungsi agar uap pelarut yang menguap dapat langsung didinginkan oleh kondenser dan uap yang terkondensasi dapat kembali lagi ke reaktor.



**Gambar 4.2.** Reaktor kaca dan tutup reaktor

#### 4.1.2. Temperatur Kontrol

Alat ini berfungsi untuk menjaga suhu proses ekstraksi konstan berkisar 70 °C. Pengaturan suhu ini bertujuan untuk menghindari terjadinya degradasi ekstrak akibat suhu yang terlalu tinggi. Jika suhu di dalam reaktor lebih dari 70 °C, maka gelombang mikro berhenti terpancar dan setelah suhu berada di bawah 70 °C, maka gelombang mikro akan kembali terpancar. Suhu di dalam reaktor terbaca di pengukur suhu digital yang berada di bagian depan oven gelombang mikro.



**Gambar 4.3.** (a) termokopel dan (b) pengatur suhu digital

#### 4.1.3. Kondenser

Alat ini berfungsi untuk mengkondensasikan uap pelarut agar proses ekstraksi berlangsung efektif. Selain itu, kondenser membuat tekanan di dalam reaktor sama dengan tekanan atmosfer.



**Gambar 4.4.** Kondenser

#### 4.1.4. Karet Tahan Panas

Karet tahan panas ini berguna sebagai bantalan reaktor dan penyekat untuk atap oven gelombang mikro yang dilubangi. Pemilihan karet tahan panas karena merupakan bahan yang tidak panas jika disinari gelombang mikro. Penggunaan

bantalan reaktor untuk memastikan agar reaktor tidak bergerak saat proses ekstraksi. Sedangkan penyekat pada atap oven berguna untuk mengencangkan reaktor dan kepala reaktor.



**Gambar 4.5.** (a) alas reaktor kaca dan (b) penyekat pada atap oven

## 4.2. Analisis Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan meliputi preparasi sampel daun *Dillenia indica*, ekstraksi dengan metode bantuan gelombang mikro, dan uji aktivitas antioksidan dengan metode *carotene bleaching*.

### 4.2.1. Preparasi Sampel Daun *Dillenia indica*

Sampel pada penelitian ini adalah daun dari pohon *Dillenia indica* yang tumbuh di halaman Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Setelah dipetik, daun simpur dibersihkan dengan air agar kontaminan pengotor daun seperti debu yang menempel tidak terikut dalam proses selanjutnya. Setelah dicuci bersih daun dikeringkan pada suhu kamar dan tidak terkena langsung cahaya matahari agar daun tidak rusak dan membusuk. Pengeringan daun ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam sel daun. Daun dikeringkan sampai daun benar-benar dapat dihancurkan dengan tangan, oleh karena itulah daun dikeringkan selama 14 hari dalam keadaan terawasi.

Kemudian untuk memudahkan penghancuran daun digunakan *blender*. Proses penghancuran ini akan lebih cepat dan mendapatkan ukuran daun yang lebih kecil.

Proses selanjutnya ialah pengayakan daun dengan *sieve analyzer*. Proses ini dilakukan untuk menyeragamkan ukuran daun yang akan diekstrak. Diameter yang digunakan adalah 0,25-0,6 mm. Dengan mengubah fisik daun menjadi lebih kecil merupakan salah satu upaya untuk memperluas permukaan kontak antara daun dengan pelarut sehingga perpindahan massa senyawa dari daun ke pelarut akan semakin besar pula. Daun yang telah dipreparasi ini disimpan dalam wadah tertutup agar terlindung dari kontaminan

#### **4.2.2. Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro**

Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro merupakan proses ekstraksi yang memanfaatkan energi yang ditimbulkan oleh gelombang mikro dalam bentuk radiasi non-ionisasi elektromagnetik (Armstrong,1999). Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol karena tidak bersifat racun dan lebih aman dibandingkan menggunakan aseton, metanol, dan pelarut organik lainnya (Othman,2005). Selain itu, dalam proses ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro diperlukan pelarut polar agar timbul panas yang disebabkan oleh pergerakan molekul dengan migrasi ion dan rotasi dari dua kutubnya (Letellier dan Budzinski,1999).

Proses ekstraksi ini menggunakan gelombang mikro dengan frekuensi 2.450 MHz atau setara dengan panjang gelombang 12,2 cm. Pada frekuensi tersebut gelombang mikro memiliki energi sebesar 0,23 cal/mol (0,94 J/mol) (Letellier dan Budzinski,1999). Ekstraksi dilakukan dengan memvariasikan dua variabel, yaitu volume pelarut dan waktu ekstraksi. Variabel ekstraksi yang pertama dilakukan adalah volume pelarut (20, 40, 60, 80, dan 100 mL etanol) dengan berat daun 2 gram dan waktu ekstraksi 20 menit. Selanjutnya dengan volume pelarut optimum dilakukan variasi waktu (4, 8, 12, 16, dan 20 menit).

Proses ekstraksi terjadi di dalam reaktor kaca yang disinari gelombang mikro. Reaktor kaca dibuat bening agar gelombang mikro dapat tembus sehingga dapat kontak dengan pelarut. Selama penyinaran gelombang mikro, molekul-molekul etanol akan berpindah-pindah tempat yang menyebabkan tabrakan antar molekul. Tabrakan molekul yang beruntun ini akan menimbulkan energi dan kemudian suhunya

meningkat (Letellier dan Budzinski,1999). Panas yang ditimbulkan ini akan menghancurkan dinding sel daun sehingga akan membantu perpindahan massa senyawa bioaktif yang akan diekstrak dari padatan ke etanol.

Walaupun daun yang digunakan kering, tapi masih ada sedikit air yang terkandung dalam sel daun yang akan menjadi target pemanasan gelombang mikro. Ketika air di dalam sel suhunya meningkat akibat efek gelombang mikro, air akan menguap dan menghasilkan tekanan yang besar hingga dinding sel mengembang. Tekanan yang timbul akan mendorong dinding sel, merentangkannya dan menghancurkannya (Mandal,dkk,2007). Sehingga senyawa bioaktif yang terkandung dalam sel daun akan terlarut dengan mudah ke pelarut etanol.

Setelah proses ekstraksi, simplisia dipisahkan dari padatan (sisa daun) dengan menggunakan kertas saring. Filtrat ini merupakan larutan yang mengandung etanol dan senyawa bioaktif. Filtrat yang didapatkan berwarna hijau tua. Setelah pemisahan daun dan filtrat, maka dilakukan penguapan pelarut etanol dari ekstrak dengan menggunakan *water bath* pada suhu 40-50 °C. Suhu pemanasan ini dijaga suhunya agar senyawa bioaktif yang terkandung dalam filtrat tidak terdegradasi dan tetap memiliki kemampuannya sebagai antioksidan. Ekstrak yang didapatkan berupa pasta berwarna hijau.

#### **4.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode *Carotene Bleaching***

Pada tahun 1932, Monaghan dan Schmitt membuktikan bahwa beta karoten dapat mencegah oksidasi dari asam linoleat (Burton,1989). Hal ini dikarenakan beta karoten akan langsung bereaksi dengan radikal peroksida yang terbentuk akibat terjadinya oksidasi asam linoleat. Reaksi antara beta karoten dan radikal peroksida dapat secara langsung dibuktikan dengan melihat pemudaran warna jingga karoten. Hal ini dikarenakan radikal peroksida akan menyerang ikatan rangkap terkonjugasi dari beta karoten yang bertanggung jawab atas warna jingga karoten. Sejak saat itulah, metode *carotene bleaching* banyak diaplikasikan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan. Penelitian-penelitian yang menggunakan metode *carotene bleaching* untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan diantaranya untuk menentukan aktivitas

antioksidan yang terkandung di biji coklat (Othman,2005) dan untuk mengevaluasi efek antioksidan pada ekstrak polisakarida pada *Lycium barbarum* (Li dan Zhou,2007).

Metode *carotene bleaching* merupakan metode untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan berdasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah peluruhan warna jingga karoten akibat oksidasi dalam sistem emulsi minyak dan karoten. Dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan metode *carotene bleaching* digunakan bahan-bahan utama, seperti beta karoten sebagai indikator aktivitas antioksidan, minyak goreng sebagai sumber radikal bebas, dan senyawa antioksidan ekstrak daun simpur penghambat reaksi oksidasi.

Minyak goreng digunakan sebagai senyawa yang teroksidasi karena memiliki banyak ikatan tidak jenuh. Ikatan rangkap yang terputus dari minyak goreng akan menghasilkan radikal bebas yang dapat menyerang ikatan rangkap terkonjugasi dari senyawa karotenoid. Sedangkan senyawa antioksidan dianalogikan dengan sampel yang diuji. Sampel uji dilarutkan dengan etanol dan konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dari tiap sampel ke dalam sistem emulsi minyak goreng dan beta karoten adalah sebesar 5% dari minyak yang ditambahkan. Penambahan sebanyak ini dilakukan karena sampel uji belum melalui proses pemurnian, sehingga dengan penggunaan konsentrasi tersebut antioksidan dapat mencegah reaksi oksidasi yang terdapat dalam sistem emulsi minyak goreng dan beta karoten.

Hasil sampel uji dibandingkan dengan kontrol negatif yang selanjutnya disebut *blank* yaitu sistem emulsi minyak goreng dan beta karoten yang tidak mengandung antioksidan dan kontrol positif yaitu sistem emulsi minyak goreng dan beta karoten yang mengandung antioksidan sintetis BHT. Pengambilan data kontrol positif tidak dilakukan dalam penelitian ini karena sudah pernah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Sistem emulsi tersebut akan melalui proses pemanasan dalam oven pada suhu 80 °C, karena pada suhu tersebut dianggap minyak goreng telah teroksidasi secara termal. Akibat pemanasan, minyak akan menghasilkan radikal bebas dan radikal peroksida (hidroperoksida) yang akan menyerang ikatan rangkap terkonjugasi yang banyak pada senyawa beta karoten. Ikatan rangkap terkonjugasi ini

yang memberikan warna jingga pada beta karoten (chm.bris.ac.uk,2009). Karena senyawa beta karoten banyak kehilangan ikatan rangkap, maka senyawa beta karoten akan mengalami peluruhan atau pemucatan warna yang ditandai dengan menurunnya nilai absorbansi seiring dengan semakin lamanya pemanasan.

Dalam sistem minyak goreng-beta karoten, antioksidan berperan dalam menghambat peluruhan warna jingga karoten. Dengan kata lain senyawa antioksidan akan menghambat proses oksidasi dari minyak goreng dan beta karoten selama terjadi pemanasan pada sistem emulsi tersebut. Senyawa antioksidan akan berikatan dengan radikal bebas yang terbentuk pada tahap awal reaksi akibat inisiator panas, untuk mencegah reaksi lebih lanjut antara radikal bebas dengan oksigen yang dapat menghasilkan radikal peroksida yang sangat reaktif. Untuk selanjutnya, antioksidan juga berfungsi untuk menetralkan radikal peroksida dengan melepaskan atom hidrogen sehingga radikal yang terbentuk selama proses oksidasi tersebut akan terstabilkan akibat berikatan dengan atom hidrogen yang berasal dari senyawa antioksidan yang terdapat dalam sampel uji (Othman,2005).

Hasil dari uji aktivitas sampel variasi volume yang memberikan nilai aktivitas antioksidan terbesar akan digunakan untuk variasi berikutnya, yaitu dengan variasi waktu ekstraksi dengan volume pelarut optimum. Aktivitas antioksidan diuji dengan mengukur absorbansi dari sampel dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 453 nm. Pemilihan panjang gelombang ini karena merupakan spektrum panjang gelombang yang paling kuat diserap oleh karotenoid berada pada rentang panjang gelombang 400-500 nm (chm.bris.ac.uk,2009).

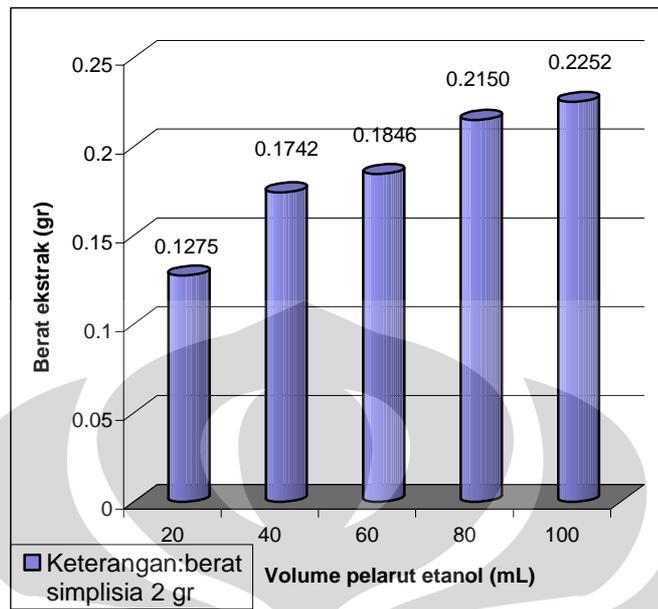
### **4.3. Hasil dan Analisis**

Pada sub bab ini akan dibahas hasil dari penelitian yang telah dilakukan beserta analisisnya.

#### **4.3.1. Berat Ekstrak**

##### **❖ Variasi Volume Pelarut Etanol**

Hasil ekstraksi pada variasi volume pelarut dapat dilihat pada gambar berikut ini.

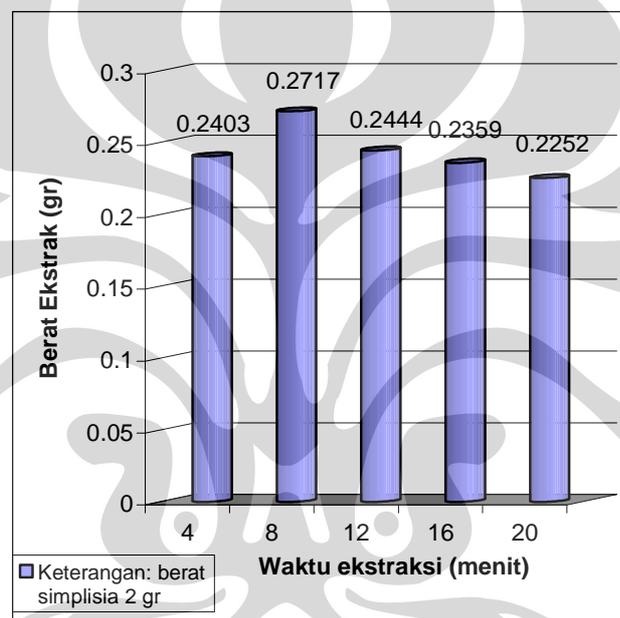


**Gambar 4.5.** Berat ekstrak yang dihasilkan dengan variasi volume pelarut etanol

Dari Gambar 4.5. dapat disimpulkan bahwa berat ekstrak cenderung semakin meningkat dengan semakin banyaknya pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi. Hal ini disebabkan dengan semakin banyak volume pelarut, maka kontak antara serbuk daun dengan etanol akan semakin besar. Sehingga senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun akan lebih cepat berpindah dari dalam sel daun ke pelarut. Pada variasi volume ini dapat disimpulkan bahwa dari 2 gram daun yang diekstrak dengan 100 mL pelarut etanol, maka didapatkan berat ekstrak yang optimum yaitu dengan rasio antara pelarut dan daun 100:2 (mL/gr). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Gao untuk mengekstrak senyawa flavonoid dari *Saussurea medusa* diketahui bahwa dengan meningkatnya rasio antara pelarut/padatan dari 25:1 (mL/gr) sampai dengan 100:1 (mL/gr) akan meningkatkan jumlah ekstrak (Mandal,2007). Hal tersebut juga sama dengan hasil yang didapatkan dari penelitian ini, di mana rasio pelarut/padatan dari 20:2 (mL/gr) sampai dengan 100:2 (mL/gr) akan meningkatkan jumlah ekstrak yang didapatkan.

#### ❖ Variasi Waktu Ekstraksi

Variasi waktu ekstraksi yang dilakukan adalah 4, 8, 12, 16, dan 20 menit dengan menggunakan volume pelarut yang sama, yaitu 100 mL. Pemilihan waktu ekstraksi ini berdasarkan pada waktu yang biasa digunakan dalam ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dari waktu beberapa detik sampai beberapa menit (15-20 menit) (Mandal,2007). Berat ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi dengan variasi waktu ekstraksi terangkum dalam grafik berikut.



**Gambar 4.6.** Berat Ekstrak yang dihasilkan dengan variasi waktu ekstraksi

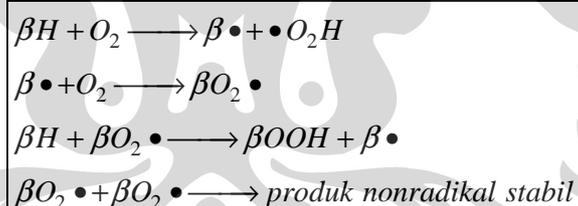
Pada Gambar 4.6. diperoleh bahwa dengan waktu 8 menit menghasilkan ekstrak yang paling banyak dibandingkan dengan waktu ekstraksi yang lain. Hal ini tentu sangat berbeda dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya, seperti tekanan tinggi dan sonikasi di mana semakin lama waktu ekstraksi maka semakin banyak ekstrak yang didapatkan. Penurunan berat ekstrak ini dikarenakan dengan penyinaran gelombang mikro yang terlalu lama akan mengakibatkan senyawa bioaktif terdegradasi (Mandal,2007). Hal ini juga dipengaruhi oleh sifat dielektrik etanol, yang akan cepat panas seiring lamanya waktu penyinaran gelombang mikro dan oleh

sebab itulah sangat berisiko untuk senyawa aktif yang termolabil (Mandal,2007). Dalam penelitian Kerem untuk mengekstrak saponin dari buncis maka dapat diketahui bahwa dengan waktu ekstraksi 20 menit akan didapatkan *yield* yang maksimal dibandingkan dengan waktu ekstraksi 40 menit (Kerem,2005). Hasil yang sama juga ditunjukkan dalam mengekstrak artemisinin, di mana waktu 12 menit merupakan waktu yang optimum untuk mendapatkan *yield*. Dengan waktu yang lebih lama dari 12 menit *yield* akan berkurang, akibat senyawa yang diekstrak terdegradasi oleh panas (Mandal,2007).

#### 4.3.2. Penentuan Laju Degradasi Beta Karoten

Dalam sistem emulsi minyak goreng-beta karoten, beta karoten mengalami pemutusan ikatan rangkap terkonjugasi oleh dua sebab, yaitu teroksidasi dan bereaksi dengan radikal peroksida yang berasal dari oksidasi minyak goreng. Mekanisme reaksi dapat dilihat sebagai berikut:

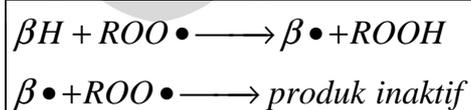
##### ❖ Oksidasi Beta Karoten



**Gambar 4.7.** Reaksi oksidasi beta karoten

Sumber: Takahashi,1999

##### ❖ Reaksi Beta Karoten dengan Radikal Peroksida

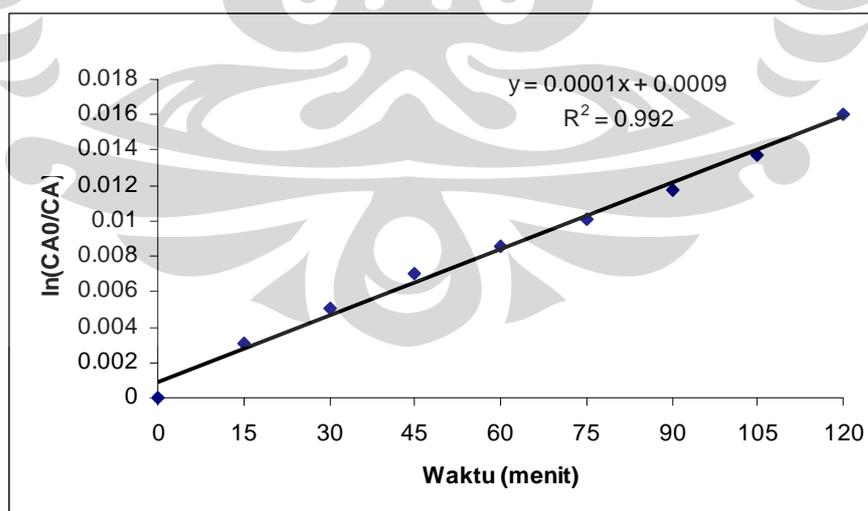


**Gambar 4.8.** Reaksi beta karoten dengan radikal peroksida

Sumber: Burton,1988

Kemampuan antioksidan dalam menghambat terjadinya reaksi oksidasi dapat dilihat dari kemampuannya memperlambat peluruhan warna jingga pada sistem emulsi minyak goreng-beta karoten. Oleh karena itulah perlu diketahui laju degradasi yang merupakan laju oksidasi beta karoten yang menyebabkan peluruhan warna beta karoten. Laju degradasi beta karoten ini tergantung dengan aktivitas antioksidan ekstrak. Ada hubungan antara laju degradasi beta karoten dengan peluruhan warna beta karoten, di mana ekstrak dengan laju degradasi beta karoten paling rendah menunjukkan aktivitas antioksidan yang paling tinggi (Othman,2005).

Untuk menentukan laju oksidasi beta karoten banyak peneliti yang menggunakan model kinetika sederhana orde satu (Takahashi,1999). Dengan data penurunan absorbansi, maka dapat diketahui konsentrasi beta karoten yang tersisa setiap waktunya. Kemudian dengan metode integral dibuat plot antara konsentrasi dan waktu untuk mendukung pernyataan tersebut. Misalkan,  $C_{A0}$  merupakan konsentrasi beta karoten pada waktu 0 dan  $C_A$  merupakan konsentrasi beta karoten pada waktu t, maka dapat dibuat plot antara  $\ln(C_{A0}/C_A)$  dengan waktu. Plot yang dibuat diambil dari salah satu data uji, yaitu pada waktu ekstraksi 8 menit dengan volume pelarut etanol 100 mL.



**Gambar 4.9.** Grafik orde satu reaksi degradasi beta karoten (variasi waktu ekstraksi 8 menit dan volume pelarut etanol 100 mL)

Dari Gambar 4.9. maka terlihat bahwa plot antara  $\ln (C_{A0}/C_A)$  dengan waktu menunjukkan garis lurus atau linear, sehingga reaksi oksidasi beta karoten dapat dianggap orde satu. Asumsi yang digunakan untuk mendukung hal tersebut adalah minyak goreng dan oksigen yang terdapat dalam sistem berlebih, sehingga hanya sedikit radikal peroksida yang bereaksi dengan beta karoten dan antioksidan (Takada,2006). Oleh karena itu, mekanisme reaksi oksidasi beta karoten dapat disederhanakan menjadi:



Dari reaksi tersebut, maka dapat diketahui laju degradasi beta karoten:

$$\begin{aligned} -r_{\beta H} &= k_1 C_{\beta H} \\ -\frac{dC_{\beta H}}{dt} &= k_1 C_{\beta H} \end{aligned} \quad (4.2)$$

Dari persamaan tersebut, maka laju degradasi dapat dicari dengan persamaan:

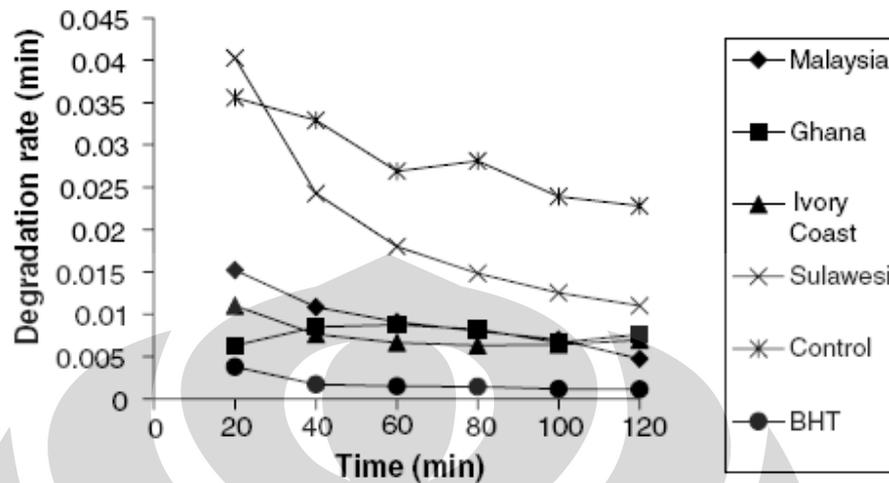
$$\text{Laju deg radasi} = \ln \frac{C_{A0}}{C_A} \times \frac{1}{t} \quad (4.3)$$

di mana:  $C_{A0}$  = konsentrasi awal beta karoten

$C_A$  = konsentrasi beta karoten pada waktu t

t = waktu inkubasi (menit)

Pemanasan yang semakin lama dari sistem emulsi minyak- beta karoten akan menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi pada sistem tersebut sehingga dapat dihitung laju degradasi dengan persamaan (4.3). Reaksi oksidasi beta karoten ditunjukkan dengan pemucatan warna jingga karoten. Pengukuran laju degradasi sampel juga dilakukan pada penelitian tentang penentuan kapasitas antioksidan biji cokelat (Othman,2005). Hasil laju degradasi beta karoten pada penelitian Othman dapat dilihat pada gambar berikut.

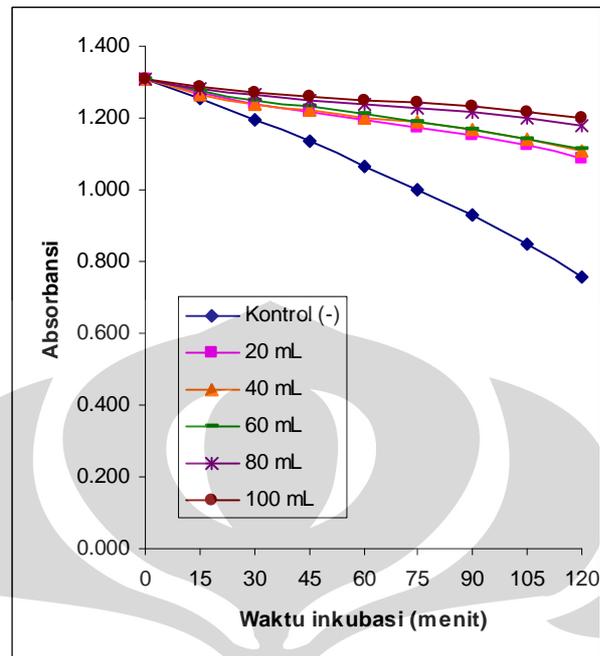


**Gambar 4.10.** Laju degradasi ekstrak biji coklat (ekstrak etanol) dengan metode *carotene bleaching*

Sumber: Othman, 2005

#### 4.3.3. Pengaruh Volume Pelarut Etanol dalam Proses Ekstraksi Daun Simpur terhadap Aktivitas Antioksidan

Absorbansi setiap sampel menunjukkan penurunan dengan semakin lamanya waktu pemanasan. Penurunan absorbansi menunjukkan ikatan rangkap beta karoten diserang oleh radikal peroksida yang berasal dari oksidasi minyak goreng. Penurunan absorbansi sampel yang ditambahkan dengan ekstrak daun yang mengandung senyawa bioaktif tidak sejauh dengan sampel tanpa penambahan ekstrak (kontrol negatif). Penurunan absorbansi antar sampel uji, baik yang ditambahkan ekstrak ataupun tidak dapat dilihat pada grafik berikut.

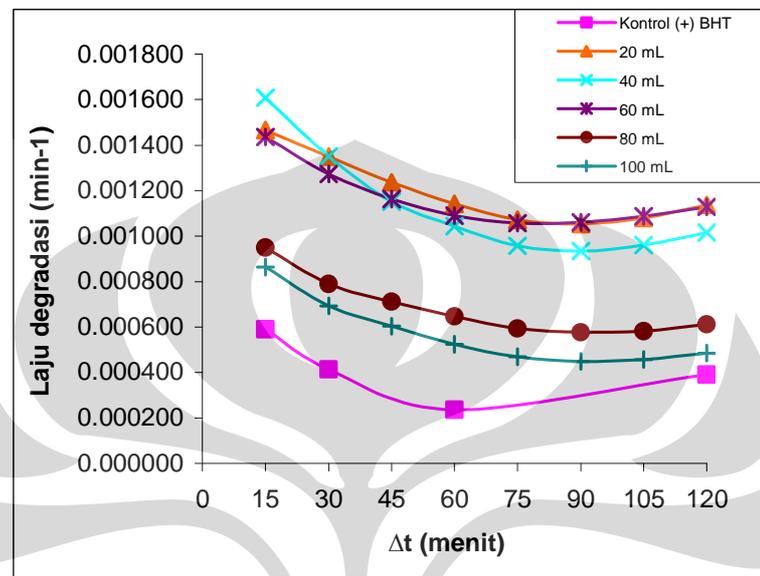


**Gambar 4.11.** Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak daun simpur dari ekstraksi variasi volume pelarut etanol

Penurunan absorbansi diakibatkan oleh terjadinya reaksi oksidasi. Sampel yang ditambahkan ekstrak daun yang mengandung senyawa bioaktif menunjukkan penurunan yang tidak drastis. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dari sampel tersebut. Radikal bebas dari minyak yang terbentuk tidak akan menyerang ikatan rangkap dari karoten karena dinetralkan oleh atom hidrogen yang berasal dari senyawa antioksidan sampel. Sedangkan radikal antioksidan yang terbentuk cenderung berifat stabil. Hal tersebut dapat menyebabkan terputusnya reaksi rantai dari radikal bebas dan dalam pengukuran absorbansi diperlihatkan bahwa nilai absorbansi dari karoten tidak turun drastis dibandingkan kontrol negatif. Hal ini karena terjadi penghambatan pemutusan ikatan rangkap terkonjugasi yang akan mengakibatkan pudarnya warna karoten.

Aktivitas antioksidan juga dapat dilihat dari laju degradasi beta karoten, di mana sampel uji dengan laju degradasi beta karoten yang rendah memiliki aktivitas

antioksidan yang besar. Laju degradasi dapat diketahui dengan persamaan (3.3) dan dapat dilihat pada grafik berikut.



**Gambar 4.12.** Laju degradasi beta karoten dengan penambahan 5% senyawa bioaktif daun simpur yang diekstrak dengan variasi volume pelarut etanol

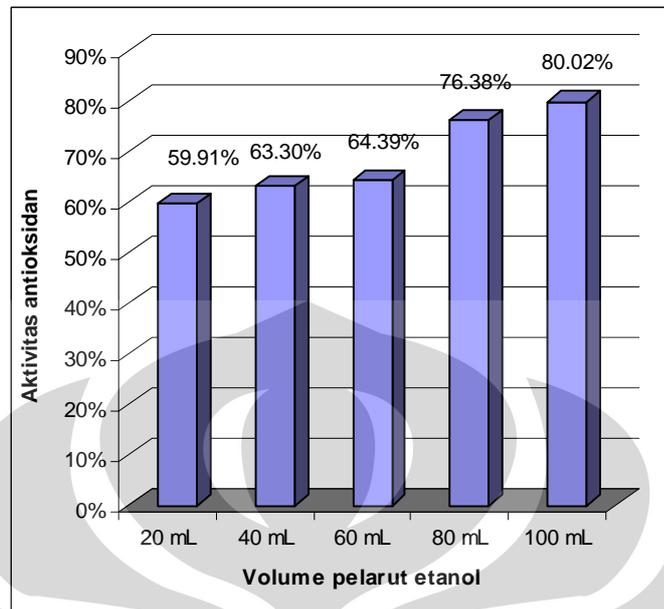
Laju degradasi sampel pada Gambar 4.12. menunjukkan bahwa laju degradasi akan menurun sampai waktu tertentu dan akan naik kembali pada menit berikutnya. Laju degradasi akan mengalami penurunan sampai menit 90 dan naik pada menit berikutnya. Sampel uji yang mengandung senyawa bioaktif akan mengikat radikal peroksida yang terbentuk dari reaksi oksidasi pada minyak goreng, sehingga akan menghambat pemutusan ikatan rangkap terkonjugasi yang terdapat pada karotenoid (Othman,2005).

Pada Gambar 4.12. terlihat bahwa laju degradasi akan turun dan akan naik kembali pada waktu inkubasi tertentu. Laju degradasi tidak berbeda jauh pada ekstrak dengan volume pelarut etanol 20, 40, dan 60 mL yang ditunjukkan pada Gambar 4.12. Pada waktu inkubasi 15 menit ekstrak volume 60 mL memiliki laju degradasi beta karoten yang lebih kecil dibandingkan ekstrak 20 dan 40 mL. Selama inkubasi laju degradasi ekstrak 60 mL akan turun tetapi tidak begitu signifikan sehingga pada

waktu inkubasi ke 75 menit, laju degradasinya akan mendekati ekstrak volume 20 mL. Sedangkan ekstrak 40 mL pada waktu inkubasi 15 menit memiliki laju degradasi yang paling besar jika dibandingkan ekstrak 20 mL dan 60 mL. Laju degradasi yang besar ini menunjukkan serangan radikal peroksida terhadap ikatan rangkap beta karoten sehingga terjadi pemudaran warna jingga karoten yang lebih cepat. Hal ini mungkin terjadi akibat belum optimalnya kerja antioksidan ekstrak 40 mL. Senyawa antioksidan ekstrak 40 mL akan bekerja optimum setelah waktu 45 menit. Sisa senyawa antioksidan yang terdapat dalam ekstrak 40 mL akan lebih banyak setelah waktu inkubasi 45 menit dibandingkan ekstrak 60 mL sehingga laju degradasi 40 mL akan lebih kecil dibandingkan 60 mL.

Pada Gambar 4.12. dapat dilihat bahwa laju degradasi sampel dengan volume pelarut 100 mL menunjukkan laju degradasi terkecil sampai waktu 90 menit pemanasan dibandingkan dengan sampel uji lainnya. Jika melihat hasil berat ekstrak, maka terdapat kesuaian antara berat ekstrak dengan laju degradasi. Laju degradasi yang lebih kecil ini menunjukkan sampel uji dengan volume 100 mL memiliki senyawa antioksidan yang lebih banyak. Sehingga efektif untuk menghambat reaksi antara beta karoten dengan radikal peroksida yang berasal dari oksidasi minyak goreng.

Hasil tersebut juga sama dengan hasil perhitungan aktivitas antioksidan dengan menggunakan persamaan (2.1). Aktivitas antioksidan merupakan persentase pencegahan pemudaran warna jingga pada karoten atau dengan kata lain kemampuan antioksidan untuk menghambat oksidasi beta karoten. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada diagram berikut ini.

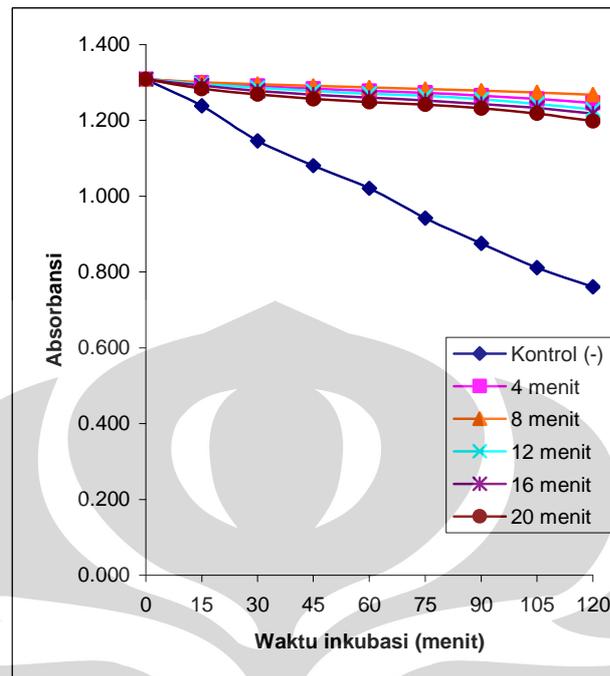


**Gambar 4.13.** Aktivitas antioksidan pada sampel uji variasi volume pelarut etanol

Dari Gambar 4.13. dapat dilihat bahwa sampel dengan volume pelarut 100 mL memberikan aktivitas antioksidan terbesar, yaitu 80,11%. Hal ini karena semakin banyak volume pelarut, maka kontak antara serbuk daun dengan etanol akan semakin besar. Sehingga senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun akan lebih cepat berpindah dari dalam sel daun ke pelarut. Volume pelarut yang memberikan aktivitas antioksidan terbesar ini, kemudian digunakan untuk variasi waktu, yaitu 4, 8, 12, 16, dan 20 menit untuk menentukan pengaruh waktu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan

#### **4.3.4. Pengaruh Waktu Ekstraksi Daun Simpung terhadap Aktivitas Antioksidan**

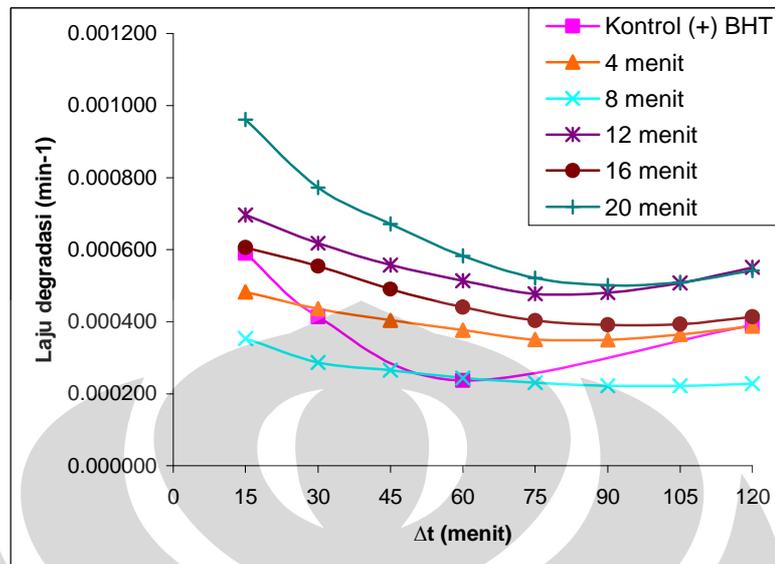
Seperti pada ekstraksi daun simpung variasi volume pelarut etanol, maka absorbansi dari sampel uji variasi waktu ekstraksi juga akan mengalami penurunan. Berikut ini merupakan perubahan absorbansi dari kontrol negatif dan sampel uji yang ditambahkan ekstrak variasi waktu ekstraksi yang mengandung senyawa bioaktif.



**Gambar 4.14.** Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak daun simpur dari variasi waktu ekstraksi

Pada Gambar 4.14. perubahan absorbansi dari sampel uji variasi waktu ekstraksi 8 menit menunjukkan penurunan yang terkecil dibandingkan dengan yang lainnya. Sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu ekstraksi 8 menit memiliki aktivitas antioksidan terbesar. Hal ini dapat dibuktikan pada perhitungan laju degradasi dan aktivitas antioksidan.

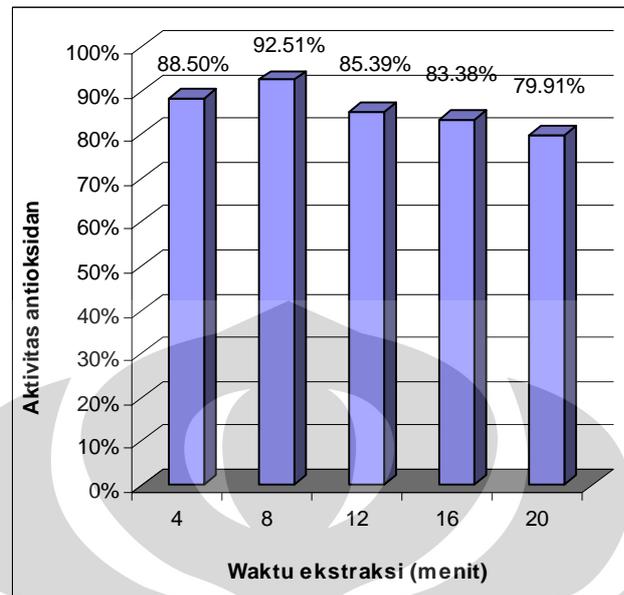
Laju degradasi sampel uji variasi waktu pada penelitian ini juga menunjukkan penurunan setiap waktu inkubasi. Penurunan ini terjadi hingga pada menit 90 dan kemudian naik kembali pada menit 105. Kenaikan kembali laju degradasi dikarenakan sudah sedikitnya jumlah antioksidan yang tersisa untuk menghambat reaksi beta karoten dengan radikal peroksida. Hasil laju degradasi untuk sampel uji variasi waktu ekstraksi dapat dilihat pada grafik berikut ini.



**Gambar 4.15.** Laju degradasi beta karoten dengan penambahan 5% senyawa bioaktif daun simpur yang diekstrak dengan variasi waktu ekstraksi

Dari Gambar 4.15. dapat disimpulkan bahwa waktu ekstraksi 8 menit merupakan waktu ekstraksi optimum untuk mendapatkan ekstrak yang baik dalam menghambat oksidasi. Jika mengekstrak lebih dari waktu 8 menit, maka ekstrak akan terdegradasi akibat penyinaran gelombang mikro yang terlalu lama. Alasannya adalah suhu yang ditimbulkan akan tinggi, yang menyebabkan ekstrak yang mengandung antioksidan akan terdegradasi (Qing,2005). Oleh karena itu, dalam dalam proses ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro sebaiknya tidak terlalu lama agar senyawa yang ingin diekstrak tidak terdegradasi.

Aktivitas antioksidan dihitung untuk menentukan sampel uji variasi waktu ekstraksi yang menghasilkan persen penghambatan oksidasi paling besar dari sistem minyak goreng – beta karoten. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan untuk variasi waktu ekstraksi dapat dilihat pada grafik berikut ini.

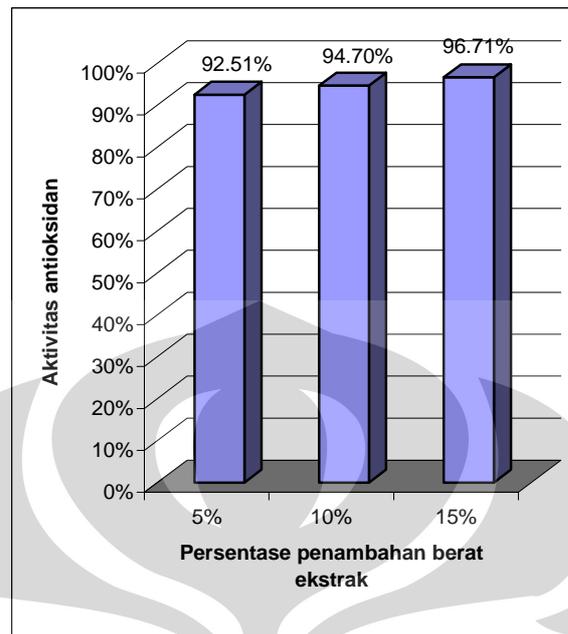


**Gambar 4.16.** Aktivitas antioksidan pada sampel uji variasi waktu ekstraksi

Nilai aktivitas antioksidan pada masing-masing sampel uji dapat dilihat pada Gambar 4.16. di mana aktivitas antioksidan terendah pada waktu 20 menit yaitu 80,11% dan aktivitas antioksidan tertinggi adalah pada waktu 8 menit yaitu 92,59%. Proses ekstraksi yang terlalu lama dapat menyebabkan ekstrak yang mengandung antioksidan terdegradasi (Qing,2005) sehingga semakin lama waktu ekstraksi menyebabkan kemampuan ekstrak menghambat oksidasi semakin menurun.

#### **4.3.5. Pengaruh Penambahan Persentase Berat Ekstrak Daun Simpur terhadap Aktivitas Antioksidan**

Dari variasi volume dan waktu ekstraksi yang memiliki nilai aktivitas antioksidan optimum, maka dilakukan pengujian untuk penambahan persentase berat ekstrak. Pada penelitian sebelumnya, hanya digunakan sebanyak 5% dari berat minyak goreng yang ditambahkan. Berikut ini aktivitas antioksidan yang didapatkan:



**Gambar 4.17.** Aktivitas antioksidan berdasarkan penambahan persentase berat ekstrak

Penambahan jumlah ekstrak pada sistem emulsi minyak goreng dan beta karoten akan meningkatkan aktivitas antioksidan. Pada awalnya, aktivitas antioksidan dengan 5% berat ekstrak adalah 92,59% kemudian akan meningkat pada berat ekstrak 10% dan 15% masing-masing menjadi 94,76% dan 96,93%. Peningkatan aktivitas antioksidan ini berkaitan dengan semakin banyaknya antioksidan dalam sistem emulsi minyak goreng dan beta karoten sehingga proses penghambatan oksidasi beta karoten oleh radikal peroksida semakin lambat. Oleh karena itu aktivitas antioksidan ekstrak akan meningkat setiap penambahan jumlah ekstrak.

#### 4.3.6. Uji ANOVA terhadap Aktivitas Antioksidan

Untuk membandingkan aktivitas antioksidan baik yang terdapat pada sampel variasi volume pelarut etanol dan waktu ekstraksi ataupun sampel uji dengan aktivitas antioksidan optimum pada metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, sonikasi, dan tekanan tinggi menggunakan analisis ragam atau ANOVA.

#### ❖ Perbandingan Aktivitas Antioksidan pada Variasi Volume Pelarut Etanol

Analisis ragam dilakukan untuk mengetahui apakah volume pelarut etanol mempengaruhi aktivitas antioksidan. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan (AA) dari masing-masing variasi volume pelarut etanol dapat dilihat pada tabel berikut ini.

**Tabel 4.1.** Aktivitas antioksidan pada variasi ekstraksi volume pelarut etanol

Volume etanol	AA		
	I	II	III
20 mL	59.13%	60.42%	60.18%
40 mL	64.20%	62.98%	62.73%
60 mL	64.56%	64.25%	64.36%
80 mL	76.49%	76.29%	76.36%
100 mL	80.11%	79.94%	80.00%

Dari pengujian hipotesis ANOVA (Lampiran 7) diperoleh bahwa F hasil perhitungan (F adalah rasio ragam) lebih besar dari F kritis dengan  $\alpha = 0,05$ . Perbedaan aktivitas antioksidan ini disebabkan oleh semakin banyak volume pelarut, maka kontak antara serbuk daun dengan etanol akan semakin besar. Sehingga senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun akan lebih cepat berpindah dari dalam sel daun ke pelarut. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstraksi dengan bantuan gelombang mikri dipengaruhi oleh volume pelarut.

#### ❖ Perbandingan Aktivitas Antioksidan pada Variasi Waktu Ekstraksi

Analisis ragam dilakukan untuk mengetahui apakah waktu ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan (AA) dari masing-masing variasi waktu dapat dilihat pada tabel berikut ini.

**Tabel 4.2.** Aktivitas antioksidan pada variasi waktu ekstraksi

Waktu ekstraksi	Aktivitas Antioksidan		
	I	II	III
4 menit	88.44%	88.50%	88.55%
8 menit	92.48%	92.52%	92.55%
12 menit	85.32%	85.40%	85.45%
16 menit	83.30%	83.39%	83.45%
20 menit	79.82%	79.93%	80.00%

Dari pengujian hipotesis ANOVA (Lampiran 8) diperoleh bahwa F hasil perhitungan (F adalah rasio ragam) lebih besar dari F kritis dengan  $\alpha = 0,05$ . Perbedaan aktivitas antioksidan pada variasi waktu ekstraksi terjadi akibat terdegradasinya senyawa antioksidan. Penyinaran gelombang mikro yang terlalu lama menyebabkan suhu dalam sistem meningkat sehingga berisiko terhadap senyawa bioaktif yang termolabil. Oleh karena itu, dalam proses ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro sebaiknya tidak terlalu lama agar senyawa yang ingin diekstrak tidak terdegradasi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dipengaruhi oleh waktu ekstraksi.

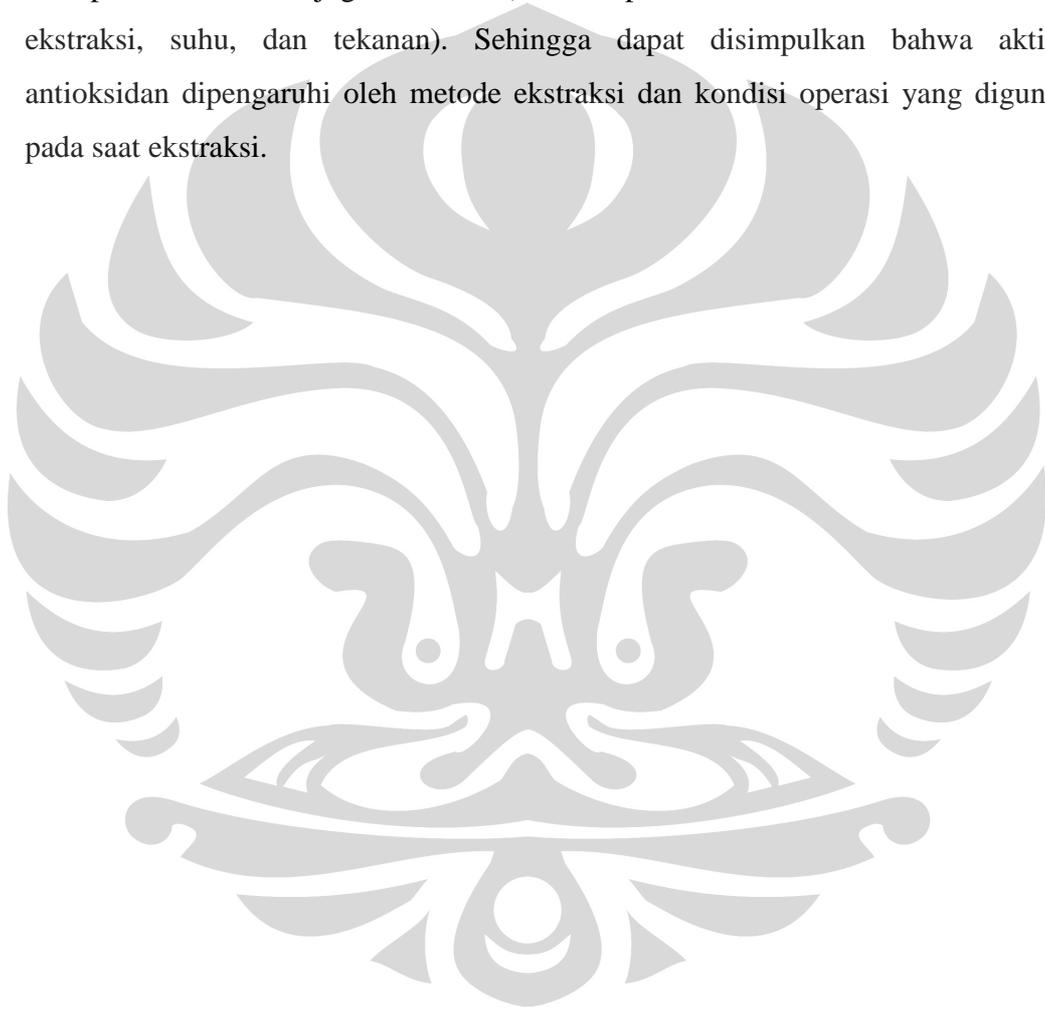
❖ **Perbandingan Aktivitas Antioksidan pada Metode Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro (MAE), Sonikasi, dan Tekanan Tinggi.**

Analisis ragam dilakukan untuk mengetahui apakah nilai aktivitas antioksidan akan bernilai sama jika menggunakan metode ekstraksi yang berbeda. Hasil perhitungan aktivitas antioksidan (AA) optimum dari masing-masing metode ekstraksi dapat dilihat pada tabel berikut ini.

**Tabel 4.3.** Aktivitas antioksidan optimum pada metode ekstraksi sonikasi, MAE, dan tekanan tinggi

Metode	Aktivitas Antioksidan		
	I	II	III
Sonikasi	95.24%	95.41%	95.98%
MAE	92.59%	92.52%	92.55%
Tekanan tinggi	95.12%	94.53%	94.91%

Dari pengujian hipotesis ANOVA (Lampiran 9) diperoleh bahwa F hasil perhitungan (F adalah rasio ragam) lebih besar dari F kritis dengan  $\alpha = 0,05$ . Hal ini berarti adanya perbedaan nilai aktivitas antioksidan antara metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, sonikasi, dan tekanan tinggi. Perbedaan nilai aktivitas antioksidan ini disebabkan oleh metode ekstraksi dan kondisi operasi yang digunakan saat proses ekstraksi juga berbeda (volume pelarut, ukuran serbuk daun, waktu ekstraksi, suhu, dan tekanan). Sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan kondisi operasi yang digunakan pada saat ekstraksi.



## **BAB V**

### **KESIMPULAN**

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian yang telah dilakukan adalah :

1. Berat ekstrak yang dihasilkan pada variasi volume pelarut etanol dari 20 mL, 40 mL, 60 mL, 80 mL, dan 100 mL berturut-turut adalah 0,1275 gr, 0,1742 gr, 0,1846 gr, 0,2150 gr, dan 0,2252 gr. Berat ekstrak cenderung semakin besar dengan meningkatnya volume pelarut etanol karena kontak antara serbuk daun dengan etanol semakin besar dan senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun akan lebih cepat berpindah dari dalam sel daun ke pelarut.
2. Berat ekstrak yang dihasilkan pada variasi waktu ekstraksi dari 4, 8, 12, 16, dan 20 menit berturut-turut adalah 0,2403 gr, 0,2717 gr, 0,2444 gr, 0,2359 gr, dan 0,2252 gr. Berat ekstrak cenderung semakin turun dengan meningkatnya waktu ekstraksi karena penyinaran gelombang mikro yang terlalu lama akan menyebabkan senyawa bioaktif terdegradasi.
3. Aktivitas antioksidan optimum dari penelitian ini adalah dengan volume pelarut etanol 100 mL dan waktu ekstraksi 8 menit, yaitu sebesar 92,51%.
4. Aktivitas antioksidan akan meningkat seiring bertambahnya persentase berat ekstrak dari 5%, 10%, dan 15% karena akan semakin banyaknya antioksidan dalam sistem emulsi minyak goreng dan beta karoten. Sehingga proses penghambatan oksidasi beta karoten oleh radikal peroksida semakin lambat yang ditandai dengan peningkatan aktivitas antioksidan dari 92,51%, 94,70% dan 96,71%.
5. Uji ANOVA terhadap metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, sonikasi, dan tekanan tinggi mendapatkan hasil aktivitas antioksidan ekstrak dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan kondisi operasi yang digunakan pada saat ekstraksi (volume pelarut, ukuran serbuk daun, waktu ekstraksi, suhu, dan tekanan).

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdille, Md.H., et al. *Antioxidant Activity of the Extracts from Dillenia indica Fruits*. Journal of Food Chemistry, 90 (2005) 891–896; 2004.
- Almeida, Joaquim Maur'icio Duarte, et al. *Antioxidant Activity of Phenolics Compounds From Sugar Cane (Saccharum officinarum L.) Juice*. Journal Plant Foods for Human Nutrition **61**: 187–192, 2006.
- Al Saikhan, et. al. *Antioxidant Activity and Total Phenolics in Different Genotypes of Potato (Solanum tuberosum, L.)*. Journal of Food Science, 60, 341-343, 1995.
- Anonim. *Beta Carotene*. [http://www.chm.bris.ac.uk/motm/carotene/beta-carotene\\_home.html](http://www.chm.bris.ac.uk/motm/carotene/beta-carotene_home.html) (Diakses 15 April 2009)
- Anonim. *Dillenia indica L.* <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html> Dillenia indica L. (Diakses 16 Maret 2008)
- Anonim. *Dillenia indica*. [http://en.wikipedia.org/wiki/Dillenia\\_indica](http://en.wikipedia.org/wiki/Dillenia_indica). (Diakses 16 Maret 2008)
- Anonim. *Dillenia indica*. [http://www.hear.org/Pier//dillenia\\_indica.htm](http://www.hear.org/Pier//dillenia_indica.htm) (Diakses 22 Maret 2008)
- Armstrong, Stephanye Dawn. *Microwave-Assisted Extraction for the Isolation of Trace Systemic Fungicides from Woody Plant Material*. Virginia: Doctor Of Philosophy In Chemistry Virginia Polytechnic Institute and State University, 1999.
- Astrid Kenya Pramesti. *Identifikasi Fraksi Hasil Ekstraksi Daging Buah Matang Dillenia indica dalam Pelarut n-heksana*. Skripsi, Program Sarjana Fakultas Teknik UI, Depok, 2005.
- Bidchol, Abdul Mueed, et al. *Free Radical Scavenging Activity of Aqueous and Ethanolic Extract of Brassica oleracea L. var. Italica*. Journal Food Bioprocess Technology, DOI 10.1007/s11947-009-0196-9, 2009.
- Boer, Yusneti. *Antioksidan Kulit Buah Kandis [Gracinia parvifolia (Miq.) Miq.]*. Jakarta: Program Studi Magister Ilmu Kimia FMIPA-UI, 1999.

- Burton, Graham W. *Antioxidant Action of Carotenoids*. The Journal of Nutrition, 1988.
- Coppen, P.P. *The Use of Antioxidant*. Di dalam: J.C. Allen dan R.J Hamilton, editor. Rancidity in Foods. London: Applied Science Publishers, 1983.
- Dean, John R. *Extraction Methods for Environmental Analysis*. London: John Wiley & Sons Ltd., 1998.
- Egizabal, A. et al. *Comparison of Microwave-Assisted Extraction and Soxhlet Extraction for Phenols in Soil Samples Using Experimental Designs*. The Analyst, Vol. 123 (1679–1684), Agustus 1998.
- ElKhorri, Sandra, et al. *The Microwave-Assisted Process (MAP): Extraction and Determination of Fat from Cocoa Powder and Cocoa Nibs*. Journal of Food Engineering, 79 (1110–1114), 2006.
- G, Scott. *Antioxidants*. Japan: Bull. Chem. Soc., 1998.
- Harinaldi. *Prinsip-Prinsip Statistik untuk Teknik dan Sains*. Jakarta: Penerbit Erlangga, 2005.
- Iffa Puspasari. *Studi Pendahuluan Pemanfaatan Daging Buah Dillenia indica Sebagai Anti Bakteri Escherichia Coli*. Skripsi, Program Sarjana Fakultas Teknik UI, Depok, 2004.
- Indika, Gita. *Pengaruh Kepolaran Pelarut dan Diameter Serbuk Daun terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Dillenia indica*. Skripsi, Program Sarjana Fakultas Teknik UI, Depok, 2007.
- Ismail, Amin dan Tan Siew Hong. *Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds*. Malaysia Journal Nutrition, 8(2): 167-177, 2002.
- Jayaprakasha, G.K, et al. *Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro*. Journal Food Chemistry, Volume 73, Issue 3, 285-290, 2001.
- Kahkomen, M.P, et. al. *Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds*. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 47(10), 3954-3962, 1999.
- Kerem, Zohar, et al. *Microwave-assisted extraction of bioactive saponins from chickpea (Cicer arietinum L)*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 85:406–412, 2005

- Larson, R.A. *The Antioxidant of Higher Plants*. *Phytochemistry*, 27, 969-976, 1990.
- Letellier, M. dan H. Budzinski. *Microwave Assisted Extraction of Organic Compounds*. *Analisis*, 27, 259-271, 1999.
- Li, X.L dan A.G. Zhou. *Evaluation of the antioxidant effects of polysaccharides extracted from Lycium barbarum*. *Journal Medicinal Chemistry Research*, 15:471-482, 2007.
- Lina Faty. *Ekstraksi Senyawaan Bioaktif Daging Buah Sempur Air (Dillenia indica) dengan Pelarut Polar (Uji Aktivitas Antioksidan)*. Skripsi, Program Sarjana Fakultas Teknik UI, Depok, 2004.
- Mandal, Vivekananda, et al. *Microwave Assisted Extraction – An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research*. *Pharmacognosy Reviews*, Vol 1, Issue 1, Jan-May, 2007.
- Maruti Wulandari. *Studi Awal Isolasi dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Heksana dari Daging Buah Dillenia indica*. Skripsi, Program Sarjana Fakultas Teknik UI, Depok, 2005.
- Nick, A, et al. *Antibacterial Triterpenoids from Dillenia papuana and Their Structure-Activity Relationships*. *Phytochemistry*, 40(6), 1995: 1691-1695.
- Osawa, T. *Novel Natural Antioxidants for Utilization in Food and Biological System. Postharvest Biochemistry of Plant Food-Materials in The Tropics*. (pp. 241-251). Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1994.
- Othman, Azizah, et al. *Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans*. *Journal of Food Chemistry*, 100 (2007) 1523–1530; 2005.
- Pratt, D.E, et al. *Natural Antioxidant Not Exploited Commercially*. *Food Antioxidants*, editor B.J.F Hudson, hal.171-177
- Prosea. *Plant Resources of South East Asia Vol.5*. Bogor: Prosea Foundation, 1995.
- Qing, Chen Xiao, et al. *Microwave-Assisted Extraction of Polysaccharides from Solanum nigrum*. *Journal Central South University Technology*, Vol. 12, No. 5, 2005.

- Sauriasari, Rani. *Mengenal dan Menangkal Radikal Bebas*. <http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek-2006-01-22-Mengenal-dan-Menangkal-Radikal-Bebas.shtml> (Diakses 8 Februari 2008).
- Savitri D. Srivastava. *Flavonoids From The Stem Of Dillenia pentagyna*. *Phytochemistry*, 20 (10) 1981: 646-647.
- Soffia, Dinna. *Antioksidan dan Radikal Bebas*. <http://www.chem-is-try.org/>. (Diakses 8 Februari 2008)
- Stein, Dale F. *Microwave Processing of Materials*. Washington, D.C: National Academy Press, 1994.
- Takada, Hiroya, et al. *Antioxidant Activity of Supramolecular Water-Soluble Fullerenes Evaluated by  $\beta$ -Carotene Bleaching Assay*. *JSBA*, 70 (12), 3088-3093, 2006.
- Takahashi, Atsushi, et al. *Kinetic Model for Autoxidation of  $\beta$ -Carotene in Organic Solutions*. *JAOCs*, Vol.76, no.8, 1999.
- Utami, Tania Surya, et. al. *Operating Condition Effects on High-Pressure Extraction to Antioxidant Activity of Dillenia indica Leaves Extract*. *Journal of Regional Symposium on Chemical Engineering*, ISBN 978-979-16978-0-4, 2007.
- Utami, Tania Surya, et. al. *Pengaruh Konsentrasi Larutan Ekstrak dan Waktu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sempur Air (Dillenia indica) dengan Ekstraksi Sonikasi dan Soxhlet*. *Jurnal Seminar Tjipto Utomo*, ISSN : 1693 – 1750, 2007.
- Wilmsen, Patricia Kelly, et al. *Antioxidant Activity of the Flavonoid Hesperidin in Chemical and Biological Systems*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4757-4761, 2005.
- Zigoneanu, Imola G. *Alpha-Tocopherol: Extraction from Rice Bran by Microwave-Assisted Method and Entrapment and Release from Polymeric Nanoparticle*. Master of Science in Biological and Agricultural Engineering Louisiana State University, 2006.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Data Berat Ekstrak

#### Variasi volume

Volume (mL)	Berat ekstrak (gram)
20	0.1275
40	0.1742
60	0.1846
80	0.215
100	0.2252

#### Variasi waktu

Waktu (menit)	Berat ekstrak (gram)
20	0.2252
16	0.2359
12	0.2444
8	0.2717
4	0.2403

### Lampiran 2. Data Absorbansi pada Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel	Absorbansi								
	0	15	30	45	60	75	90	105	120
Kontrol negatif (blank)	1.308	1.249	1.189	1.127	1.062	0.993	0.918	0.842	0.755
	1.306	1.258	1.197	1.135	1.071	1.007	0.940	0.855	0.758
	1.312	1.259	1.204	1.137	1.069	1.001	0.931	0.856	0.762
BHT	0.188	0.187	0.186	-	0.186	-	-	-	0.179
	0.191	0.187	0.186	-	0.187	-	-	-	0.179
	0.188	0.188	0.188	-	0.186	-	-	-	0.183
2/20	1.733	1.690	1.659	1.634	1.613	1.594	1.571	1.542	1.507
	1.728	1.694	1.663	1.638	1.617	1.598	1.575	1.546	1.511
	1.733	1.697	1.666	1.641	1.620	1.601	1.578	1.549	1.514
2/40	1.756	1.717	1.692	1.671	1.653	1.638	1.618	1.591	1.558
	1.763	1.719	1.689	1.673	1.655	1.640	1.620	1.593	1.560
	1.767	1.724	1.695	1.675	1.657	1.642	1.622	1.595	1.562
2/60	1.551	1.518	1.493	1.472	1.453	1.433	1.41	1.384	1.355
	1.546	1.513	1.488	1.467	1.448	1.428	1.405	1.379	1.35
	1.548	1.515	1.49	1.469	1.45	1.43	1.407	1.381	1.352
2/80	1.833	1.807	1.79	1.775	1.763	1.753	1.74	1.724	1.703
	1.841	1.815	1.798	1.783	1.771	1.761	1.748	1.732	1.711
	1.843	1.817	1.8	1.785	1.773	1.763	1.75	1.734	1.713
2/100	1.939	1.914	1.899	1.887	1.879	1.872	1.862	1.848	1.829
	1.945	1.92	1.905	1.893	1.885	1.878	1.868	1.854	1.829
	1.943	1.918	1.903	1.891	1.883	1.883	1.866	1.852	1.835
4 menit	1.374	1.364	1.356	1.349	1.343	1.338	1.331	1.322	1.311
	1.391	1.381	1.373	1.366	1.36	1.355	1.348	1.339	1.328
	1.392	1.382	1.374	1.367	1.361	1.356	1.349	1.34	1.329

8 menit	1.516	1.508	1.503	1.498	1.494	1.49	1.486	1.481	1.475
	1.512	1.504	1.499	1.494	1.49	1.486	1.482	1.477	1.471
	1.514	1.506	1.501	1.496	1.492	1.488	1.484	1.479	1.473
12 menit	1.247	1.234	1.224	1.216	1.209	1.203	1.194	1.182	1.167
	1.251	1.238	1.228	1.22	1.213	1.207	1.198	1.186	1.171
	1.256	1.243	1.233	1.225	1.218	1.212	1.203	1.191	1.176
16 menit	1.878	1.861	1.847	1.837	1.829	1.822	1.813	1.802	1.787
	1.877	1.86	1.846	1.836	1.828	1.821	1.812	1.801	1.786
	1.881	1.864	1.85	1.84	1.832	1.825	1.816	1.805	1.79
20 menit	1.745	1.72	1.705	1.693	1.685	1.678	1.668	1.654	1.635
	1.747	1.722	1.707	1.695	1.687	1.68	1.67	1.656	1.637
	1.748	1.723	1.708	1.696	1.688	1.681	1.671	1.657	1.638
5%	1.745	1.737	1.732	1.727	1.723	1.719	1.715	1.710	1.704
	1.747	1.743	1.738	1.734	1.731	1.726	1.720	1.713	1.706
	1.748	1.743	1.739	1.735	1.731	1.727	1.721	1.712	1.707
10%	1.863	1.859	1.854	1.852	1.849	1.845	1.842	1.839	1.834
	1.861	1.858	1.852	1.849	1.846	1.843	1.84	1.839	1.833
	1.864	1.86	1.856	1.853	1.848	1.845	1.842	1.839	1.834
15%	1.978	1.975	1.973	1.971	1.969	1.967	1.965	1.963	1.961
	1.978	1.976	1.974	1.971	1.968	1.965	1.964	1.962	1.96
	1.977	1.975	1.972	1.97	1.968	1.966	1.965	1.962	1.958

**Lampiran 3. Data Absorbansi Rata-Rata pada Uji Aktivitas Antioksidan**

Sampel	Absorbansi Rata-rata								
	0	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	1.309	1.255	1.197	1.133	1.067	1.000	0.930	0.851	0.758
BHT	0.189	0.187	0.187	-	0.186	-	-	-	0.180
20 mL	1.731	1.694	1.663	1.638	1.617	1.598	1.575	1.546	1.511
40 mL	1.762	1.720	1.692	1.673	1.655	1.640	1.620	1.593	1.560
60 mL	1.548	1.515	1.490	1.469	1.450	1.430	1.407	1.381	1.352
80 mL	1.839	1.813	1.796	1.781	1.769	1.759	1.746	1.730	1.709
100 mL	1.942	1.917	1.902	1.890	1.882	1.875	1.865	1.851	1.832
4 menit	1.386	1.376	1.368	1.361	1.355	1.350	1.343	1.334	1.323
8 menit	1.514	1.506	1.501	1.496	1.492	1.488	1.484	1.479	1.473
12 menit	1.251	1.238	1.228	1.220	1.213	1.207	1.198	1.186	1.171
16 menit	1.879	1.862	1.848	1.838	1.830	1.823	1.814	1.803	1.788
20 menit	1.747	1.722	1.707	1.695	1.687	1.680	1.670	1.656	1.637
5%	1.514	1.506	1.501	1.496	1.492	1.488	1.484	1.479	1.473
10%	1.863	1.859	1.854	1.851	1.848	1.844	1.841	1.839	1.834
15%	1.978	1.975	1.973	1.971	1.968	1.966	1.965	1.962	1.960

#### Lampiran 4. Aktivitas Antioksidan Sampel Uji dan Kontrol

Contoh perhitungan aktivitas antioksidan:

Dengan persamaan (2.1), dilakukan perhitungan aktivitas antioksidan pada data absorbansi ekstraksi variasi waktu ekstraksi 8 menit, di mana:

$$\begin{aligned}
 AA &= 100 \left[ 1 - \left( \frac{A_o - A_t}{A_o^0 - A_t^0} \right) \right] \\
 &= 100 \left[ 1 - \left( \frac{1,514 - 1,473}{1,309 - 0,758} \right) \right] \\
 &= 92,51\%
 \end{aligned}$$

Dengan cara yang sama dilakukan perhitungan terhadap data yang lain dan didapatkan aktivitas antioksidan dari masing-masing data.

Sampel	Aktivitas Antioksidan
BHT	98.43%
20 mL	59.91%
40 mL	63.30%
60 mL	64.39%
80 mL	76.38%
100 mL	80.02%
4 menit	88.50%
8 menit	92.51%
12 menit	85.39%
16 menit	83.38%
20 menit	79.91%
5.00%	92.51%
10.00%	94.70%
15.00%	96.71%

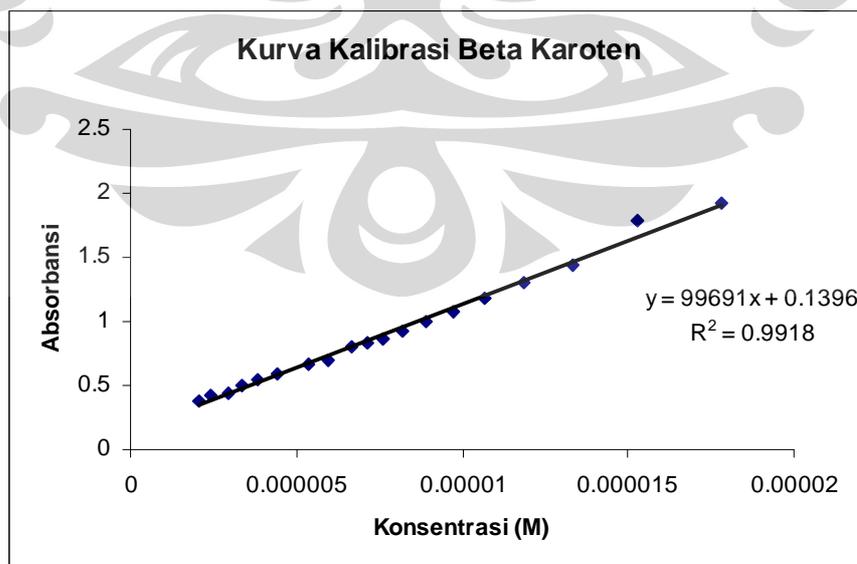
### Lampiran 5. Laju Degradasi pada Sampel Uji dan Kontrol

Laju degradasi dihitung dengan persamaan (4.3):

$$\text{Laju degradasi} = \ln \frac{C_{A0}}{C_A} \times \frac{1}{t}$$

Sampel	Laju Degradasi							
	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	0.002774	0.002982	0.003203	0.003397	0.003582	0.003799	0.004100	0.004548
BHT	0.000590	0.000414	-	0.000237	-	-	-	0.000391
20 mL	0.001466	0.001349	0.001236	0.001142	0.001071	0.001054	0.001080	0.001136
40 mL	0.001608	0.001351	0.001152	0.001044	0.000957	0.000934	0.000960	0.001015
60 mL	0.001436	0.001273	0.001164	0.001090	0.001057	0.001061	0.001087	0.001128
80 mL	0.000949	0.000789	0.000712	0.000647	0.000593	0.000577	0.000582	0.000611
100 mL	0.000864	0.000694	0.000603	0.000523	0.000468	0.000449	0.000457	0.000486
4 menit	0.000483	0.000436	0.000405	0.000377	0.000351	0.000350	0.000364	0.000388
8 menit	0.000353	0.000287	0.000266	0.000244	0.000231	0.000222	0.000223	0.000229
12 menit	0.000696	0.000618	0.000557	0.000514	0.000477	0.000481	0.000508	0.000551
16 menit	0.000606	0.000555	0.000490	0.000440	0.000403	0.000391	0.000393	0.000414
20 menit	0.000961	0.000772	0.000672	0.000583	0.000522	0.000501	0.000510	0.000542

### Lampiran 6. Kurva Kalibrasi Beta Karoten



### Lampiran 7. Analisis Ragam (ANOVA) Pada Aktivitas Antioksidan Variasi Volume Pelarut Etanol

Dari data aktivitas antioksidan variasi volume pelarut dilakukan analisis ragam untuk mengetahui hubungan antar variasi volume. Aktivitas antioksidan optimum dari masing-masing volume pelarut dapat dilihat pada tabel.

Vokume pelarut	AA		
	I	II	III
20 mL	59.13%	60.42%	60.18%
40 mL	64.20%	62.98%	62.73%
60 mL	64.56%	64.25%	64.36%
80 mL	76.49%	76.29%	76.36%
100 mL	80.11%	79.94%	80.00%

Langkah-langkah menggunakan ANOVA:

1. Hipotesis

$H_0$  = Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun simpur tidak dipengaruhi oleh volume pelarut etanol

$H_1$  = Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun simpur dipengaruhi oleh volume pelarut etanol

2.  $\alpha = 0,05$

3. Jumlah populasi/sampel,  $k = 3$ , maka derajat kebebasan pembilang,  $df_{num} = k - 1 = 2$ . Banyaknya seluruh anggota sampel,  $T = 15$ , maka derajat kebebasan penyebut,  $df_{den} = T - k = 13$ .

4. Batas-batas daerah penolakan/batas kritis uji dua-ujung. Dari tabel F untuk  $\alpha = 0,05$ ; derajat kebebasan pembilang,  $df_{num} = 2$  dan derajat kebebasan penyebut,  $df_{den} = 13$  sehingga batas kritis adalah  $F_{0,05} = 3,806$ .

5. Aturan keputusan:

Tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$  jika  $RU_F > 3,806$ . Jika tidak demikian, terima  $H_0$ .

6. Rasio uji: agar lebih mudah, digunakan tabulasi perhitungan sebagai berikut:

Volume pelarut	Aktivitas Antioksidan					
	$x_i$	$x_j$	$x_k$	$x_i^2$	$x_j^2$	$x_k^2$
20 mL	59.13%	60.42%	60.18%	0.3497	0.3651	0.3622
40 mL	64.20%	62.98%	62.73%	0.4121	0.3966	0.3935
60 mL	64.56%	64.25%	64.36%	0.4168	0.4128	0.4143
80 mL	76.49%	76.29%	76.36%	0.5851	0.5820	0.5831
100 mL	80.11%	79.94%	80.00%	0.6417	0.6390	0.6400
Total	3.4448	3.4388	3.4364	2.4054	2.3956	2.3931
GT	10.3200			7.1940		

$$SS_{tot} = \sum (x)^2 - \left( \frac{GT^2}{T} \right) = 7,1940 - \left( \frac{10,3200^2}{15} \right) = 0,0938$$

$$SS_{treat} = \frac{\left( \sum x_{ij} 20mL \right)^2 + \left( \sum x_{ij} 40mL \right)^2 + \left( \sum x_{ij} 60mL \right)^2 + \left( \sum x_{ij} 80mL \right)^2 + \left( \sum x_{ij} 100mL \right)^2}{k} - \left( \frac{GT^2}{T} \right)$$

$$= \frac{(1,7974)^2 + (1,8990)^2 + (1,9317)^2 + (2,2915)^2 + (2,4005)^2}{3} - \left( \frac{10,3200^2}{15} \right)$$

$$= 0,0936$$

$$SS_{err} = SS_{tot} - SS_{treat} = 0,0002$$

Sumber ragam	SS	df	$\mu S \left( \frac{SS}{df} \right)$	$F \left( \frac{SS_{treat}}{SS_{err}} \right)$
Perlakuan	0,0936	2	0.0468	2692,0218
Error	0,0002	13	$1,7382 \times 10^{-6}$	
Total	0,0938	15		

7. Pengambilan keputusan

Karena  $RU_F > 5,143$ , maka  $H_0$  = aktivitas antioksidan dari ekstrak daun simpur tidak dipengaruhi oleh volume pelarut etanol ditolak. Hal ini berarti volume pelarut etanol mempengaruhi aktivitas antioksidan yang didapatkan.

### Lampiran 8. Analisis Ragam (ANOVA) Pada Aktivitas Antioksidan Variasi Waktu Ekstraksi

Dari data aktivitas antioksidan variasi waktu ekstraksi dilakukan analisis ragam untuk mengetahui hubungan antar variasi waktu ekstraksi. Aktivitas antioksidan optimum dari masing-masing waktu ekstraksi dapat dilihat pada tabel.

Waktu Ekstraksi	AA		
	I	II	III
4 menit	88.44%	88.50%	88.55%
8 menit	92.48%	92.52%	92.55%
12 menit	85.32%	85.40%	85.45%
16 menit	83.30%	83.39%	83.45%
20 menit	79.82%	79.93%	80.00%

Langkah-langkah menggunakan ANOVA:

- Hipotesis
  - $H_0$  = Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun simpur tidak dipengaruhi oleh waktu ekstraksi
  - $H_1$  = Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun simpur dipengaruhi oleh waktu ekstraksi.
- $\alpha = 0,05$
- Jumlah populasi/sampel,  $k = 3$ , maka derajat kebebasan pembilang,  $df_{num} = k - 1 = 2$ . Banyaknya seluruh anggota sampel,  $T = 15$ , maka derajat kebebasan penyebut,  $df_{den} = T - k = 13$ .
- Batas-batas daerah penolakan/batas kritis uji dua-ujung. Dari tabel F untuk  $\alpha = 0,05$ ; derajat kebebasan pembilang,  $df_{num} = 2$  dan derajat kebebasan penyebut,  $df_{den} = 13$  sehingga batas kritis adalah  $F_{0,05} = 3,806$ .
- Aturan keputusan:
  - Tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$  jika  $RU_F > 3,806$ . Jika tidak demikian, terima  $H_0$ .
- Rasio uji: agar lebih mudah, digunakan tabulasi perhitungan sebagai berikut:

Waktu ekstraksi	Aktivitas Antioksidan					
	$x_i$	$x_j$	$x_k$	$x_i^2$	$x_j^2$	$x_k^2$
4 menit	88.44%	88.50%	88.55%	0.7822	0.7833	0.7840
8 menit	92.48%	92.52%	92.55%	0.8552	0.8560	0.8565
12 menit	85.32%	85.40%	85.45%	0.7280	0.7293	0.7302
16 menit	83.30%	83.39%	83.45%	0.6939	0.6955	0.6965
20 menit	79.82%	79.93%	80.00%	0.6371	0.6388	0.6400
Total	4.2936	4.2974	4.3000	3.6963	3.7029	3.7072
GT	12.8910			11.1064		

$$SS_{tot} = \sum (x)^2 - \left( \frac{GT^2}{T} \right) = 11,1064 - \left( \frac{12,8910^2}{15} \right) = 0,027871$$

$$SS_{treat} = \frac{\left( \sum x_{ij\ 4menit} \right)^2 + \left( \sum x_{ij\ 8menit} \right)^2 + \left( \sum x_{ij\ 12menit} \right)^2 + \left( \sum x_{ij\ 16menit} \right)^2 + \left( \sum x_{ij\ 20menit} \right)^2}{k} - \left( \frac{GT^2}{T} \right)$$

$$= \frac{(2,6549)^2 + (2,7754)^2 + (2,5618)^2 + (2,5015)^2 + (2,3974)^2}{3} - \left( \frac{12,8910^2}{15} \right)$$

$$= 0,027866$$

$$SS_{err} = SS_{tot} - SS_{treat} = 4,57 \times 10^{-6}$$

Sumber ragam	SS	df	$\mu S \left( \frac{SS}{df} \right)$	$F \left( \frac{SS_{treat}}{SS_{err}} \right)$
Perlakuan	0,027871	2	0,013933	39594,8
Error	$4,57 \times 10^{-6}$	13	$3,52 \times 10^{-7}$	
Total	0,027866	15		

#### 7. Pengambilan keputusan

Karena  $RU_F > 3,806$ , maka  $H_0 =$  aktivitas antioksidan dari ekstrak daun simpur tidak dipengaruhi oleh waktu ekstraksi ditolak. Hal ini berarti waktu ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan yang didapatkan.

**Lampiran 9. Analisis Ragam (ANOVA) Pada Pengujian Perbandingan Sampel Uji pada Metode Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro (MAE), Sonikasi, dan Tekanan Tinggi**

Dari tiga metode ekstraksi, yaitu metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, sonikasi dan tekanan tinggi didapatkan aktivitas antioksidan optimum dari tiga data triplo yang diambil. Aktivitas antioksidan optimum dari masing-masing metode dapat dilihat pada tabel.

Metode	Aktivitas Antioksidan		
	I	II	III
Sonikasi	95.24%	95.41%	95.98%
MAE	92.59%	92.52%	92.55%
Tekanan tinggi	95.12%	94.53%	94.91%

Langkah-langkah menggunakan ANOVA:

- Hipotesis  
 $H_0$  = Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun simpur tidak dipengaruhi oleh metode ekstraksi  
 $H_1$  = Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun simpur dipengaruhi oleh metode ekstraksi
- $\alpha = 0,05$
- Jumlah populasi/sample,  $k = 3$ , maka derajat kebebasan pembilang,  $df_{num} = k - 1 = 2$ . Banyaknya seluruh anggota sampel,  $T = 9$ , maka derajat kebebasan penyebut,  $df_{den} = T - k = 6$ .
- Batas-batas daerah penolakan/batas kritis uji dua-ujung. Dari tabel F untuk  $\alpha = 0,05$ ; derajat kebebasan pembilang,  $df_{num} = 2$  dan derajat kebebasan penyebut,  $df_{den} = 6$  sehingga batas kritis adalah  $F_{0,05} = 5,143$ .
- Aturan keputusan:  
Tolak  $H_0$  dan terima  $H_1$  jika  $RU_F > 5,143$ . Jika tidak demikian, terima  $H_0$ .

6. Rasio uji: agar lebih mudah, digunakan tabulasi perhitungan sebagai berikut:

Metode	Aktivitas Antioksidan					
	$x_i$	$x_j$	$x_k$	$x_i^2$	$x_j^2$	$x_k^2$
Sonikasi	0.9524	0.9541	0.9598	0.9072	0.9103	0.9212
Microwave	0.9259	0.9252	0.9255	0.8572	0.8560	0.8565
Tekanan tinggi	0.9512	0.9453	0.9491	0.9048	0.8936	0.9008
Total	2.8295	2.8246	2.8343	2.6691	2.6599	2.6784
GT	8.4885			8.0075		

$$SS_{tot} = \sum (x)^2 - \left( \frac{GT^2}{T} \right) = 8,075 - \left( \frac{8,4885^2}{9} \right) = 0,001521$$

$$SS_{treat} = \frac{\left( \sum x_{ij} MAE \right)^2 + \left( \sum x_{ij} Sonikasi \right)^2 + \left( \sum x_{ij} HP \right)^2}{k} - \left( \frac{GT^2}{T} \right)$$

$$= \frac{(2.8295)^2 + (2.8246)^2 + (2.8343)^2}{3} - \left( \frac{8,4885^2}{9} \right)$$

$$= 0,001474$$

$$SS_{err} = SS_{tot} - SS_{treat} = 0,000047$$

Sumber ragam	SS	df	$\mu S \left( \frac{SS}{df} \right)$	$F \left( \frac{SS_{treat}}{SS_{err}} \right)$
Perlakuan	0,001474	2	0.000737	92.6351668
Error	0,000047	6	$7,95 \times 10^{-6}$	
Total	0,001521	8		

7. Pengambilan keputusan

Karena  $RU_F > 5,143$ , maka  $H_0$  = aktivitas antioksidan dari ekstrak daun simpur tidak dipengaruhi oleh metode ekstraksi ditolak. Hal ini berarti metode ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan yang didapatkan.