



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK  
ETANOL DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides L.*)  
MELALUI EKSTRAKSI GELOMBANG MIKRO**

**SKRIPSI**

**TRIO HADIWIBOWO  
0606076835**

**FAKULTAS TEKNIK  
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA  
DEPOK  
JULI 2010**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK  
ETANOL DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides L.*)  
MELALUI EKSTRAKSI GELOMBANG MIKRO**

**SKRIPSI**

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

**TRIO HADIWIBOWO**  
**0606076835**

**FAKULTAS TEKNIK  
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA  
DEPOK  
JULI 2010**

## **HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS**

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

**Nama : Trio Hadiwibowo**

**NPM : 0606076835**

**Tanda Tangan :**

**Tanggal : 5 Juli 2010**

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Trio Hadiwibowo

NPM : 0606076835

Program Studi : Teknik Kimia

Judul Skripsi : Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bandotan  
(*Ageratum conyzoides L.*) Melalui Ekstraksi Gelombang Mikro.

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 : Ir. Rita Arbianti, M.Si

(  )

Pembimbing II : Tania Surya Utami, S.T., M.T.

(  )

Penguji : Prof. Dr. Ir. Anondho Wijanarko, M.Eng.

(  )

Penguji : Dr. Heri Hermansyah, S.T., M.Eng

(  )

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 5 Juli 2010

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini ditulis untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik Program Studi Teknik Kimia pada Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Saya ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Widodo Wahyu Purwanto, DEA., selaku kepala Departemen Teknik Kimia FTUI.
2. Ir. Yuliusman M.Eng, selaku kordinator mata kuliah skripsi.
3. Ir. Rita Arbianti, M.Si., dan Tania Surya Utami, S.T., M.T., selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu dan tenaganya untuk membimbing saya dalam penyusunan skripsi ini;
4. Kedua orangtua dan kakak saya yang senantiasa mendoakan dan mendukung saya baik secara moril maupun materil;
5. Dwi Agustino M. dan Teman-teman saya sesama mahasiswa Departemen Teknik Kimia FTUI khususnya angkatan 2006 atas kebersamaan dan persahabatannya selama ini.
6. Teman-teman di Laboratorium Bioproses Departemen Teknik Kimia FTUI yang memberikan banyak motivasi dan kebersamaan.
7. Pihak-pihak lain yang telah membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Saya menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan dikarenakan masih terbatasnya ilmu yang saya miliki. Oleh karena itu saya mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan makalah ini maupun diri saya sendiri di waktu yang akan datang. Akhir kata, saya berharap skripsi ini mampu memberikan peranan dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi siapapun yang membacanya.

Depok, 5 Juli 2010

Penulis

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

---

---

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

Nama : Trio Hadiwibowo  
NPM : 0606076835  
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:

**Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Melalui Ekstraksi Gelombang Mikro**

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 tanpa meminta izin dari 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 : 5 Juli 2010

Yang menyatakan

(Trio Hadiwibowo)

## ABSTRAK

Nama : Trio Hadiwibowo  
Program Studi : Teknik Kimia  
Judul : Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Melalui Ekstraksi Gelombang Mikro

Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk menunda dan mencegah oksidasi. Tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) diteliti memiliki beberapa konsitituen yang mengandung antioksidan, seperti senyawa flavanoida & alkaloida. Pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi daun bandotan untuk memperoleh ekstrak kasar. Untuk memperoleh ekstrak kasar digunakan ekstraksi berbantu gelombang mikro dengan pelarut etanol. Parameter yang divariasikan berupa volume pelarut (20, 40, 60, 80, dan 100 mL) dan waktu ekstraksi (5, 10, 15, 20, dan 25 menit). Pada volume pelarut 100 mL dan waktu ekstraksi 15 menit, diperoleh aktivitas antioksidan terbaik, sebesar 73,21 % dan waktu 20 menit untuk yield terbesar sebesar 10,28 %.

Kata kunci :

Aktivitas Antioksidan, *Ageratum conyzoides L.*, Ekstraksi Gelombang Mikro (MAE), *Carotene Bleaching*.

## ABSTRACT

Name : Trio Hadiwibowo  
Study Program : Teknik Kimia  
Title : Antioxidant Activity Determining of Ethanolic Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Leaves Extract by Microwave-assisted Extraction

Antioxidants are compounds that have the ability to delay and prevent oxidation. Bandotan plant (*Ageratum conyzoides L.*) has been studied contain some constituent which have antioxidant activity, such as flavanoids & alkaloids compounds. In this study will be conducted extraction to obtain crude extract of bandotan leaves. Microwave assisted extraction with ethanol as solvent is used to obtain the crude extract. Varied parameters such as volume of solvent (20, 40, 60, 80, and 100 mL) and extraction time (5, 10, 15, 20, and 25 minutes). At 100 mL solvent volume and extraction time 15 minutes, obtained the best antioxidant activity amounted to 73.21 % and 20 minutes for the largest yield amounted to 10,28 %.

Keywords:

Antioxidant Activity, *Ageratum conyzoides L.*, Microwave Assisted-Extraction (MAE), Carotene Bleaching.

## DAFTAR ISI

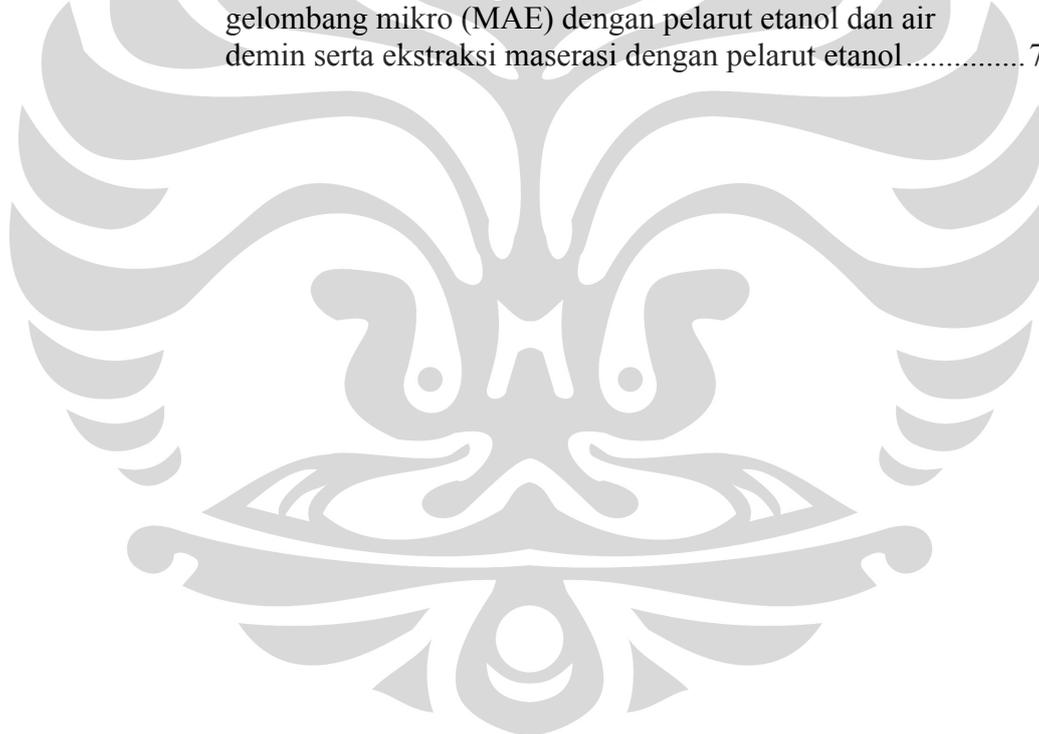
HALAMAN SAMBUNG.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR NOTASI.....	xv
<b>1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Masalah.....	4
1.5 Sistematika Penulisan.....	5
<b>2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Bandotan ( <i>Ageratum conyzoides L.</i> ).....	6
2.2 Antioksidan.....	7
2.2.1 Klasifikasi Antioksidan Berdasarkan Sumber.....	8
2.2.2 Klasifikasi Antioksidan Berdasarkan Mekanisme Kerja.....	10
2.2.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode <i>Carotene Bleaching</i> .....	11
2.3 Ekstraksi Padat-Cair.....	14
2.3.1 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Laju Ekstraksi.....	15
2.3.2 Perpindahan Massa: Persamaan kesetimbangan dan Kinetika.....	16
2.4 Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro.....	19
2.4.1 Teori umum Gelombang Mikro.....	19
2.4.2 Prinsip Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro.....	23
2.4.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro.....	26
2.5 Metode Permodelan Ekstraksi Gelombang Mikro.....	29
2.5.1 Permodelan Ekstraksi dengan Pendekatan Ekstraksi Padat Cair.....	29
2.5.2 Permodelan Ekstraksi dengan <i>Response Surface Methodology (RSM)</i> .....	31
2.6 <i>State of The Art</i> .....	32
2.6.1 Penelitian Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro.....	32
2.6.2 Penelitian <i>Ageratum conyzoides L.</i> .....	35
<b>3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>38</b>
3.1 Rancangan Penelitian.....	38

3.1.1 Skema Alat .....	38
3.1.2 Diagram Alir Penelitian .....	39
3.2 Variable Bebas dan Variable Terikat .....	40
3.3 Peralatan dan Bahan .....	40
3.3.1 Peralatan .....	40
3.3.2 Bahan – bahan .....	41
3.4 Prosedur Penelitian.....	41
3.4.1 Tahap Preparasi Simplisis .....	41
3.4.2 Tahap Ekstraksi Maserasi.....	42
3.4.3 Tahap Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro.....	42
3.4.4 Tahap Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode <i>Carotene Bleaching</i> .....	44
<b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>46</b>
4.1 Analisis Prosedur Penelitian.....	46
4.1.1 Tahap Preparasi Sampel Tumbuhan <i>Ageratum conyzoides L.</i> ....	46
4.1.2 Tahap Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro.....	47
4.1.3 Tahap Ekstraksi Maserasi.....	50
4.1.4 Tahap Isolasi Beta Karoten .....	50
4.1.5 Tahap Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode <i>Carotene</i> <i>Bleaching</i> .....	51
4.2 Hasil dan Analisis.....	53
4.2.1 Berat Ekstrak .....	53
4.2.2 Penentuan Laju Degradasi Beta Karoten.....	56
4.2.3 Aktivitas Antioksidan.....	58
4.3 Perbandingan Hasil Ekstraksi Gelombang Mikro dengan Pelarut Etanol dan Air Demineralisasi serta Ekstraksi Maserasi .....	68
<b>KESIMPULAN.....</b>	<b>73</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>75</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>78</b>

## DAFTAR GAMBAR

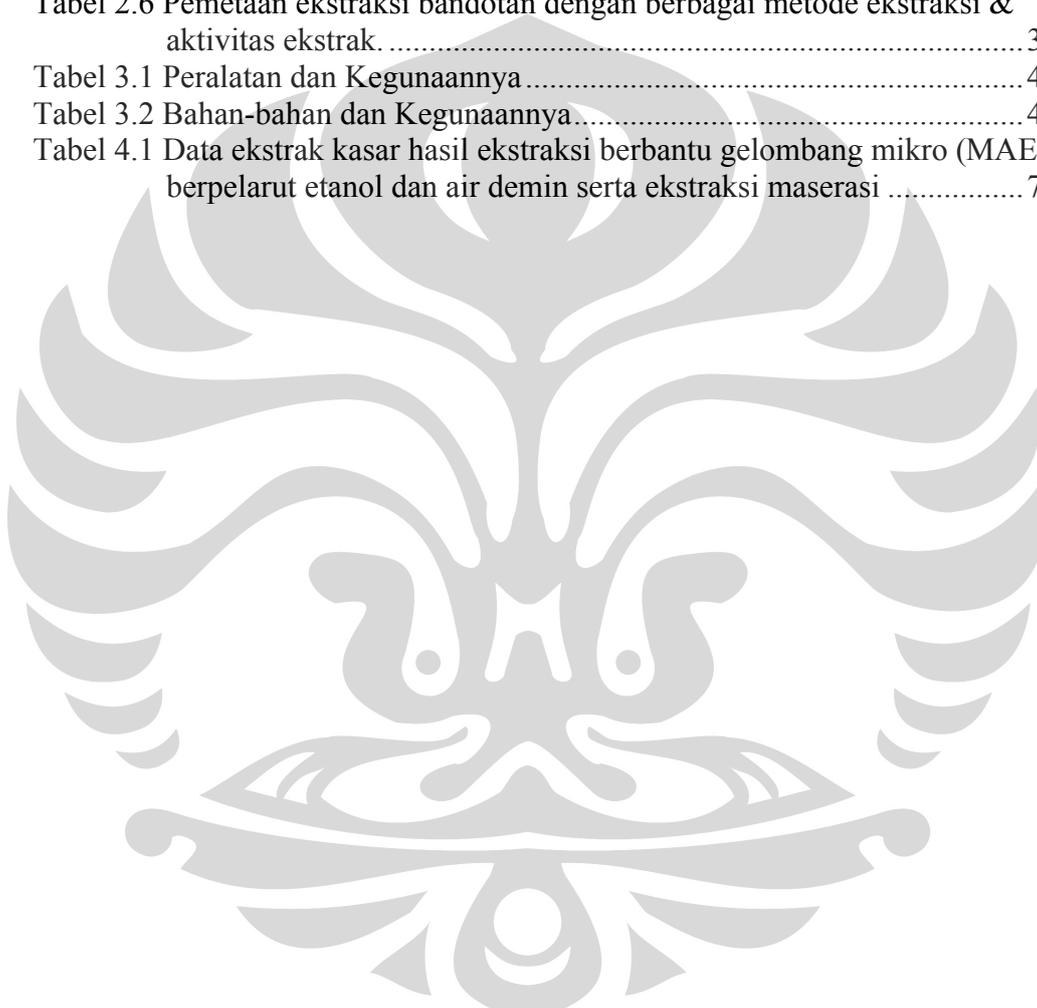
Gambar 2.1.	Tumbuhan bandotan dan <i>Ageratum conyzoides L.</i> .....	7
Gambar 2.2.	Struktur molekul senyawa $\beta$ -karoten.....	12
Gambar 2.3.	Mekanisme Reaksi senyawa karoten dengan radikal bebas.....	13
Gambar 2.4.	Panjang gelombang optimum yang diserap betakaroten.....	13
Gambar 2.5.	Gelombang elektromagnetik.....	19
Gambar 2.6.	Pembagian jenis gelombang elektromagnetik.....	20
Gambar 2.7.	Perbedaan antara; (a) pemanasan konvensional dan (b) pemanasan dengan gelombang mikro.....	22
Gambar 2.8.	Efek gelombang mikro pada air (a.) sesudah adanya gelombang mikro; (b.) sebelum adanya gelombang mikro.....	24
Gambar 3.1,	Peralatan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro.....	38
Gambar 3.2.	Diagram alir penelitian.....	39
Gambar 4.1.	Susunan peralatan ekstraksi berbantu gelombang mikro tanpa sistem refluks.....	48
Gambar 4.2.	Reaktor kaca dan penutup reaktor kaca untuk ekstraksi gelombang mikro.....	49
Gambar 4.3	Persen berat ekstrak kasar per berat simplisia yang dihasilkan dari ekstraksi (t = 15 menit) dengan variasi volume pelarut etanol.....	54
Gambar 4.4	Persen Berat ekstrak kasar per berat simplisia yang dihasilkan dengan variasi waktu ekstraksi (volume pelarut 100 mL).....	55
Gambar 4.5.	Reaksi oksidasi beta karoten.....	56
Gambar 4.6.	Reaksi beta karoten dengan radikal.....	56
Gambar 4.7.	Laju degradasi ekstrak biji coklat (ekstrak etanol) dengan metode <i>carotene bleaching</i> .....	58
Gambar 4.8.	Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun <i>Ageratum conyzoides L.</i> dari ekstraksi variasi volume pelarut etanol.....	59
Gambar 4.9	Perubahan konsentrasi betakaroten selama waktu inkubasi dalam sistem betakaroten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun <i>Ageratum conyzoides L.</i> dari ekstraksi variasi volume pelarut etanol.....	60
Gambar 4.10	Laju degradasi beta karoten dengan penambahan 5 % senyawa bioaktif daun <i>Ageratum conyzoides L</i> diekstrak kasar dengan variasi volume pelarut.....	61
Gambar 4.11.	Aktivitas antioksidan pada sampel uji variasi volume pelarut etanol.....	63
Gambar 4.12.	Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun <i>Ageratum conyzoides L.</i> dari variasi waktu ekstraksi.....	64
Gambar 4.13	Perubahan konsentrasi betakaroten selama waktu inkubasi dalam sistem betkaroten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat	

	ekstrak kasar daun <i>Ageratum conyzoides L.</i> dari ekstraksi variasi waktu ekstraksi. ....	65
Gambar 4.14	Laju degradasi beta karoten dengan penambahan 5 % senyawa bioaktif daun <i>Ageratum conyzoides L.</i> yang diekstrak kasar dengan variasi waktu ekstraksi .....	66
Gambar 4.15.	Aktivitas antioksidan pada sampel uji variasi volume pelarut etanol. ....	67
Gambar 4.16	Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun <i>Ageratum conyzoides L.</i> dari ekstraksi variasi pelarut. ....	69
Gambar 4.17.	Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun <i>Ageratum conyzoides L.</i> dari ekstraksi berbantu gelombang mikro dan maserasi.....	70
Gambar 4.18	Perubahan konsentrasi betakaroten selama waktu inkubasi dalam sistem betkaroten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun <i>Ageratum conyzoides L.</i> dari ekstraksi gelombang mikro (MAE) dengan pelarut etanol dan air demin serta ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol.....	71



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hierarki taksonomi bandotan ( <i>Ageratum conyzoides L.</i> ).....	6
Tabel 2.2 Foton gelombang mikro <i>Brownian motion</i> dan energi ikatan kimia	21
Tabel 2.3 Konstanta fisik untuk beberapa pelarut.....	23
Tabel 2.4 Laju pemanasan dan viskositas pelarut.....	25
Tabel 2.4 Titik didih dan temperatur dalam gelombang mikro pada tekanan 175 psig untuk pelarut yang berbeda-beda.....	28
Tabel 2.5 Ekstraksi bahan alam dengan bantuan gelombang mikro.....	34
Tabel 2.6 Pemetaan ekstraksi bandotan dengan berbagai metode ekstraksi & aktivitas ekstrak.....	37
Tabel 3.1 Peralatan dan Kegunaannya.....	40
Tabel 3.2 Bahan-bahan dan Kegunaannya.....	41
Tabel 4.1 Data ekstrak kasar hasil ekstraksi berbantu gelombang mikro (MAE) berpelarut etanol dan air demin serta ekstraksi maserasi.....	72



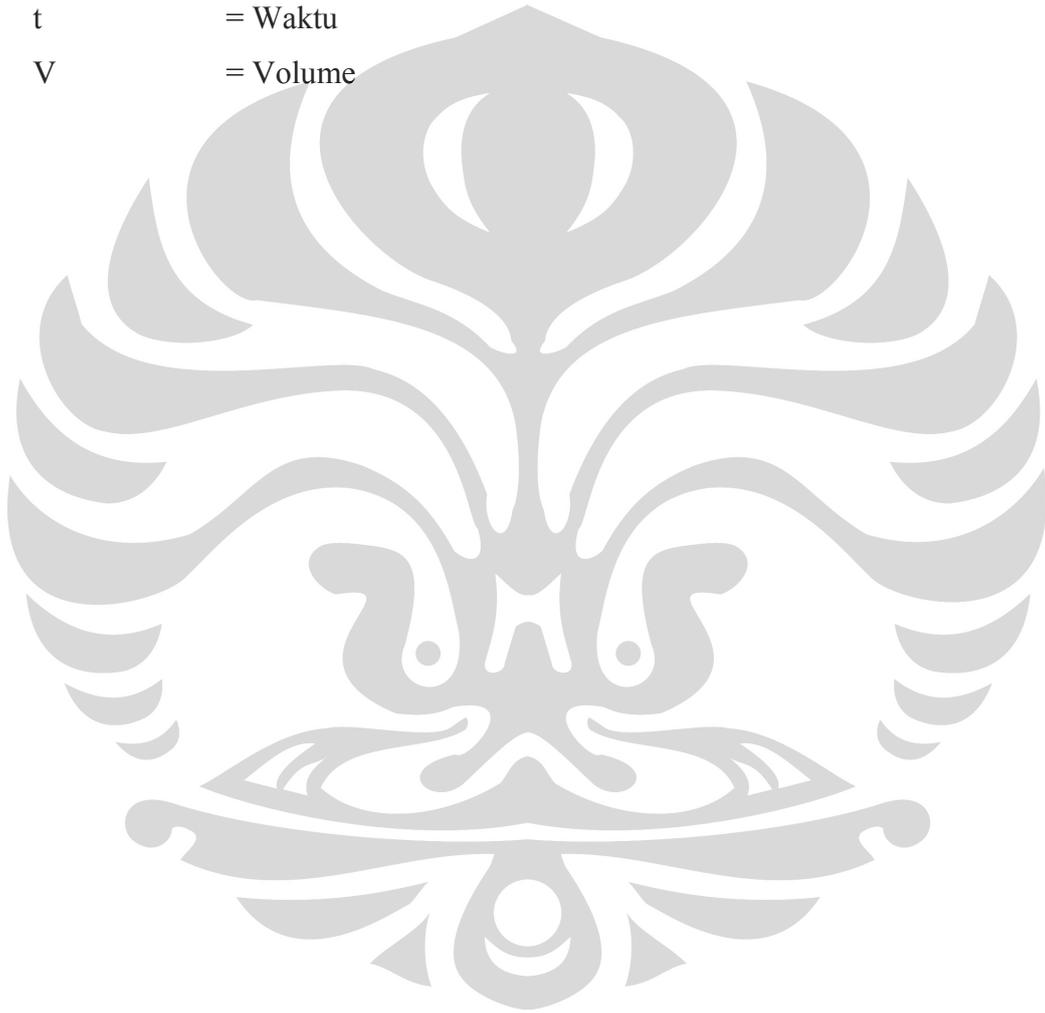
## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Berat Ekstrak dan Persen Berat Ekstrak Per berat Simplisia .....	78
Lampiran 2. Data Absorbansi Pada Uji Aktivitas Antioksidan dan nilai rata- ratanya.....	78
Lampiran 3. Konsentrasi Beta Karoten pada Sistem Beta Karoten-Minyak Goreng yang Ditambahkan Ekstrak Kasar Daun Bandotan pada Waktu Inkubasi Selama 120 Menit.....	80
Lampiran 3. Aktivitas Antioksidan .....	81
Lampiran 4. Laju Degradasi pada Sampel Uji dan Kontrol.....	82



## DAFTAR NOTASI

Abs	= Nilai besar Absorbansi
C	= Konsentrasi
M	= Massa
R	= Laju
Solv	= Pelarut
t	= Waktu
V	= Volume



# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang Masalah

Telah diketahui selama bertahun-tahun bahwa antioksidan mencegah oksidasi dari makanan dan memiliki peranan penting dalam melindungi perkembangan penyakit kardiovaskular dan kanker (ballard, 2008). Sebuah senyawa antioksidan dapat didefinisikan sebagai senyawa yang ketika hadir dalam konsentrasi yang kecil bila dibandingkan dengan substrat yang dapat teroksidasi, secara signifikan memperlambat atau mencegah oksidasi dari substrat (Shahidi, 1997).

Cara kerja senyawa antioksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil (chem-is-try.org, 2010). 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. Keadaan stres oksidatif membawa pada kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh, menyebabkan terjadinya percepatan proses penuaan dan munculnya penyakit.

Antioksidan dapat diperoleh secara alami maupun buatan. Antioksidan yang disintesis melalui reaksi kimia seperti *Butylated Hydroxyanisole* (BHA) dan *Butylated Hydroxytoluene* (BHT). Namun dari antioksidan sintetik tersebut beberapa penggunaannya telah banyak dilarang karena memiliki efek samping. Di Uni Eropa antioksidan sintetik seperti BHT, BHA dan galat tidak diizinkan penggunaannya pada makanan untuk bayi dan anak-anak (European Parliament and Council Directive No. 95/2/EC, 1995). Senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan pada umumnya dapat diperoleh dari bagian-bagian tumbuhan seperti buah daun, akar, biji, dan kulit pohon yang merupakan sumber senyawa antioksidan alami. (Pratt, 1990)

Juga telah diketahui Indonesia merupakan negara yang memiliki kekayaan tanaman hayati terbesar di dunia setelah Brazil. Namun hanya sebagian kekayaan hayati Indonesia yang dimanfaatkan. Hutan tropis Indonesia sendiri terdapat 30.000 spesies tumbuhan. Dari jumlah tersebut sekitar 9.600 spesies diketahui berkhasiat obat, tetapi baru 200 yang dimanfaatkan sebagai bahan baku pada industri obat. (Soemiyati, 2009). Bandotan atau dalam bahasa latin *Ageratum conyzoides* L. merupakan salah satu dari banyak sumber hayati yang belum dimanfaatkan dan belum banyak diteliti di Indonesia sejauh ini.

Bandotan atau *Ageratum conyzoides* L. merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Tengah, yang kini dapat ditemukan di beberapa negara tropis dan sub-tropis (Baker, 1965). Bandotan memiliki karakteristik fitokimia dengan kandungan metabolit sekunder yang termasuk di dalamnya seperti senyawa flavanoida, alkaloida, kumarin, minyak atsiri dan tannin (Okunade, 2002). Secara tradisional bandotan digunakan sebagai obat penyembuhan luka memar dan luka bakar, bakteriosida, obat demam, obat diare, anti-inflamasi, dan obat rematik, meskipun penggunaannya bervariasi di berbagai daerah. Berdasarkan penelitian Nyunai Nyemb ekstrak tanaman bandotan dengan air distilasi diketahui melalui pengujiannya pada mencit diabetes memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mencegah kerusakan peroksidatif (Nyemb, 2009).

Perolehan senyawa antioksidan dari daun *Ageratum conyzoides* atau bandotan dapat dilakukan melalui proses ekstraksi, seperti metode ekstraksi maserasi, soklet, sonikasi, tekanan tinggi dan *supercritical*. 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 *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) merupakan ekstraksi yang memanfaatkan fluida superkritis 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 sekitar 40 mL dan mempersingkat waktu ekstraksi sekitar 15-10 menit dengan ekstrak yang didapatkan lebih banyak serta relatif lebih murah (Dean, 1998).

## 1.2 Rumusan Masalah

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

1. Bagaimana metode ekstraksi dengan gelombang mikro dengan pelarut etanol dapat memperoleh ekstrak kasar daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) yang memiliki aktivitas antioksidan?

2. Bagaimana pengaruh volume pelarut dan waktu ekstraksi terhadap aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak mentah daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) dengan menggunakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro?
3. Bagaimana laju degradasi antara betakaroten dalam sistem beta karoten-minyak goreng dengan adanya penambahan zat ekstrak kasar daun bandotan yang diperoleh melalui metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dengan pelarut etanol?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah:

1. Menganalisa aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak mentah daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) melalui metode ekstraksi dengan bantuan gelombang.
2. Mengkaji pengaruh volume etanol sebagai pelarut dan waktu ekstraksi terhadap aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak mentah daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*)
3. Menentukan laju degradasi antara betakaroten dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan dengan zat yang dihasilkan melalui metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro sebagai parameter pengujian aktivitas senyawa antioksidan.

### 1.4 Batasan Masalah

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

1. Sampel yang akan diekstrak adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) yang diperoleh dari kebun tanaman obat Badan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor, Jawa Barat pada pertengahan bulan Maret 2010. Sampel akan diekstraksi dengan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dan pelarut etanol.
2. Uji aktivitas senyawa antioksidan dari ekstrak mentah hasil ekstraksi dengan menggunakan uji *caroten bleaching*.

3. Penentuan laju degradasi antara betakaroten dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan dengan zat ekstrak yang dihasilkan melalui metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro sebagai parameter pengujian aktivitas senyawa antioksidan.

## 1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan seminar ini adalah sebagai berikut:

### BAB 1 PENDAHULUAN

Berisi pendahuluan yang terdiri dari latar belakang, rumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah dan sistematika tulisan.

### BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

Berisi tinjauan pustaka yang membahas tentang penjelasan umum mengenai antioksidan; klasifikasinya berdasarkan sumber dan mekanisme kerja serta uji aktivitas antioksidan dengan metode *Carotene Bleaching*. Dilanjutkan dengan pembahasan mengenai tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) Kemudian dilakukan pembahasan mengenai ekstraksi padat-cair dan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro. Diakhiri dengan penjelasan *state of the art* dari penelitian yang dilakukan

### BAB 3 METODE PENELITIAN

Berisi diagram alir penelitian, peralatan, bahan, dan prosedur yang digunakan dalam penelitian.

### BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Berisi perumusan hasil penelitian dan analisis yang berkaitan dengan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, variabel-variabel yang divariasikan serta hasil pengujian aktivitas antioksidan.

### BAB 5 KESIMPULAN

Berisi kesimpulan dari hasil penelitian.

## BAB 2 TINJUAN PUSTAKA

### 2.1 Bandotan (*Ageratum conyzoides L.*)

*Ageratum conyzoides L.*, yang termasuk dalam familia asteraceae, merupakan tanaman herba tahunan dengan sejarah yang panjang pada penggunaannya sebagai obat tradisional di beberapa negara di dunia dan juga memiliki bioaktivitas sebagai aktivitas insektisida dan nematosida. *Ageratum* tersebar dari bagian tenggara Amerika Utara hingga ke Amerika Tengah, tetapi pusat asal usul keberadaanya adalah Amerika Tengah dan Kepulauan Karibia. Sekarang, *Ageratum conyzoides L.* juga ditemukan di beberapa negara di daerah tropis dan subtropis, termasuk Brazil (Ming, 1999). Berikut heirarki taksonomi dari tumbuhan bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) yang disajikan pada tabel 2.1.

**Tabel 2.1** Hierarki taksonomi bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) (Wikipedia, 2010).

<b>Kingdom</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sub-kingdom</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Divisio</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Kelas</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sub-kelas</b>	<i>Asteridae</i>
<b>Ordo</b>	<i>Asterales</i>
<b>Familia</b>	<i>Asteraceae</i>
<b>Genus</b>	<i>Ageratum</i>
<b>Spesies</b>	<i>Ageratum conyzoides L.</i>

Tumbuhan *Ageratum conyzoides L.* merupakan tumbuhan herba menahun yang tumbuh tegak dengan tinggi 30 hingga 80 cm; batang diliputi bulu halus berwarna putih, jika menyentuh tanah akan mengeluarkan akar. Daun tunggal bertangkai, letaknya saling berhadapan dan bersilang, helaian daun bulat telur dengan pangkal membulat dan ujung runcing, tepi bergerigi, panjangnya satu – sepuluh cm, lebar 0,5 – 6 cm, kedua permukaan daun berambut panjang dengan kelenjar yang terletak di bawah permukaan bawah daun, warnanya hijau. Bunga

majemuk berkumpul tiga atau lebih, berbentuk malai rata yang keluar dari ujung tangkai, warnanya putih. Panjang bonggol bunga 6 – 8 mm, dengan tangkai yang berambut, Buah bulat panjang berwarna hitam dan bentuknya kecil. Penampakan tumbuhan bandotan atau *Ageratum conyzoides* L. pada gambar 2.1



Gambar 2.1. Tumbuhan bandotan dan *Ageratum conyzoides* L.. (Wikipedia, 2010).

Penggunaan bandotan sebagai obat tradisional telah dilakukan secara luas di berbagai budaya di seluruh dunia meskipun pengaplikasian berbeda di setiap daerah. Di Afrika tengah, bandotan digunakan untuk mengobati pneumonia, tetapi kebanyakan digunakan untuk mengobati demam dan luka bakar (Durodola, 1977). Tumbuhan *Ageratum conyzoides* L. merupakan tanaman pioneer yang tumbuh di daerah yang rusak yang kemudian menjadi tanaman yang dominan sehingga akan membentuk koloni tersendiri dan memiliki kemampuan untuk bertahan terhadap serangga dan penyakit (Liang dan Hunag, 1994). Meskipun berbahaya untuk tanaman pangan seperti padi-padian dengan menginvasi lahan pertanian dan mengganggu komposisi dari komunitas yang ada, bandotan telah digunakan di beberapa negara sebagai obat tradisional. Penggunaan bandotan sebagai obat tradisional dilakukan karena diidentifikasi bandotan memiliki senyawa anti-mikroba, anti-serangga, dan sifat-sifat anti-nematoda (Ming, 1999 dan Okunade, 2002).

## 2.2 Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang ketika ada dalam konsentrasi yang rendah jika dibandingkan dengan substrat yang dapat teroksidasi secara signifikan dapat menunda dan mencegah oksidasi dari substrat (Halliwell

dan Guttridge, 1989). Antioksidan berhubungan dengan perlindungan dari substrat oksidasi tertentu atau pembentukan dari oksidasi tertentu.

### **2.2.1 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 Toluen (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. Sumber-sumber antioksidan alami adalah:

##### **❖ 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.

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. Tokoferol sendiri akan berubah menjadi fenoksi-radikal, tokoferol kuinon, dimer, dan bentuk alkilnya. Ketika dalam bentuk fenoksi-radikal, bila terdapat suatu reduktor, misalnya vitamin C, dengan mudah akan berubah menjadi tokoferol kembali, dengan demikian pemakaian bersama antara tokoferol dengan vitamin C akan memberikan efek sinergis.

#### ❖ Asam Askorbat

Asam askorbat atau vitamin C mudah dioksidasi menjadi asam dehidroaskorbat. Dengan demikian maka vitamin C juga berperan dalam menghambat reaksi oksidasi yang berlebihan dalam tubuh dengan cara bertindak sebagai antioksidan. Vitamin C terkandung dalam sayuran berwarna hijau dan buah-buahan.

#### ❖ Beta Karoten

Beta karoten adalah sumber utama vitamin A yang sebagian besar ada dalam tumbuhan. Selain melindungi buah-buahan dan sayuran berwarna kuning atau hijau gelap dari bahaya radiasi matahari, beta karoten juga berperan serupa dalam tubuh manusia. Beta karoten terkandung dalam wortel, brokoli, kentang, dan tomat.

#### ❖ Flavonoida

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang terdapat pada teh, buah-buahan, sayuran, anggur, bir dan kecap. Aktivitas antioksidan flavonoid tergantung pada struktur molekulnya terutama gugus prenil  $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2$ . Dalam penelitian menunjukkan bahwa gugus prenil flavonoid dikembangkan untuk pencegahan atau terapi terhadap penyakit-penyakit yang diasosiasikan dengan radikal bebas. Senyawa antioksidan alami polifenolik ini

adalah multifungsional dan dapat beraksi sebagai (a) pereduksi, (b) penangkap radikal bebas, (c) pengkelat logam, (d) peredam terbentuknya singlet oksigen.

### 2.2.2 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:

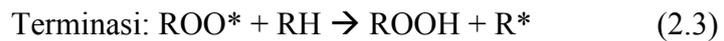


Radikal bebas ini akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida yang sangat reaktif. Reaksi ini merupakan tahap propagasi, reaksinya:



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).

#### 2.2.3 Pengujian 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

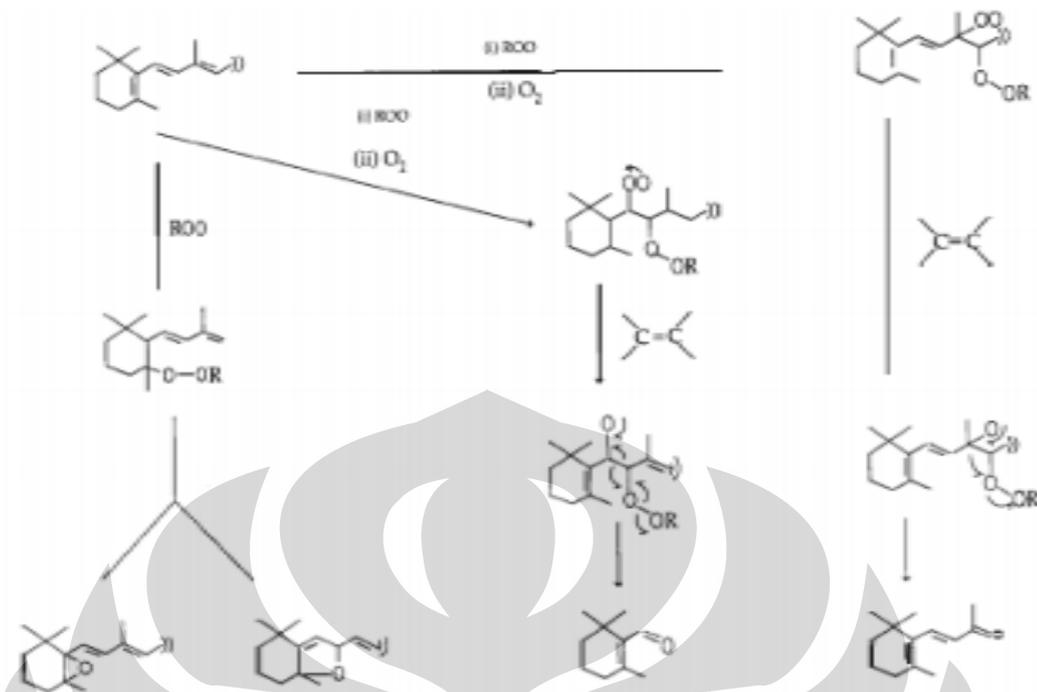
adalah radikal DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan melalui donor hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna dari ungu menjadi kuning (Othman, 2005). Metode FRAP mengukur pengurangan warna pada reaksi antioksidan dengan ferric tripyridyltriazine ( $\text{Fe}^{3+}$  /TPTZ) kompleks menghasilkan 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 2.2.



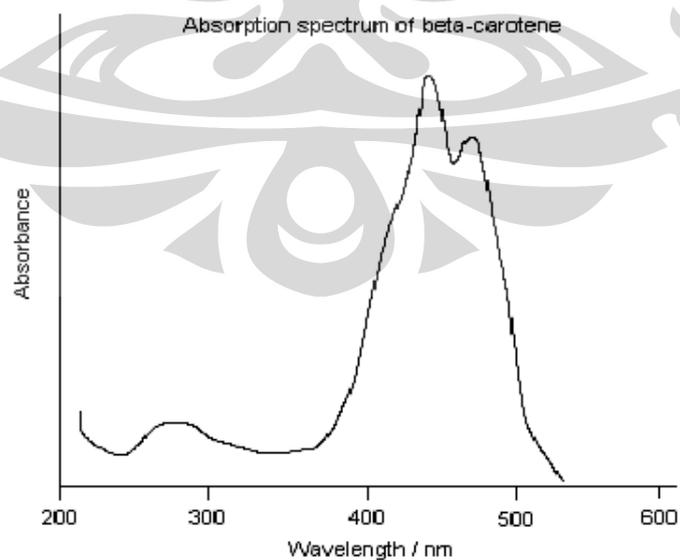
Gambar 2.2. Struktur molekul senyawa  $\beta$ -karoten. (chm.bris.ac.uk, 2009)

Berikut skema yang menunjukkan reaksi antara molekul karoten dengan radikal bebas seperti  $\text{ROO}^*$ .



**Gambar 2.3. Mekanisme Reaksi senyawa karoten dengan radikal bebas. (Burton, 1988).**

Pengukuran penurunan intensitas warna karoten dilakukan dengan pembacaan absorbansi, seperti pada Gambar 2.4. 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 hidropoksida akan dinetralkan oleh antioksidan.



**Gambar 2.4. Panjang gelombang optimum yang diserap betakaroten. (chem.bris.ac.uk, 2009)**

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

$$AA = 100 \left[ 1 - \frac{(A_0 - A_t)}{(A_0^0 - A_t^0)} \right] \quad (2.4)$$

Dimana:

$A_0$  dan  $A_0^0$  = 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

### 2.3 Ekstraksi Padat-Cair

Ekstraksi padat – cair atau ekstraksi dengan pelarut terjadi dengan proses pelarutan selektif dari satu atau lebih pelarut dari matriks padatan dengan cairan pelarut. Prinsip dasar ekstraksi adalah berdasarkan kelarutan. Untuk memisahkan zat analit yang terdapat dari matriks padatan, maka fasa padat dikontakkan dengan fasa cair. Pada kontak dua fasa tersebut, zat terlarut difusi dari fasa padat ke fasa cair sehingga terjadi pemisahan dari matriks padatan.

Terdapat beberapa metode dalam ekstraksi padat – cair, seperti metode maserasi, soklet, tekanan tinggi, fluida super kritis, dan gelombang mikro. Dari metode yang telah disebutkan di atas, metode yang paling konvensional adalah maserasi. Pada metode maserasi matriks padat direndam ke dalam cairan pelarut selama waktu tertentu dan biasanya disertai pengadukan. Metode soklet memiliki prinsip yang hampir menyerupai distilasi, matriks padatan dimasukkan ke dalam refluks kemudian diberi kalor sehingga menghasilkan uap. Uap hasil pemanasan tadi dikondensasi untuk mendapatkan pelarut yang telah mengandung analit yang ini diperoleh. Pada metode tekanan tinggi ekstraksi dilakukan dengan memasukkan matriks padat ke dalam kolom ekstraksi kemudian dilewatkan dengan aliran pelarut bertekanan tinggi. Ekstraksi fluida superkritis merupakan

metode ekstraksi yang menyerupai metode tekanan tinggi, tetapi menggunakan pelarut yang berada dalam kondisi fluid super kritis. Fluida superkritis memiliki sifat pelarut yang baik, viskositas rendah dan koefisien difusi yang tinggi, sehingga memudahkan perpindahan massa dari matriks padatan ke pelarut.

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 padat, berdifusi ke lapisan poros impermeabel organik menuju larutan, dan solubilisasi senyawa ke dalam pelarut (Letellier dan Budzinski, 1999).

### **2.3.1 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Laju Ekstraksi**

Berikut faktor-faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi (Miereles, 2009):

#### **1. Preparasi dari Padatan**

Struktur padatan merupakan faktor penting yang perlu dipertimbangkan. Meskipun zat yang diinginkan dapat berada di permukaan padatan, namun dibanyak kasus dijumpai bahwa zat analit yang diinginkan terletak di dalam ruang intra seluler atau bahkan struktur bagian dalam dari matriks padatan maupun sel. Salah satu kegiatan preparasi yang harus dipertimbangkan dari padatan adalah dengan menggiling padatan yang akan diekstraksi. Penggilingan sebelum melakukan ekstraksi padat – cair akan meningkatkan luas area kontak antara pelarut dan matriks padatan. Di samping itu, penggilingan juga akan membantu untuk menghancurkan struktur padatan.

#### **2. Laju difusi**

Karena adanya kompleksitas dari struktur sel, keberadaan pori, dan perbedaan ruang-ruang dalam struktur padatan, difusivitas dari material memiliki satuan: difusivitas efektif. Difusivitas efektif juga tergantung dari komposisi dan posisi dari zat yang ingin diperoleh.

### 3. Suhu

Secara normalnya, naiknya suhu akan sangat menarik untuk meningkatkan proses ekstraksi. Suhu yang lebih tinggi akan meningkatkan solubilitas zat yang ingin diperoleh dalam pelarut, meningkatnya laju difusi dari solute ke dalam pelarut akan meningkatkan laju transfer massa. Namun kenaikan suhu juga dapat juga membuat reaksi yang tidak diinginkan seperti adanya degradasi senyawa yang termolabil.

### 4. Pemilihan Pelarut

Pemilihan pelarut didasarkan beberapa faktor, seperti sifat fisiokimia dan toksisitas. Pemilihan pelarut juga harus mempertimbangkan beberapa sifat seperti selektivitas dan kemampuannya untuk melarutkan zat yang diinginkan, sebaik seperti tegangan permukaannya, viskositasnya, stabilitasnya, reaktivitasnya, dan toksisitasnya. Beberapa pelarut, seperti aseton, etanol, etil asetat, propanol dan propil asetat disetujui keberadaannya untuk mengekstraksi zat analit yang akan dikonsumsi manusia.

### 5. Kelembaban Padatan

Keberadaan air dalam matriks padatan dapat menyaingi keberadaan pelarut dalam melarutkan zat yang diinginkan, yang akan berefek pada perpindahan massa. Akan tetapi, kelembaban juga merupakan hal penting untuk memperbolehkan perpindahan dari zat yang diinginkan, seperti pada proses ekstraksi kopi. Meskipun demikian, dalam kebanyakan kasus, material padatan yang dikeringkan pada kondisi tertentu tidak akan menyebabkan degradasi dari senyawa yang diinginkan.

#### 2.3.2 Perpindahan Massa: Persamaan Kestimbangan dan Kinetika (mireles, 2009)

Ekstraksi padat cair merupakan ekstraksi dengan material terlarut di dalam matriks padatan dengan pelarut yang spesifik. Mekanisme ekstraksi dapat di jelaskan dalam langkah-langkah berikut ini; pertama, pelarut harus dipindahkan ke dalam permukaan padatan dan melapisinya. Setelah itu pelarut berpenetrasi ke

dalam matrik padatan dengan difusi. Proses difusi terjadi hingga mencapai kesetimbangan, namun kesetimbangan dalam proses ekstraksi tidak pernah mencapai kesetimbangan yang sebenarnya.

Laju dari terlarutnya solut dalam pelarut dari ekstraksi dikendalikan oleh laju perpindahan massa dari solute dari matriks padatan ke pelarut. Perpindahan dari zat terlarut ke dalam partikel padat terjadi karena adanya perbedaan konsentrasi dalam pertemuan fasa cair dan padat dan hal itu ditandai dengan difusi yang efektif. Fenomena yang terjadi dijelaskan oleh hukum fick, berikut persamaannya.

$$\frac{N_C}{A_T} = -D_{BC} \frac{dC}{dz} \quad (2.5)$$

Dimana  $N_C$  adalah laju pelarutan dari zat terlarut C dalam dalam larutan (kg/detik).  $A_T$  merupakan luas area dari *interface* antara padatan dan cairan ( $m^2$ ),  $D_{BC}$  merupakan difusivitas dari zat terlarut dalam pelarut atau padatan yang inert ( $m^2/detik$ ).  $C_c$  merupakan konsentrasi dari zat terlarut C dalam larutan ( $kg/m^3$ ), dan  $z$  merupakan jarak di dalam pori-pori matriks padatan (m).

Nilai dari koefisien difusi ( $D_{BC}$ ) biasanya berkisar antara  $10^{-9} - 10^{-10}$   $m^2/detik$ ; koefisien difusi merupakan parameter penting dalam permodelan difusi. Perpindahan massa dalam padatan tergantung dari ukuran, bentuk dan porositas. Dalam kasus ini, koefisien difusi dalam bentuk difusi efektif  $D_{CBeff}$  didefinisikan seperti berikut:

$$D_{CBeff} = \frac{\varepsilon}{\tau} D_{BC} \quad (2.6)$$

Dimana  $\varepsilon$  merupakan porositas, dan  $\tau$  merupakan tortuositas dari pori-pori. Koefisien tersebut dipengaruhi oleh sifat dari matrik padatan. Pada permukaan dari matriks padatan, perpindahan dari zat terlarut adalah sebuah perpindahan molecular dan turbulen secara simultan. Pada langkah ini, laju dari perpindahan massa dapat diekspresikan dengan persamaan berikut:

$$N_C = \frac{v dC_C}{dt} = A_T k_L (C_{cs} - C_C) \quad (2.7)$$

Dimana  $k_L$  merupakan koefisien transfer massa dalam m/detik,  $C_{cs}$  konsentrasi referensi dari zat terlarut C dalam larutan dalam  $\text{kg/m}^3$ , dan  $C_C$  merupakan konsentrasi zat terlarut C dalam larutan pada waktu t dalam  $\text{kg/m}^3$ . Dengan mengintegrasikan dari  $t = 0$  dan  $C_C = C_{co}$  ke  $t = t$  dan  $C_C = C_c$ , kita mendapatkan persamaan berikut ini:

$$\int_{C_{CO}}^{C_C} \frac{dC_C}{C_{CS} - C_C} = \frac{Ak_L}{V} \int_{t=0}^t dt \quad (2.8)$$

$$\frac{C_{CS} - C_c}{C_{CS} - C_{CO}} = e^{-(k_L A / V)t} \quad (2.9)$$

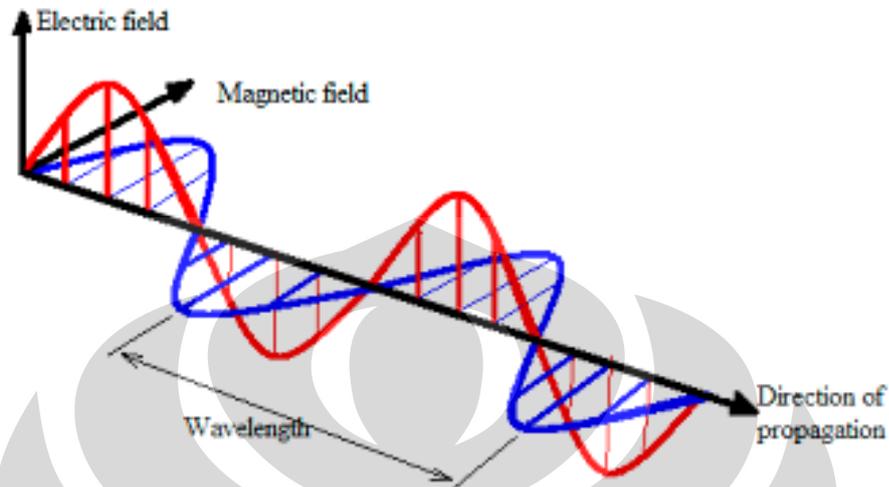
Jika pelarut yang digunakan adalah pelarut murni pada awalnya,  $C_{CO} = 0$ , sehingga kemudian

$$1 - \frac{C_c}{C_{CS}} = e^{-(k_L A / V)t} \quad (2.10)$$

$$C_C = C_{CS} \left( 1 - e^{-(k_L A / V)t} \right) \quad (2.11)$$

## 2.4 Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro

### 2.4.1 Teori Umum Gelombang Mikro



Gambar 2.5 Gelombang elektromagnetik (Mihaela, 2007)

Gelombang mikro merupakan gelombang elektromagnetik yang memiliki frekuensi berkisar antara 300 Mhz hingga 300 GHz atau yang memiliki panjang gelombang antara 1 cm dan 1 m (Singh, 2001). Gelombang elektromagnetik merupakan hasil dari dua medan, medan listrik dan medan magnet yang menyebar ke segala arah. Medan listrik dan medan magnet saling tegak lurus dan keduanya tegak lurus terhadap arah perambatan gelombang seperti yang dijelaskan pada Gambar 2.6. Gambar 2.7 menunjukkan spektrum gelombang elektromagnetik dalam frekuensi, panjang gelombang, dan energi foton serta nama yang diberikan untuk mewakili tiap daerah spektrumnya.

	CLASS	FREQUENCY	WAVELENGTH	ENERGY
Gamma rays	$\gamma$	300 EHz	1 pm	1.24 MeV
Hard X-rays	HX	30 EHz	10 pm	124 keV
Soft X-Rays	SX	3 EHz	100 pm	12.4 keV
Extreme ultraviolet	EUV	300 PHz	1 nm	1.24 keV
Near ultraviolet	NUV	30 PHz	10 nm	124 eV
Visible light	VIS	3 PHz	100 nm	12.4 eV
Near infrared	NIR	300 THz	1 $\mu$ m	1.24 eV
Moderate infrared	MIR	30 THz	10 $\mu$ m	124 meV
FIR : Far infrared	FIR	3 THz	100 $\mu$ m	12.4 meV
Radio waves:				
Extremely high freq (Microwaves)	EHF	300 GHz	1 mm	1.24 meV
Super high freq (Microwaves)	SHF	30 GHz	1 cm	124 $\mu$ eV
Ultrahigh frequency	UHF	3 GHz	1 dm	12.4 $\mu$ eV
Very high frequency	VHF	300 MHz	1 m	1.24 $\mu$ eV
High frequency	HF	30 MHz	1 dam	124 neV
Medium frequency	MF	3 MHz	1 hm	12.4 neV
Low frequency	LF	300 kHz	1 km	1.24 neV
Very low frequency	VLF	30 kHz	10 km	124 peV
Voice frequency	VF	3 kHz	100 km	12.4 peV
Extremely low frequency	ELF	300 Hz	1 Mm	1.24 peV
		30 Hz	10 Mm	124 feV

Gambar 2.6. Pembagian jenis gelombang elektromagnetik (GNU, 2005)

Frekuensi Gelombang Mikro yang paling sering digunakan secara komersial adalah 2450 MHz, dengan energi keluaran hingga 600 - 700 Watt. Panjang gelombang yang sama juga digunakan pada radar dan jaringan transmisi telekomunikasi. Untuk tidak menginterferensi penggunaan gelombang mikro untuk telekomunikasi pemanas domestik maupun industri yang menggunakan gelombang mikro dioperasikan pada 2450 MHz atau 900 MHz.

Perpindahan energi akan terjadi sebagai hasil interaksi antara pancaran gelombang elektromagnetik dan matrial yang terkena pancaran, itulah peristiwa yang dipertimbangkan sebagai absorpsi dari energi yang terjadi dalam unit diskret yang disebut quanta atau foton. Energi dari gelombang mikro atau foton ( $E$ ) dalam satuan joule merupakan hasil kali dari frekuensi dan konstanta Plank ( $h = 6.6356 \times 10^{-34}$ ). Energi yang foton yang dipancarkan gelombang mikro diberikan dalam satuan electron-volt (eV) dalam literatur;  $1 \text{ eV} = 1.6 \times 10^{-19} \text{ J}$ .

$$E = hv = \frac{hc}{\lambda} \quad (2.12)$$

Di mana

$E$  = Energi foton gelombang mikro (J)

$h$  = Konstanta Plank (Js)

$\nu$  = frekuensi (Hz)

$C$  = Kecepatan cahaya (m/s)

$\lambda$  = panjang gelombang (m)

Energi yang dibawa oleh pancaran gelombang mikro berbanding terbalik secara proposional dengan panjang gelombangnya. Pada frekuensi antara 300 Mhz dan 300 GHz energy yang dipancarkan oleh foton dari gelombang mikro sebesar  $1.2 \times 10^{-6}$  eV dan  $1,2 \times 10^{-3}$  eV (Gardiol, 1984); pada 2.45 GHz energy foton yang dipancarkan sebesar  $1 \times 10^{-5}$  eV (Will et al., 2004)

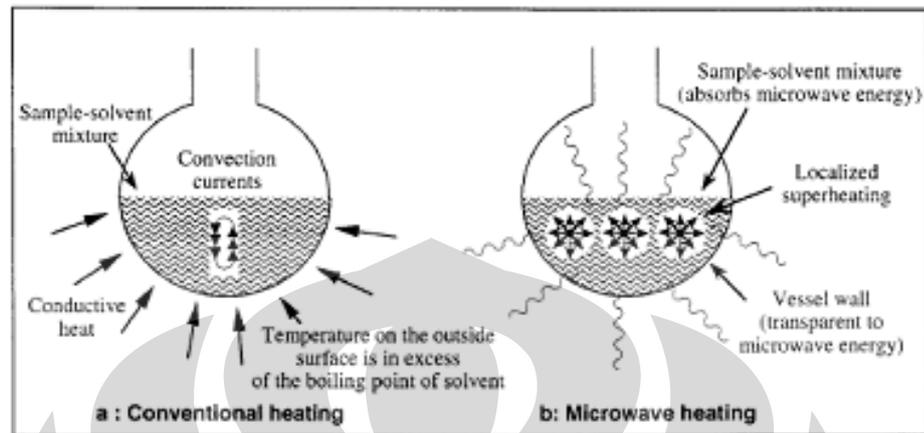
Energi gelombang mikro tidak mengionisasi. Energi yang dihasilkan tidak cukup besar untuk memotong ikatan kimia. Energinya jauh lebih kecil dari energi ikatan molekul. Seperi yang ditampilkan pada Tabel 2.2 berikut energi foton gelombang mikro lebih kecil dari Brownian motion dan ikatan kimia, sehingga tidak dapat mengganggu atau merusak senyawa kimia (Mihaela, 2007).

**Tabel 2.2. Foton gelombang mikro, *Brownian motion* dan energi ikatan kimia. (Mihaela, 2007)**

	Foton gelombang mikro	<i>Brownian motion</i>	Ikatan hidrogen	Ikatan kovalen	Ikatan ionik
Energi (eV)	$1,2 \times 10^{-6}$ $1,2 \times 10^{-3}$	0.025	0.04-0.44	5.0	7.6

Selain pengaplikasian pada komunikasi, gelombang mikro juga memiliki kemampuan untuk mengubah gelombang elektromagnetik dengan energi foton yang terkandung di dalamnya menjadi energi panas. Tidak seperti pemanasan konvensional yang bergantung pada peristiwa konduksi-konveksi yang sebagian besar energinya berpindah ke lingkungan, pemanasan pada gelombang mikro terjadi secara langsung ke target dan selektif. Energi yang dipindahkan merupakan hasil interaksi bahan yang dipanaskan dengan komponen dari medan elektromagnetik. Pemanasan gelombang mikro merupakan pemanasan volumetrik sehingga tidak tergantung pada perpindahan panas dari permukaan bahan ke

pusatnya (Mihaela, 2007). Berikut Gambar 2.7 yang menggambarkan perbedaan pemanasan gelombang mikro dengan pemanasan konvensional.



Gambar 2.7. Perbedaan antara; (a) pemanasan konvensional dan (b) pemanasan dengan gelombang mikro.

Pemanasan yang dilakukan memiliki nilai efisiensi yang bergantung pada sifat dielektrik bahan yang dipanaskan yang didefinisikan oleh dua parameter. Konstanta dielektrik ( $\epsilon'$ ) yang mewakili kepolaran dari molekul di dalam sebuah bidang elektrik. Kemudian adalah *dielectric loss factor* ( $\epsilon''$ ), mengukur efisiensi energy gelombang mikro yang diserap dengan mengubahnya menjadi panas. Rasio dari kedua parameter tersebut menghasilkan faktor disipasi ( $\delta$ ).

$$\delta = \frac{\epsilon''}{\epsilon'} \quad (2.13)$$

Faktor disipasi merupakan kemampuan dari bahan dalam menyerap gelombang mikro sehingga memanaskan molekul di sekitarnya. Air memiliki konstanta dielektrik lebih tinggi derajatnya pada absorpsi gelombang mikro. 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 pemanasan yang terpusat pada satu tempat mempunyai efek positif dan negatif, tergantung kepada matriks. Dalam beberapa kasus peristiwa ini meningkatkan difusivitas dari

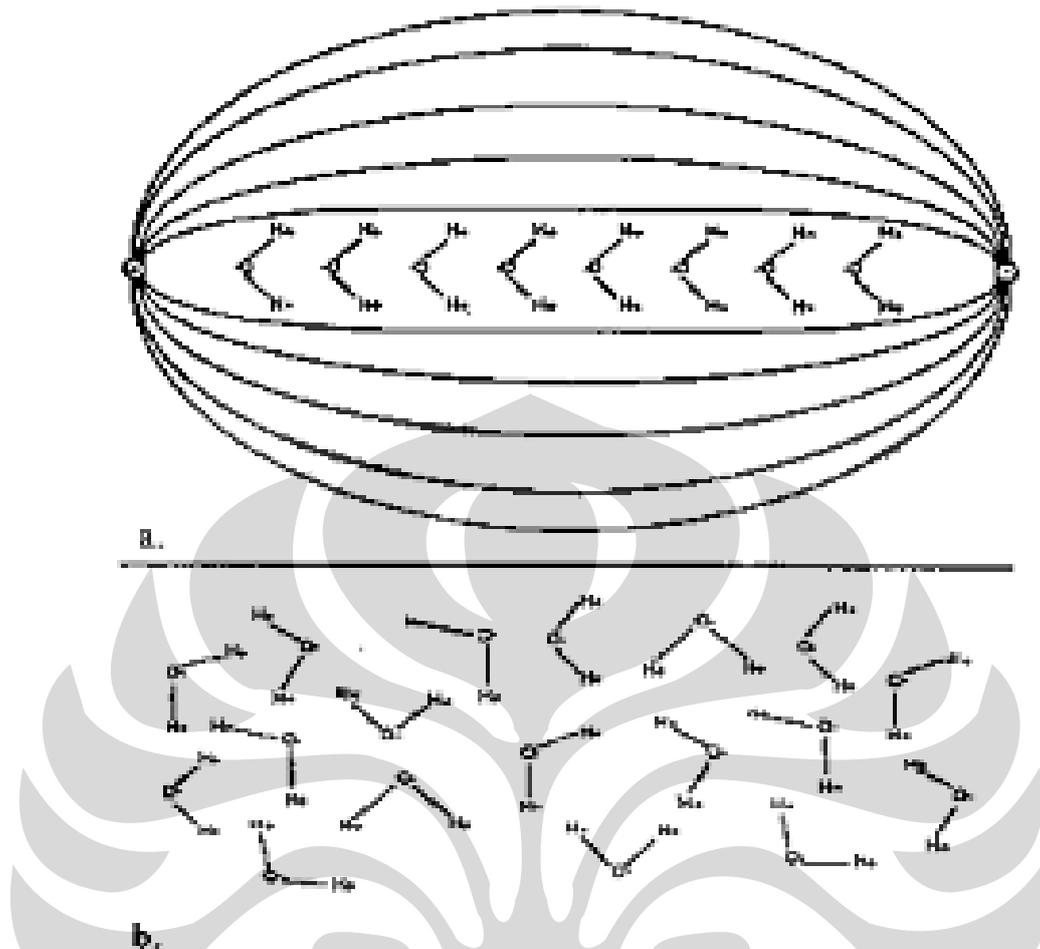
analit ke matriks, sedangkan dalam kasus lainnya pemanasan yang hebat dapat menyebabkan degradasi analit. Untuk mendapatkan distribusi panas yang maksimum melalui matriks, pemilihan pelarut paling tepat yaitu yang memiliki konstanta dielektrik dan faktor disipasi yang besar. Berikut Tabel 2.3 yang menunjukkan beberapa konstanta dielektrik dan faktor disipasi dari pelarut dari ekstraksi konvensional.

**Tabel 2.3. Konstanta fisik untuk beberapa pelarut (Miereles, 2009).**

Pelarut	Konstanta dielektrik ( $\epsilon'$ )	<i>Loss Factor</i> ( $\epsilon''$ )	Faktor disipasi ( $\delta$ ) x 10 <sup>4</sup>
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

#### **2.4.2 Prinsip Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro**

Ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro yang 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 2.8. efek gelombang mikro pada air (a.) sesudah adanya gelombang mikro; (b.) sebelum adanya gelombang mikro.**

dari gambar 2.8 terlihat pengaruh dari adanya gelombang mikro pada molekul-molekul air, molekul air yang mengalami perlakuan dengan gangguan gelombang mikro membuat molekul air menjadi lebih teratur dan berjajar. Adanya perubahan yang cepat pada perubahan medan listrik pada gelombang mikro membuat adanya penyusunan kembali dipol atau rotasi dipol. Peristiwa rotasi dipol akan mengkonversi energi dari gelombang mikro menjadi bentuk energi kalor akibat adanya rotasi molekul tersebut.

Laju pemanasan yang terjadi pada pelarut dipengaruhi oleh tiga faktor: konduksi ionik, viskositas, dan faktor *dielectric loss*. 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. Meskipun material padatan yang akan diekstrak harus dikeringkan dahulu, tetapi tetapsa aja struktur dari material padat mengandung sejumlah kelembaban secara mikroskopis. ketika sejumlah kelembaban terdapat di dalam struktur material akibat pemanasan gelombang mikro, akan terjadi evaporasi dan membuat meningkatnya tekanan dalam struktur padatan. Tekanan dalam mendorong permukaan sel dari dalam kemudian merenggangkan dan memecahkannya sehingga mempermudah proses pelepasan dari konstituen aktif dari struktur padatan dan memperbanyak hasil ekstraksi.

**Tabel 2.4. Laju pemanasan dan viskositas pelarut. (Amstrong, 1999)**

Pelarut	Titik didih (°C)	Viskositas (cP, 25°C)	Laju Pemanasan (K/detik)
Air	100	0,89	1,01
Aseton	56	0,30	2,20
Metanol	65	0,54	2,11
Etanol	78	0,69	1,20
Heksana	69	0,30	0,05
Etil asetat	77	0,43	1,78

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 atau 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.

#### **2.4.3 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro (Mandal, 2007)**

##### **1. Sifat dan volume pelarut**

Pemilihan pelarut yang tepat adalah penting untuk mendapatkan sebuah proses ekstraksi yang optimal. Pelarut yang dipilih dalam ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro didasarkan pada kelarutan analit dari interaksi antara pelarut dengan matriks padatan dan pada sifat pelarut yang dipengaruhi oleh gelombang mikro.

Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi konvensional juga dapat digunakan pada ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro. Akan tetapi, sifat dielektrik dari pelarut akan berpengaruh apabila menggunakan metode ekstraksi gelombang mikro. Sifat dielektrik dari pelarut telah diketahui memiliki peranan penting dalam pemanasan dalam ekstraksi dengan gelombang mikro. Keberhasilan dan selektivitas dari ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro secara signifikan bergantung pada konstanta dielektrik dari pelarut yang digunakan. Secara umum, dalam banyak kasus campuran pelarut dengan efisiensi pemanasan yang baik dalam gelombang mikro (dengan nilai disipasi yang tinggi) sering digunakan dan larutan etanol dan metanol merupakan yang terbaik. Etanol merupakan pelarut yang baik karena memiliki besar  $\epsilon'$  sebesar 25,7 yang merupakan pengabsorb terbaik pada gelombang mikro.

Volume pelarut yang digunakan juga tidak kalah penting. Volume pelarut yang digunakan harus cukup untuk meyakinkan bahwa seluruh matriks padatan selalu terendam dalam pelarut pada saat dilakukannya radiasi gelombang mikro. Secara umum pada perbandingan yang lebih tinggi dari volume pelarut dengan matriks padatan akan berefek pada ekstraksi konvensional, Volume pelarut dalam mengekstrak juga merupakan faktor yang penting. 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

Seperti pada metode ekstraksi lainnya, waktu juga merupakan parameter yang berpengaruh. Secara umum dengan naiknya waktu ekstraksi, jumlah analit yang terekstrak meningkat meskipun degradasi dari kualitas ekstrak mungkin terjadi. Biasanya, 15 – 20 menit cukup, tetapi 40 detik telah diketahui memberikan hasil yang lebih baik. Waktu pemancaran gelombang mikro juga dipengaruhi oleh sifat dielektrik dari pelarut. Pelarut seperti air, etanol, dan methanol mungkin akan menaikkan suhu secara drastis pada saat pemaparan yang akan beresiko pada konstituen yang labil terhadap suhu.

## 3. Daya Gelombang Mikro

Daya gelombang mikro dan waktu waktu pemancaran merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi satu sama lain. Kombinasi dari daya yang rendah atau sedang dengan pemaparan yang lebih lama akan membawa hasil yang lebih baik. Secara umum, efisiensi dari ekstraksi meningkat dengan menaikkan daya gelombang mikro dari 30 hingga 150 W. Selama waktu ekstraksi yang singkat (1 dan 2 menit), zat analit yang diperoleh meningkat dengan dinaikkannya daya oven gelombang mikro. Daya yang tinggi dengan pancaran gelombang mikro akan menyebabkan resiko degradasi termal dari zat yang diinginkan. Pada daya yang lebih tinggi kemurnian ekstrak yang diperoleh akan berkurang. Hal ini

terjadi akibat adanya suhu yang lebih tinggi yang merupakan hasil dari daya, sehingga sel akan lebih cepat mengalami kerusakan.

#### 4. Karakteristik Matriks

Ukuran partikel yang akan diekstraksi umumnya berkisar antara 100 mikrometer hingga 2 mm. Bubuk matriks yang lebih halus dapat meningkatkan luas permukaan ekstraksi yang lebih luas sehingga memperluas bidang kontak dengan pelarut dan meningkatkan penetrasi dari pelarut dan gelombang mikro.

#### 5. Temperatur

Daya gelombang mikro dan temperatur merupakan parameter yang saling berhubungan dan keduanya memerlukan perhatian yang khusus ketika ekstraksi dilakukan dalam vessel tertutup. Dalam vessel tertutup, temperature mungkin akan mencapai titik didih dari pelarut. Tabel 2.4 berikut menunjukkan temperatur yang dicapai oleh pelarut dari ekstraksi gelombang mikro di bawah kondisi tekanan tertentu. Naiknya temperatur memang akan meningkatkan efisiensi dari proses ekstraksi karena desorpsi dari zat yang diinginkan dari matriks akan meningkat.

**Tabel 2.4. Titik didih dan temperatur dalam gelombang mikro pada tekanan 175 psig untuk pelarut yang berbeda-beda. (mandal, 2007)**

Pelarut	Titik didih (°C)	Temperatur (175 psig)
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

## 2.5 Metode Permodelan Ekstraksi Gelombang Mikro

### 2.5.1 Permodelan Ekstraksi dengan Pendekatan Ekstraksi Padat Cair (Wongkittipong, 2004)

Untuk melakukan permodelan ekstraksi gelombang mikro dapat dilakukan dengan pendekatan bahwa ekstraksi dengan gelombang mikro merupakan ekstraksi padat cair. Kemudian untuk menyederhanakan permodelan perpindahan massa yang terjadi dalam sistem ekstraksi padat cair, beberapa asumsi digunakan seperti:

1. Partikel padatan memiliki dua bentuk; bentuk bidang datar untuk daun dan bentuk silinder untuk batang. Peristiwa difusi dari zat zolute terjadi dalam arah transversal dan satu arah saja.
2. Setiap partikel merupakan partikel yang simetris dan homogeny
3. Koefisien difusi pada setiap eksperimen konstan. Perubahan konsentrasi dari zat yang terekstrak hanya tergantung oleh posisi dan waktu
4. Pelarut dalam sistem batch bercampur sempurna. Hambatan dalam peristiwa perpindahan diabaikan dan konsentrasi zat yang diinginkan dalam larutan hanya bergantung oleh waktu.
5. Perpindahan partikel ekstrak yang mengandung senyawa bioaktif merupakan fenomena difusi.
6. Pada daerah interfasa, konsentrasi dari setiap spesi dalam larutan antara cairan di dalam pori dan di luar partikel adalah sama.

Model peristiwa difusi umum yang dikembangkan oleh Wongkittipong et al. (2004) dan Seikova et al. (2004) untuk ekstraksi padat cair dideskripsikan melalui persamaan berikut:

$$\frac{\partial a(t,x)}{\partial t} = D \frac{1}{x^{\varphi-1}} \frac{\partial}{\partial x} \left( x^{\varphi-1} \frac{\partial a(t,x)}{\partial x} \right) \quad (2.14)$$

Dimana  $t$  merupakan waktu,  $x$  merupakan jarak radial dalam arah perpindahan material (tebal dari bidang adalah sama dengan  $2e$ ).  $\varphi$  merupakan nilai faktor bentuk material pada eksperimen yang dilakukan. Di mana  $D$  merupakan difusifitas efektif ( $m^2/s$ ).

Untuk bentuk bidang karena dalam hal ini material padatan yang digunakan adalah bagian daun maka hukum difusi kedua fick ialah.

$$\frac{\partial c}{\partial x} = D \left( \frac{\partial^2 C(t,x)}{\partial x^2} \right) \quad (2.15)$$

- Kondisi awal ( $t = 0$ )

Untuk tahap kontinu:  $C_s = 0$  (konsentrasi solute dalam pelarut)

Untuk tahap disperse:  $C_1 = C_{1,0}$

- Kondisi batas

Pada titik pusat partikel padatan yang akan diekstrak ( $x = 0$ )

$$\left( x^{\varphi-1} \frac{\partial C(t,x)}{\partial t} \right)_{x=0} = 0 \quad (2.16)$$

Pada titik interfasa ( $x = e$ ). laju ekstraksi senyawa bioaktif dari material padatan diperoleh dengan mengintegrasikan seluruh permukaan sehingga diperoleh, seperti berikut.

$$R = DA \left( \frac{\partial C(t,x)}{\partial x} \right)_{x=e} \quad (2.17)$$

di mana

$R$  = Laju ekstraksi keseluruhan senyawa bioaktif

$A$  = Luas penampang dari partikel

Maka flux dalam cairan adalah

$$F = V_L \left( \frac{\partial C_L}{\partial t} \right) \quad (2.18)$$

di mana

$F$  = Flux

$V_L$  = Volume pelarut

Diameter partikel terdiskritisasi dalam ruang dengan differensial orde kedua terhingga. Untuk persamaan batas, digunakan diferensiasi terhingga dengan orde

yang sama. Persamaan adalah diperlakukan dengan metode Crack-Nicolson. Koefisien difusi kemudian diubah agar sesuai dengan poin eksperimental menggunakan metode dikotomi sederhana berdasarkan kriteria kuadratik.

Pada metode permodelan yang telah dibahas ada keterbatasan dalam mengevaluasi proses ekstraksi berbantu gelombang mikro. Pengaruh energi yang dipancarkan oleh gelombang mikro diabaikan dari metode perhitungan. Pendekatan yang dilakukan pada metode ini adalah bahwa ekstraksi merupakan ekstraksi padat cair dengan asumsi-asumsi yang telah disebutkan sebelumnya.

### 2.5.2 Permodelan Ekstraksi dengan *Response Surface Methodology*

*Response Surface Methodology* (RSM) merupakan sebuah metode statistik yang mengeksplorasi hubungan antara beberapa variabel penjelas dan variabel satu atau lebih. Gagasan utama dari RSM adalah dengan menggunakan urutan percobaan yang dirancang untuk mendapatkan respon yang optimal.

Response Surface Methodology (RSM) digunakan untuk membuat model dan menganalisa suatu respon  $y$  yang dipengaruhi oleh beberapa variabel bebas/faktor  $x$  guna mengoptimalkan respon tersebut. Hubungan antara respon  $y$  dan variabel bebas  $x$  adalah:

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_k) + \varepsilon \quad (2.19)$$

dimana:

$Y$  = variabel respon

$X_i$  = variabel bebas/ faktor ( $i = 1, 2, 3, \dots, k$ )

$\varepsilon$  = error

Langkah pertama dari RSM adalah menemukan hubungan antara respon  $y$  dan faktor  $x$  melalui persamaan polinomial orde pertama dan digunakan model regresi linear, atau yang lebih dikenal dengan first-order model (model orde I):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i \quad (2.20)$$

Rancangan eksperimen orde I yang sesuai untuk tahap penyaring faktor adalah rancangan faktorial  $2^k$  (*Two Level Factorial Design*). Selanjutnya untuk model orde II, biasanya terdapat kelengkungan dan digunakan model polinomial orde kedua yang fungsinya kuadrat:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i<j} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (2.21)$$

Rancangan eksperimen orde II yang digunakan adalah rancangan faktorial  $3^k$  (*Three Level Factorial Design*), yang sesuai untuk masalah optimasi. Kemudian dari model orde II ditentukan titik stasioner, karakteristik permukaan respon dan model optimasinya.

Pada penelitian ini metode pemodelan dengan *Response Surface Methodology* (RSM) tidak dapat dilakukan karena pada perancangan awal penelitian dan batasan masalah tidak diproyeksikan untuk memperoleh data – data yang diperlukan untuk melakukan penelitian. Pada penelitian ini hanya dua parameter yang diujikan dan tidak melihat hubungan dari kedua variabel tersebut, tetapi hanya melihat nilai maksimum atau nilai optimum dari suatu variabel untuk menjadi variabel tetap pada pengujian variabel bebas lainnya.

## 2.6 State of The Art

### 2.6.1 Penelitian Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro

Ekstraksi menggunakan gelombang mikro pertama kali pada tahun 1975 oleh Abu-samra et al. yang melakukan ekstraksi menggunakan oven gelombang mikro domestic, menampilkan analisis keberadaan logam dari sampel biologi (Mandal, 2007). Kemudian di tahun 1986, Ganzler et al. mempublikasikan penggunaan penggunaan gelombang mikro dari matriks padatan seperti tanah, biji-bijian, makanan dan benih (Mandal, 2007).

Pada tahun 1990, Terry dan Onuska menggunakan gelombang mikro untuk mengekstrak pestisida organoklorin dari sampel sedimen tanah. Mereka melaporkan dapat memperoleh senyawa tersebut dan tidak terjadi degradasi dari hasil akibat pemaparan gelombang mikro (Amstrong, 1999). 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.

Pada tahun 2002, Shu et al. melakukan ekstraksi dari akar ginseng pada ekstraksi gelombang mikro pada tekanan atmosferik untuk memperoleh ginsenosida dan diperoleh hasil bahwa ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dengan waktu 15 menit dan pelarut etanol dengan konsentrasi 70 % pada daya gelombang mikro 150 W lebih baik dari ekstraksi konvensional yang dilakukan selama sepuluh jam dengan pelarut yang sama. (Shu et al., 2003)

ElKhorri menggunakan metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro untuk mengekstrak minyak dari coklat (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.

Di tahun 2007, Bai et al. melakukan penelitian mengenai ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro untuk mengekstraksi triterpenoida dari akar *Actinidia deliciosa*. Dilaporkan bahwa pada kondisi operasi optimum dari ekstraksi dengan gelombang mikro dengan larutan 72,67 % etanol, daya gelombang mikro 362,12 W, dan rasio pelarut banding padatan 15:1 dan waktu ekstraksi 30 menit, presentasi triterpenoida yang diperoleh lebih tinggi dari yang diperoleh pada metode ekstraksi dengan ultrasonic dan ekstraksi refluks. (Bai et al., 2007)

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 2.5 menunjukkan waktu

ekstraksi dan jenis pelarut dari berbagai ekstraksi bahan alam dengan bantuan gelombang mikro.

**Tabel 2.5. Ekstraksi bahan alam dengan bantuan gelombang mikro**

<b>Material Tanaman</b>	<b>Analit</b>	<b>Pelarut</b>	<b>Waktu Ekstraksi (menit)</b>	<b>Peneliti</b>
<i>Cuminum cyminum</i> dan <i>Zanthoxylum bungeanum</i>	Minyak esensial	Tanpa pelarut	30	Wang, 2006
Semua bagian tumbuhan <i>Nothapodytes foetida</i>	Camptotechin	90% metanol	7	Fulzele dan Sative, 2005
Batang dan daun segar <i>Lippia alba</i>	Minyak esensial	Tanpa pelarut	30	Stasbenko, 2004
Buah kering <i>Macleaya cordata</i>	Sanguinarine dan chelerythrine	0,1 M HCl	5	Zhang, 2005
Akar kering <i>Salvia Milthiorriza</i>	Diterpenes seperti tanshinones	95% etanol	2	Pan, 2001
Kulit kayu kering <i>Eucommia ulmodies</i>	Asam geniposidic dan asam Chlorogenic	Campuran air metanol	0,67	Li, 2004
Daun tembakau	Solanesol	Heksana : etanol (3:1)	40	Zhou dan Liu, 2006
Akar <i>licorice</i>	Asam glycyrrhizic	50-60% etanol dengan 12% amonia	4-5	Pan, 2000
Jus apel kering	Pektin	HCl	20.8	Wang, 2007
Buah beri kering dari <i>Embelia ribes</i>	Embelin	Aseton	1.2	Latha, 2006
Akar temulawak	Curcumol, curdione dan germacrone	Air	4	Deng, 2006
Daun teh hijau	Polifenok dan kafein	50% campuran air etanol	4	Pan, 2003
<i>Artemisia annua L.</i>	Artemisnin	minyak ekstraksi	12	Hao, 2003
<i>Carum carvi L.</i>	terpenoida	Heksana	60	Chemat et al., 2005
<i>Elletaria cardamomum L.</i>	Minyak esensial	Tanpa pelarut	10 – 75	Lucchesi et al., 2007
<i>Ocimum basilicum L.</i> <i>Mentha crispa L.</i> <i>Thymus vulgaris L.</i>	Minyak esensial	Tanpa pelarut	30	Lucchesi et al., 2007
<i>Laurus nobilis L.</i>	Minyak esensial		30	Flamini et al, 2007
<i>Rhizoma curcumae</i>	Minyak esensial	Air	60	Deng, 2006

<i>Zingiber ofi cinale</i>	Minyak esensial	Air	2 – 10	Yu, 2007
<i>Zingiber ofi cinale</i>	Minyak jahe dan Minyak esensial	Heksana & etanol	1 -6	Alfaro
<i>Camellia sinensis L. (teh hijau)</i>		Larutan 50% etanol air	3,5 – 4	Pan et al., 2003
Kacang kedelai	Isoflavon	Air, methanol, dan etanol	4	Rostagno et al., 2003
<i>Vitis vinifera (anggur)</i>	Senyawa fenolik	Methanol	5 – 30	Liazid et al., 2007
<i>Artemisia annua L.</i>	Senyawa bioaktif (artemisinin)	Etanol, petroleum eter, heksana dan siklo heksana	20	Hao et al., 2002
<i>Soybean germ and seaweed</i>	Minyak goreng	Heksana	2 – 18	Cravotto et al., 2008
<i>Olea europaea L. (zaitun)</i>	Minyak goreng	Heksana	0,3 – 0,5	Garcia-Ayuso et al., 2000
<i>Nothapodytes foetida</i>	Alkaloida	Methanol	3	Fulzele dan Satdive, 2005
<i>Capsicum annum L. (paprika)</i>	Pigmen, karoten	Air	0,5 – 2	Csiktusnadi et al., 2000
<i>Ganoderma atrum</i>	saponin	Etanol	3 – 30	Chen, 2007
<i>Dillenia Indica</i>	Senyawa antioksidan	Etanol	2 – 12	Reza, 2009

(Mandal, 2007 & Miereles, 2008)

### 2.6.2 Penelitian Spesies *Ageratum conyzoides L.*

Penelitian mengenai spesies bandotan atau *Ageratum conyzoides L.* dilakukan sudah sejak lama, jacoud pada tahun 1961 mengutip bahwa Pereira pada tahun 1929 telah melaporkan penggunaan daun dari tumbuhan bandotan sebagai pembasmi serangga. Aktivitas insektisida mungkin merupakan aktivitas biologis yang paling penting dari spesies ini. Kemungkinan senyawa terpenik, utamanya *prococenes* yang bertanggung jawab atas efek insteksida. Kemudian pada tahun 1987, Raja et al., menggunakan ekstrak etanol dari daun segar bandotan, *Ageratum conyzoides L.* dan kemudian mengujikanya pada serangga. Ekstrak *Ageratum conyzoides L.* dari petroleum-eter dari seluruh tumbuhan oleh Kamal dan Mehra, 1991, memberikan efek yang mengganggu pada pertumbuhan larva nyamuk. Di tahun 1990, shabana et al. menggunakan seluruh bagian tumbuhan bandotan, diverifikasi berhasil mengganggu larva hama *Meloidogyne*

*incognita*. Pu et al. (1990) dan liang et al. (1994) diverifikasi tumbuhan bandotan dapat mengurangi serangan hama laba-laba jeruk (*Panonychus citri*). (Ming et al., 1999). Kemudian bandotan juga telah diteliti memiliki kemampuan sebagai penghambat pertumbuhan biji dan perkembangan dari tumbuhan rumput-rumputan. Jha dan Dhakal (1990).

Kong et al., pada tahun 1999 melakukan ekstraksi dari daun bandotan dan berhasil mengidentifikasi konstituen dari minyak volatile dengan GC-MS. Sebelas komponen telah diidentifikasi dan enam komponen utamanya seperti, *precocene I*, *prococene II*, *3,3-dimethyl-5-tert-butylindone*, *beta-caryophyllene*, *γ-bisabolene*, dan *fenchyl acetate* diisolasi dengan kromatografi kolom. Dari penelitian tersebut diketahui terdapat sinergisme dari senyawa allelopatik yang terdapat dalam *Ageratum conyzoides L.* (Kong et al., 1999). Kemudian di tahun 2003, Oladejo et al. mengujikan ekstrak dari bandotan dengan metanol dari tumbuhan bandotan memiliki kemampuan penyembuhan luka pada kulit yang diujicobakan pada kulit tikus wistar. Efek percepatan penyembuhan dari luka pada kulit mungkin akibat kemampuan antimikrobal dari tumbuhan *Ageratum conyzoides L.* (Oledejo et al., 2003). Kemudian Iqbal et al., di tahun 2004 melakukan ekstraksi dari ageratum, dengan ekstraksi konvensional menggunakan pelarut heksana, dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil bahwa tumbuhan memiliki kemampuan anti-jamur yang kemungkinan berasal dari *precocene II*. (Iqbal et al., 2004).

Pada tahun 2006, Nyunai et al. melakukan penelitian mengenai efek ekstrak bandotan dalam kadar gula darah. Proses ekstraksi menggunakan air distilasi dengan perendaman serta dihangatkan selama 30 menit, kemudian diperoleh larutan ekstrak. Larutan ekstrak yang diperoleh hasil yang signifikan dari daun bandotan dalam mereduksi kadar gula dalam darah. (Nyunai et al., 2007). Di tahun 2009, Nyunai et al., kembali melakukan ekstraksi ageratum dengan menggunakan air distilasi. Dari penelitian diperoleh bahwa antioksidan memiliki potensial aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan disinyalir memiliki sifat *hypoglycaemic*. Potensi antioksidan yang diperoleh mungkin akan berkontribusi untuk mencegah kerusakan peroksidatif. (Nyunai et al., 2009).

Tumbuhan bandotan memiliki kandungan metabolit sekunder dengan variasi tinggi yang mengandung senyawa flavanoida, alkaloida, kumarin, minyak atsiri

dan tanin. Banyak dari senyawa tersebut aktif secara biologis. 51 jenis senyawa terpenoida termasuk *precocene* I dan *precocene* II telah teridentifikasi (Ekundayo et al., 1998; Bothakar et al., 1987; Mensah et al., 1993). Minyak atsiri termasuk comene, *6-angeloyky-7-methoxy-2,2-dimethleromen*, *cariophylene* dan *eugeno* (Gonzales et al., 1991). Flavanoid seperti *agecony flavones* A, B dan C dan *hexametoxy flavones* telah terbukti dapat diisolasi dari tumbuhan *Ageratum* sebaik senyawa kumarin yang termasuk 1,2-benzopirone (Vyas et al., 1984; Horie et al., 1993). Senyawa alkaloid seperti *1,2-desifropirrolizidinic acid* dan *licopsamin* juga telah berhasil diisolasi (Igboasoii et al., 2007). Berikut letak penelitian ini berdasarkan pemetaan ekstraksi bandotan (*ageratum conyzoides*) berdasarkan metode ekstraksinya dan aktivitas dari ekstrak yang diperoleh, yang dikelompokkan pada Tabel 2.6.

**Tabel 2.6 Pemetaan ekstraksi bandotan dengan berbagai metode ekstraksi & aktivitas ekstrak.**

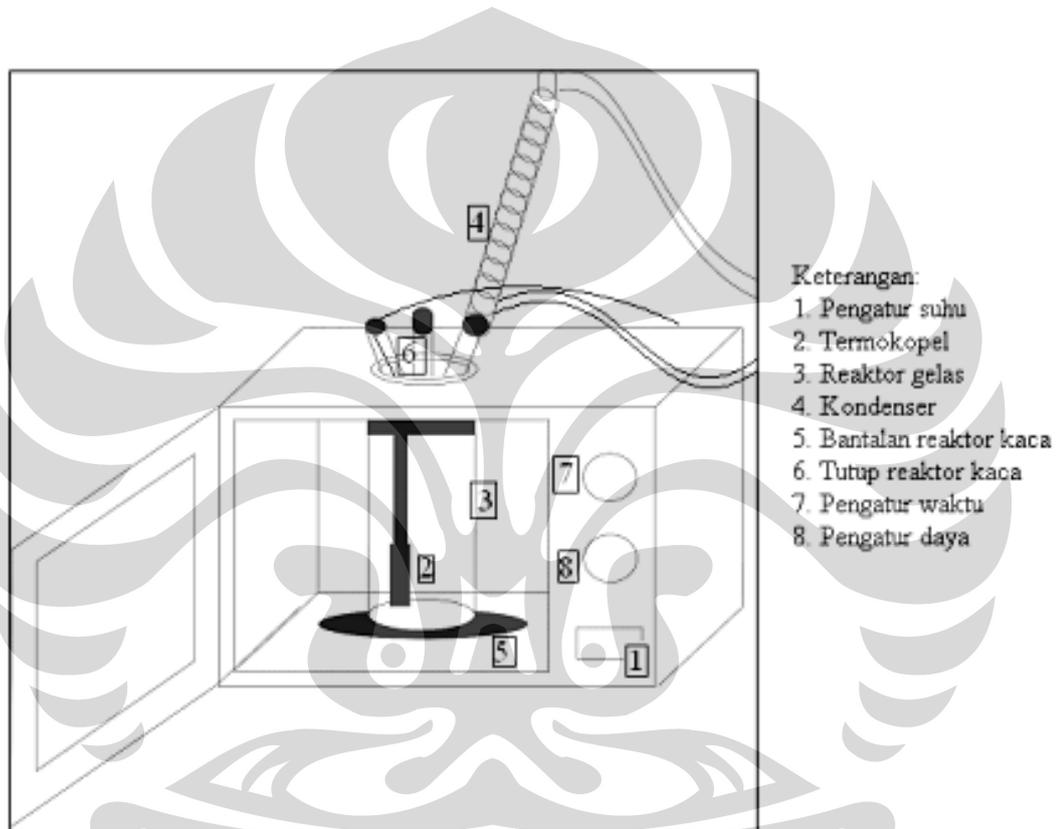
Metode ekstraksi	<i>Hydro-distillation</i>	<i>Steam-distillation</i>	Soklet	Perebusan	Maserasi	Sonikasi	Gelombang Mikro
<i>Insecticidal</i>	Aboua, 2010		Calle et al., 1990				
<i>Antiulcer</i>				Mahmood, 2005	Fatihah, 2005		
<i>Antioxidant</i>				Nyemb, 2009			Penelitian ini
<i>Wound Healing</i>				Mustafa, 2005	Oladejo, 2003		
<i>Allelopathical</i>		Kong, 1999 dan Kato-noguchi, 2001					
<i>Toxicity</i>					Iqboasoii, 2007		
<i>Antimicrobial</i>					Ndip et al., 2009		
Anti-hama						Amelot, 2003	
Fungisida					Iqbal, 2004		
Efek Penurunan Glukosa				Nyunai, 2006			

## BAB 3 METODE PENELITIAN

### 3.1 Rancangan Penelitian

#### 3.1.1 Skema Alat

Berikut skema alat yang digunakan dalam proses ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro:

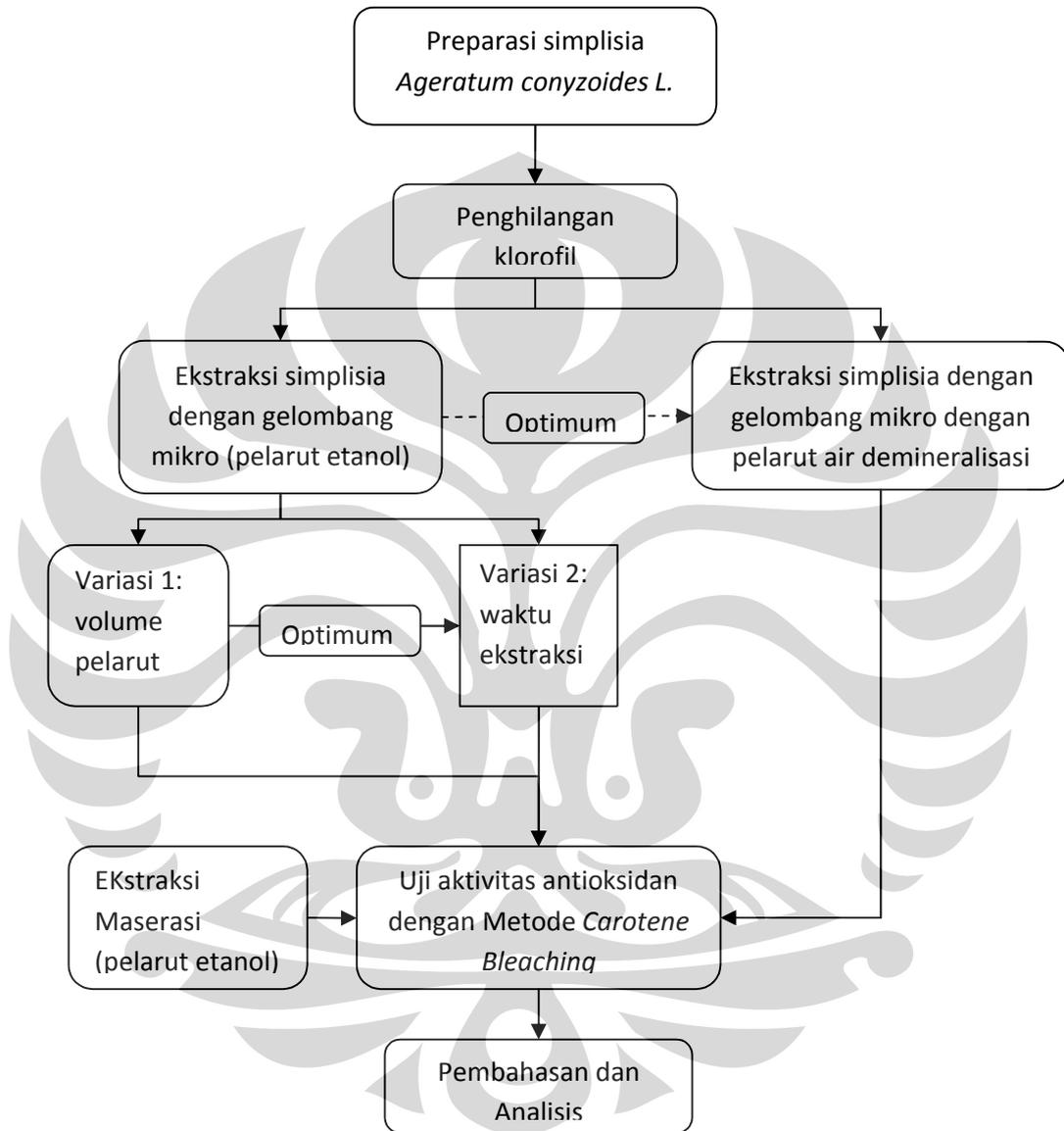


**Gambar 3.1** Peralatan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro

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. Di dalam oven juga dipasang tempat duduk reaktor yang terbuat dari karet tahan panas yang sama.

### 3.1.2 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.2. Diagram alir penelitian

Pada Gambar 3.2. dapat dilihat bahwa penelitian akan diawali dengan preparasi simplisia. Kemudian, simplisia akan diekstrak dengan dua metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dengan perbedaan pelarut yang digunakan dan ekstraksi maserasi. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dengan

bantuan gelombang mikro adalah etanol dan air demineralisasi. Pelarut yang digunakan untuk maserasi adalah etanol. Ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dengan pelarut etanol dilakukan dengan dua variasi, yaitu volume pelarut etanol dan waktu ekstraksi, sedangkan ekstraksi dengan pelarut air demineralisasi dilakukan dengan parameter yang sudah didapat dari variasi yang dilakukan pada ekstraksi dengan pelarut etanol. 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 Variabel Bebas dan Variabel Terikat

Variabel bebas dari kondisi operasi yang divariasikan pada penelitian ini adalah:

1. Volume pelarut
2. Waktu ekstraksi
3. Metode ekstraksi dan jenis pelarut

Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini atau parameter yang akan diamati pada berbagai kondisi operasi adalah:

1. Yield proses ekstraksi
2. Aktivitas antioksidan dari ekstrak

### 3.3 Peralatan dan Bahan

#### 3.3.1 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.	Timbangan digital	Menimbang bahan
2.	Oven gelombang mikro	Tempat terjadinya pemanasan
3.	Kondenser	Mendinginkan uap pelarut
4.	Bejana	Tempat terjadinya ekstraksi
5.	Penangas air	Menguapkan pelarut
6.	<i>Hot plate</i>	Menguapkan pelarut
7.	Spektrofotometer ultraviolet	Mengukur absorbansi komponen

		yang akan diuji aktivitas antioksidannya
8.	Oven	Menginkubasi simplisia dan ekstrak yang akan diujikan.
9.	Lemari pendingin	Menyimpan dan mengawetkan bahan
10.	Vorteks	Mengaduk simplisia saat penghilangan klorofil
11.	<i>Plastic wrap</i>	Penutup wadah agar terlindung dari kontaminan
12.	Kertas saring	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

### 3.3.2 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 bandotan ( <i>Ageratum conyzoides L.</i> )	Sebagai simplisia
2.	Etanol	Sebagai pelarut
3.	Aseton 80%	Menghilangkan klorofil
4.	$\beta$ -Carotene	Digunakan untuk uji antioksidan
5.	Kloroform	Pelarut dalam uji aktivitas antioksidan
6.	Minyak goreng	Media uji aktivitas antioksidan
7.	BHT	Pembanding aktivitas antioksidan
8.	Aquades	Pelarut dan pencuci alat
9.	Air Demineralisasi	Pelarut

## 3.4 Prosedur Penelitian

### 3.4.1 Tahap Preparasi Simplisia

Simplisia merupakan tumbuhan *Ageratum conyzoides L.* yang diperoleh dari Kebun Tanaman Obat, Badan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Bogor. Simplisia yang sudah menjadi serbuk, Simplisia disimpan di tempat tertutup pada suhu ruang. Jika simplisia ingin diekstrak, maka akan dilakukan penghilangan klorofil pada daun terlebih dahulu.

Langkah-langkah dalam melakukan penghilangan klorofil:

1. Memasukkan padatan bubuk dedaunan kering ke dalam tabung erlenmeyer lalu melarutkan dengan sejumlah larutan aseton 80%.
2. Mengaduk campuran serbuk dedaunan dan larutan aseton 80% secara merata dengan vorteks selama 30 detik (dilakukan setiap 5 detik).
3. Mendinginkan campuran tersebut selama 5 menit.
4. Memisahkan serbuk dedaunan dari aseton dengan menggunakan kertas saring.
5. Menguapkan aseton yang masih tersisa di serbuk dedaunan dengan *hot plate*.

#### **3.4.2 Tahap Ekstraksi Maserasi**

Langkah-langkah yang dilakukan dalam prosedur ekstraksi maserasi adalah sebagai berikut:

1. Memasukkan simplisia yang telah dipreparasi ke dalam labu sebanyak 5 gram.
2. Memasukkan pelarut etanol 96 % ke dalam labu sebanyak 250 mL.
3. Memasukkan stirrer ke dalam labu.
4. Menutup bagian atas labu agar tidak ada pelarut yang menguap.
5. Mendinginkan labu selama 72 jam dengan stirrer tetap berputar
6. Memisahkan larutan ekstrak dari padatan setelah 72 jam dengan kertas saring
7. Menguapkan pelarut dari larutan ekstrak
8. Ekstrak yang diperoleh disimpan dalam botol yang ditutup rapat dan dibungkus *plastic wrap*.
9. Melakukan pengujian aktivitas antioksidan.

#### **3.4.3 Tahap Ekstraksi dengan Gelombang Mikro**

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

- I. Variasi Volume Pelarut
  1. Memasukkan simplisia yang telah dipreparasi ke labu 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 3.1.
4. Menyalakan oven dengan mengeset pada suhu 78°C.
5. Mengeset waktu ekstraksi pada waktu 15 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 disimpan dalam botol yang ditutup rapat dan dibungkus *plastic wrap*.
9. Setiap ekstrak diuji aktivitas antioksidan dan didapatkan volume pelarut yang optimum.

## II. 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 3.1.
4. Menyalakan oven dengan mengeset suhu pada 78°C.
5. Mengeset waktu ekstraksi pada waktu 20 menit dan divariasikan waktu ekstraksi dari 25 menit, 20 menit, 15 menit, 10 menit, sampai 5 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

### III. Penggunaan Pelarut Air demineralisasi

1. Memasukkan simplisia yang telah dipreparasi ke labu sebanyak 2 gram
2. Memasukkan pelarut air demineralisasi dengan volume yang optimum
3. Menyusun alat sesuai dengan Gambar 3.1.
4. Menyalakan oven dengan mengeset suhu pada 78°C.
10. Mengeset waktu ekstraksi pada waktu optimum.
11. Setelah selesai ekstraksi, simplisia dibiarkan dingin di dalam oven selama 5 menit.
12. Memisahkan ekstrak dari pelarutnya dengan menggunakan penangas air dan hot plate.
13. Ekstrak yang diperoleh ditutup rapat dan dibungkus *plastic wrap*.
14. Setiap simplisia diuji aktivitas antioksidan dan didapatkan waktu ekstraksi yang optimum

#### **3.4.4 Tahap Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Carotene Bleaching**

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

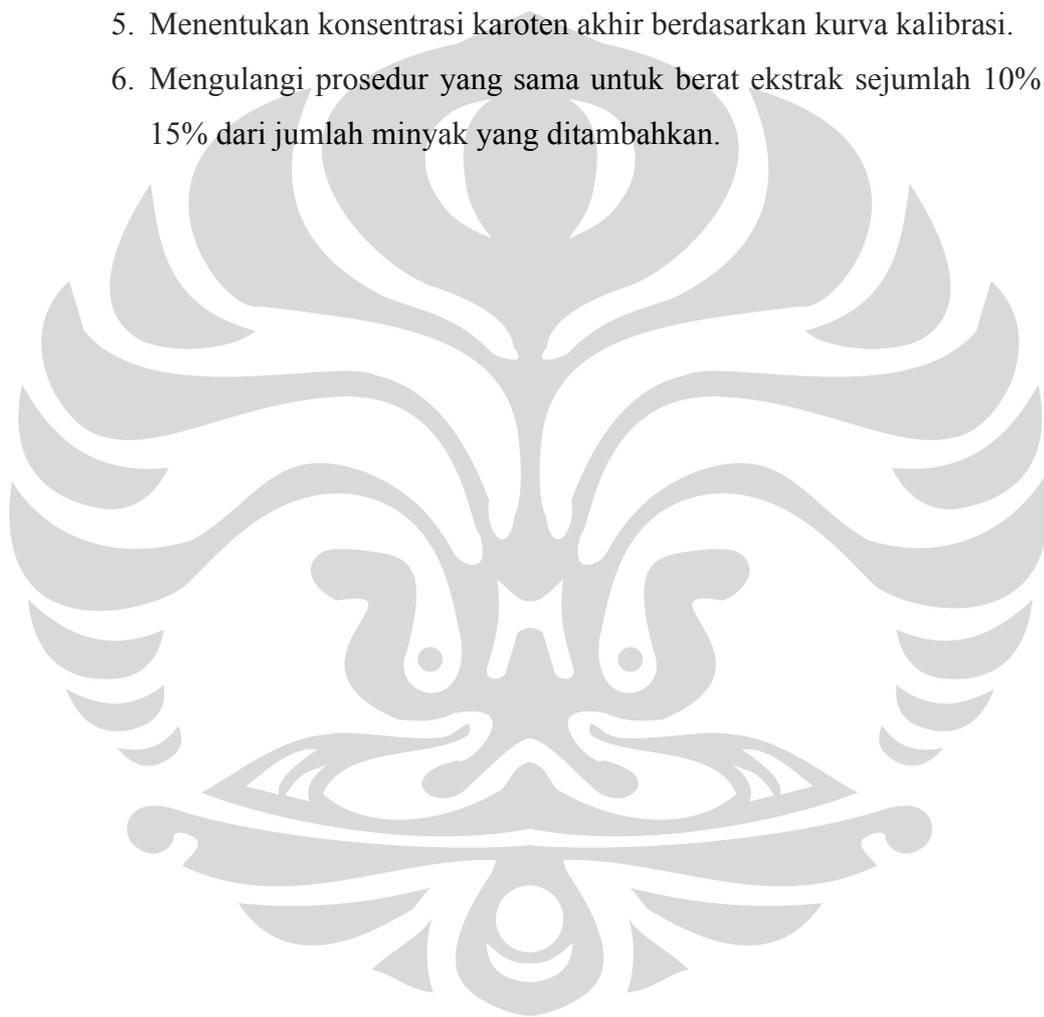
##### I. Preparasi larutan betakaroten

1. Memarut Wortel hingga halus
2. Melarutkan wortel dengan etanol 96 % hingga parutan wortel terendam
3. Mengaduk larutan wortel etanol dengan strirrer selama 30 menit
4. Menyaring larutan tersebut dan memisahkan filtrat dengan padatan
5. Melarutkan padatan hasil penyaringan dengan kloroform hingga padatan terendam
6. Memisahkan filtrat dengan padatan
7. Menutup rapat filtrat yang mengandung beta karoten dengan rapat dengan *plastic wrap*.

##### II. Uji aktivitas antioksidan

1. Sebanyak 5-10 ml larutan betakaroten yang telah diekstrak digunakan untuk melarutkan minyak goreng sebanyak 0.2 gr.

2. Campuran diencerkan dengan menggunakan etanol-kloroform dengan perbandingan 3:2 sampai dengan 100 mL.
3. Melarutkan ekstrak dalam campuran ini sebanyak 5% dari jumlah minyak yang ditambahkan dan menginkubasinya pada suhu 80°C.
4. 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.
5. Menentukan konsentrasi karoten akhir berdasarkan kurva kalibrasi.
6. Mengulangi prosedur yang sama untuk berat ekstrak sejumlah 10% dan 15% dari jumlah minyak yang ditambahkan.



## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Analisis Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian yang dilakukan meliputi preparasi sampel tumbuhan *Ageratum conyzoides L.*, ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, ekstraksi maserasi dan uji aktivitas antioksidan dengan metode *carotene bleaching*.

##### 4.1.1 Tahap Preparasi Sampel Tumbuhan *Ageratum conyzoides L.*

Sampel pada penelitian ini adalah daun dari tumbuhan *Ageratum conyzoides L.* atau bandotan yang diperoleh dalam keadaan kering dan hancur dari Badan Penelitian Tanaman Aromatik dan Obat, Bogor, Jawa barat. Ukuran daun yang diperoleh adalah 70 mesh.

Pengeringan daun bandotan bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam sel daun. Penghancuran daun berguna untuk menyeragamkan ukuran daun yang akan diekstrak. Dengan mengubah ukuran fisik daun menjadi lebih kecil merupakan salah satu upaya untuk memperluas bidang kontak antara pelarut dengan daun sehingga memperbesar laju perpindahan massa dari daun ke pelarut. Daun yang telah dipreparasi ukuran dan kadar airnya disimpan dalam wadah tertutup agar dapat terlindung dari kontaminan.

Kemudian sampel daun perlu dihilangkan kadar klorofilnya sebelum dilakukan ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dan maserasi. Penghilangan klorofil bertujuan untuk mencegah perolehan klorofil ketika melakukan proses ekstraksi. Penghilangan klorofil dilakukan dengan merendam simplisia daun bandotan dalam larutan aseton 80 % dengan menggoyang-goyangkan dengan vortex selama 30 detik setiap 5 detik. Setelah selesai kemudian larutan yang berisi ekstrak klorofil dipisahkan dari simplisia dengan kertas saring. Setelah dipisahkan simplisia kembali dikeringkan untuk menghilangkan aseton yang masih membasahi simplisia. Setelah dilakukan penghilangan klorofil simplisia terlihat tampak lebih pucat dibanding warna sebelum dilakukan penghilangan klorofil.

#### 4.1.2 Tahap Ekstraksi dengan Bantuan Gelombang Mikro

Ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro merupakan proses ekstraksi yang memanfaatkan gelombang elektromagnetik yang memiliki frekuensi berkisar di antara 300 Mhz hingga 300 GHz atau gelombang mikro yang tidak memiliki kemampuan untuk mengionisasi atau memutuskan ikatan kimia (Amstrong, 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).

Pada proses ekstraksi ini digunakan etanol dan air demineralisasi sebagai pelarut. Air demineralisasi dipilih sebagai pelarut dalam proses ekstraksi karena di Indonesia banyak bahan alam yang memiliki khasiat obat diekstraksi dengan air. Air dan etanol juga merupakan senyawa yang lebih aman dari sudut pandang toksikologinya dibandingkan dengan jenis pelarut lainnya seperti, aseton, metanol, dan pelarut organik lainnya (Othman, 2007). Selain itu kedua pelarut tersebut merupakan pelarut polar sehingga dapat menimbulkan proses pemanasan yang dihasilkan dari pergerakan molekul-molekul dengan migrasi ion dan rotasi kedua kutubnya (Letellier dan Budzinski, 1999).

Pada penelitian mengenai ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro untuk memperoleh ekstrak kasar daun *Ageratum conyzoides L.* dengan aktivitas antioksidan, dilakukan dengan memvariasikan tiga variabel bebas, yaitu volume pelarut dan waktu ekstraksi dan setelah memperoleh parameter optimum dilakukan pergantian jenis pelarut. Variable ekstraksi yang pertama adalah volume pelarut, volume pelarut divariasikan dari 20 mL hingga 100 mL dengan perbedaan 20 mL (20, 40, 60, 80, dan 100 mL etanol). Dengan berat daun 2 gram dan waktu ekstraksi 20 menit. Kemudian setelah diperoleh aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar daun bandotan, ekstraksi dilanjutkan dengan variasi waktu ekstraksi (5, 10, 15, 20, dan 25 menit) dan kembali dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar yang diperoleh. Setelah memperoleh kondisi optimum dari kedua variasi yang dilakukan, kemudian ekstraksi dilakukan dengan pelarut yang berbeda, berupa air demineralisasi.

Proses ekstraksi dari daun *Ageratum conyzoides L.* terjadi di dalam reaktor kaca yang mengalami penyinaran dengan gelombang mikro. Reaktor kaca merupakan reaktor yang dibuat tahan panas dan bening agar dapat meneruskan gelombang mikro yang dipancarkan ke campuran yang ingin diekstrak. Suhu proses ekstraksi dijaga konstan pada kisaran 70 °C, hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya degradasi ekstrak akibat suhu tinggi dan mencegah terjadinya penguapan yang berlebihan dari pelarut etanol yang memiliki titik didih 78 °C. Berikut gambar susunan peralatan pada proses ekstraksi dengan berbantu gelombang mikro.



Gambar 4.1 Susunan peralatan ekstraksi berbantu gelombang mikro tanpa sistem refluks.



**Gambar 4.2** Reaktor kaca dan penutup reaktor kaca untuk ekstraksi gelombang mikro.

Selama terjadinya penyinaran dengan gelombang mikro, terjadilah pemanasan sebagai akibat langsung dari pertemuan gelombang mikro dengan pelarut dan matriks padatan. Pemanasan dipengaruhi dua fenomena: konduksi ionik dan rotasi dipol. Akibat adanya perubahan medan listrik dari gelombang mikro yang terpancarkan, maka akan terjadi migrasi elektroforetik dari molekul. Akibat adanya hambatan dari larutan menyebabkan tabrakan antar molekul yang akan menimbulkan energi kalor dan meningkatkan suhu sekitarnya. Fenomena rotasi dipol merupakan fenomena penyusunan ulang dari molekul-molekul dipol (pelarut polar) akibat adanya perubahan medan listrik yang cepat. Fenomena kedua ini hanya akan terjadi pada frekuensi 2450 Mhz atau frekuensi kerja oven gelombang mikro, di mana komponen listrik dari gelombang mikro berubah  $4,9 \times 10^4$  kali per detik. (Mandal, 2007). Panas yang ditimbulkan gelombang mikro akan membantu perpindahan massa dari senyawa bioaktif yang akan diekstrak dari padatan ke etanol dan air sebagai pelarut yang digunakan.

Setelah proses ekstraksi, larutan dipisahkan dengan padatan yang telah diekstraksi dengan menggunakan kertas saring. Filtrat merupakan larutan yang mengandung etanol dan senyawa bioaktif. Untuk ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dengan pelarut etanol, filtrat berwarna hijau tua sedangkan filtrate dari air demineralisasi berwarna bening kecoklatan. Setelah pemisahan antara padatan dan filtrat, maka dilakukan penguapan pelarut dari filtrat

menggunakan water bath pada suhu, sekitar 60 °C, suhu pemanasan ini dijaga suhunya agar senyawa bioaktif yang terkandung dalam filtrat tidak terdegradasi dan tetap memiliki kemampuan dan aktivitas antioksidan. Setelah dipisahkan dari pelarutnya, ekstrak kasar yang diperoleh berupa pasta berwarna hijau tua untuk pelarut etanol dan pasta berwarna coklat gelap untuk pelarut air demineralisasi.

#### **4.1.3 Tahap Ekstraksi Maserasi**

Tahap ekstraksi maserasi dilakukan dengan merendam sebanyak 5 gram padatan daun bandotan yang sudah dihaluskan ke dalam labu erlenmeyer dengan 250 mL etanol 96 % yang dilakukan selama 72 jam dan diiringi dengan pengadukan menggunakan stirrer. Ekstraksi maserasi dilakukan sebagai pembanding untuk ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro. Dari proses ekstraksi maserasi diperoleh ekstrak kasar berupa pasta berwarna hijau.

#### **4.1.4 Tahap Isolasi Beta Karoten**

Pengisolasian beta karoten dilakukan untuk memperoleh karoten yang akan digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan dengan metode *carotene bleaching*. Senyawa beta karotene diperoleh dari parutan wortel. Parutan wortel yang telah siap diekstraksi dilarutkan dengan etanol 96 % hingga parutan terendam. Pelarut etanol berguna untuk menghilangkan senyawa-senyawa polar dalam wortel. Larutan etanol dan parutan diaduk dengan stirrer untuk mempercepat proses pelarutan senyawa-senyawa polar dari etanol walaupun beta karoten sedikit larut dalam etanol. Pengadukan dengan stirrer dilakukan selama 30 menit.

Setelah 30 menit dilakukan pengadukan, padatan dipisahkan dari filtrat untuk selanjutnya lagi dilarutkan ke dalam kloroform. Padatan dilarutkan dalam kloroform untuk memperoleh beta karoten. Perlakuan yang diberikan sama dengan saat pelarutan menggunakan etanol. Kemudian setelah 30 menit filtrat dipisahkan dari padatan dengan tidak berlebihan dalam melakukan pemerasan dari padatan agar minyak atsiri dari wortel tidak terikut.

#### 4.1.5 Tahap Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode *Carotene Bleaching*

Telah dibuktikan sebelumnya oleh Monaghan dan Schmitt bahwa beta karoten dapat mencegah oksidasi dari asam linoleat (burton, 1989). Hal ini disebabkan beta karoten akan langsung bereaksi dengan radikal peroksida yang terbentuk akibat terjadinya 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 cokelat (Othman et al., 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 kasar daun bandotan 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 karotenoida. Sedangkan senyawa antioksidan dianalogikan sebagai 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 ekstrak kasar bandotan, dan kontrol positif yaitu sistem emulsi minyak goreng dan beta karoten yang mengandung antioksidan sintetik BHT. Sistem emulsi tersebut akan melalui proses pemanasan dalam inkubator pada suhu 50 °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 campuran yang berisi minyak goreng beta karoten, antioksidan akan berperan sebagai penghambat peluruhan warna jingga dari karoten. Senyawa antioksidan akan menghambat proses oksidasi yang terjadi akibat pemanasan dari minyak goreng dan beta-karoten. Mekanisme yang diharapkan terjadi adalah senyawa antioksidan akan berikatan dengan radikal bebas yang terbentuk pada tahap awal reaksi akibat pemanasan, untuk mencegah reaksi lanjutan 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, 2007).

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).

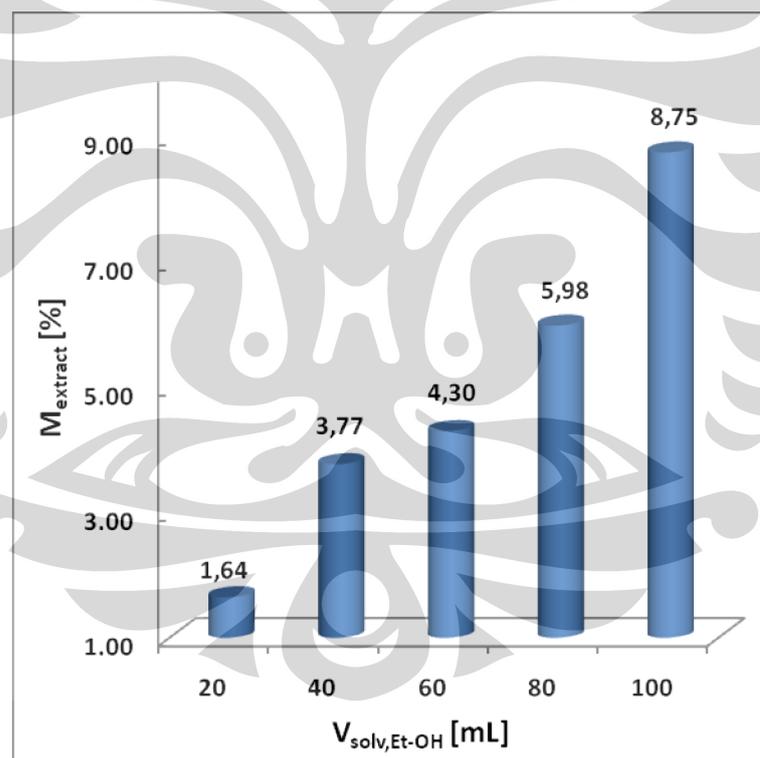
## 4.2 Hasil dan Analisis

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

### 4.2.1 Berat Ekstrak

#### ❖ Variasi Volume Pelarut Etanol

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



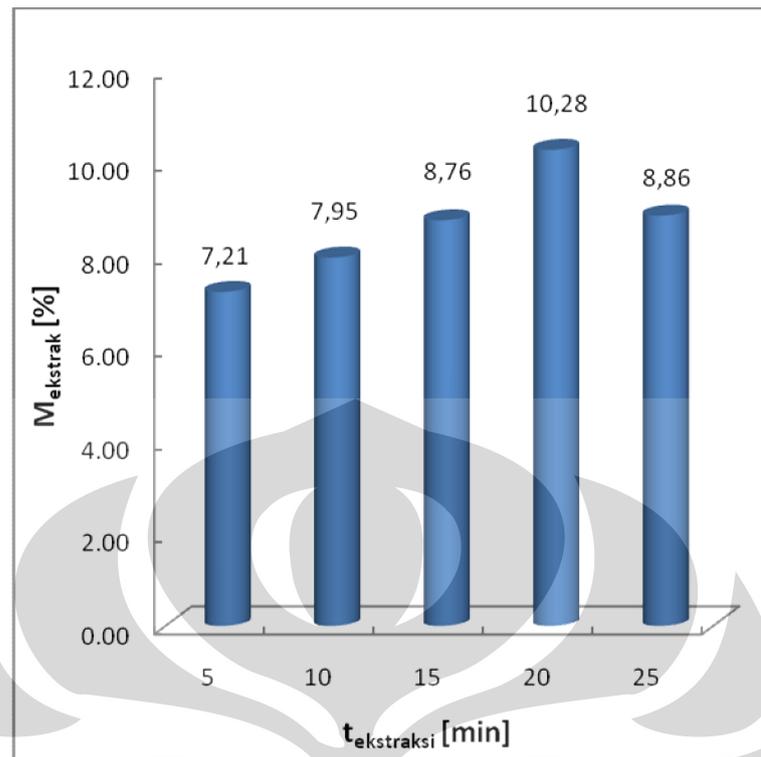
Gambar 4.3 Persen berat ekstrak kasar per berat simplisia yang dihasilkan dari ekstraksi (t = 15 menit) dengan variasi volume pelarut etanol.

Dari Gambar 4.3 dapat disimpulkan bahwa berat ekstrak kasar akan meningkat dengan semakin banyaknya pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi. Hal ini disebabkan dengan semakin banyaknya volume pelarut, maka

kontak antara serbuk daun dengan etanol akan semakin besar. Sehingga senyawa bioaktif yang terdapat di dalam daun akan lebih cepat dan lebih banyak yang berpindah dari dalam sel daun ke pelarut. Dari variasi yang dilakukan pada volume pelarut dapat disimpulkan bahwa dari dua gram daun bandotan yang diekstrak dengan 100 mL pelarut etanol, maka akan diperoleh persen berat ekstrak kasar per berat simplisia yang maksimum. Rasio maksimum antara pelarut dan daun adalah 100:2 (mL/gr). Hao et al. telah membuktikan bahwa dengan semakin banyak pelarut maka laju ekstraksi yang diperoleh juga akan lebih besar (Mandal, 2007). Kemudian berdasarkan penelitian oleh gao et al. diketahui bahwa untuk mengekstrak senyawa flavanoida dari *Saussurea medusa* bahwa dengan meningkatnya jumlah pelarut dari rasio pelarut/padatan dari 25:1 (mL/gr) sampai dengan 100:1 (mL/gr) akan meningkatkan jumlah ekstrak (Mandal, 2007). Dan dari penelitian ini juga diperoleh hal yang sama, di mana rasio pelarut/padatan dari 20:2 (mL/gr) sampai dengan 100:2 (mL/gr) akan meningkatkan jumlah ekstrak kasar yang didapatkan.

#### ❖ Variasi Waktu Ekstraksi

Variasi yang dilakukan berikutnya adalah variasi waktu ekstraksi. Variasi waktu ekstraksi yang dilakukan adalah 5, 10, 15, 20, dan 25 menit dengan menggunakan volume pelarut yang maksimum dalam menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling baik, yaitu 100 ml dan berat simplisia dua gram. Pertimbangan pemilihan waktu ekstraksi adalah waktu yang biasa digunakan dalam ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, yaitu beberapa detik hingga beberapa menit (15-20 menit) (Mandal, 2007). Dengan rentang waktu 5 menit untuk tiap pengambilan sampel diharapkan dapat mendapatkan perbedaan yang mencolok. Persen berat ekstrak kasar per berat simplisia yang berhasil diperoleh dari ekstraksi dengan variasi waktu ekstraksi adalah seperti yang digambarkan grafik berikut.



**Gambar 4.4** Persen Berat ekstrak kasar per berat simplisia yang dihasilkan dengan variasi waktu ekstraksi (volume pelarut 100 mL).

Pada Gambar 4.4 diperoleh bahwa dengan waktu 20 menit menghasilkan persen berat ekstrak kasar per berat simplisia 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 kasar yang didapatkan. Penurunan berat ekstrak kasar 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).

Pengaruh yang sama dari waktu ekstraksi pada yield senyawa yang terekstrak dari kedelai yang pernah diteliti oleh Rostagno et al., (2007) yang mempelajari tentang ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro untuk mendapatkan isoflavon dari kedelai pada suhu 50-150 °C dengan waktu ekstraksi lebih dari 30 menit. Kemudian mereka menyimpulkan penambahan waktu

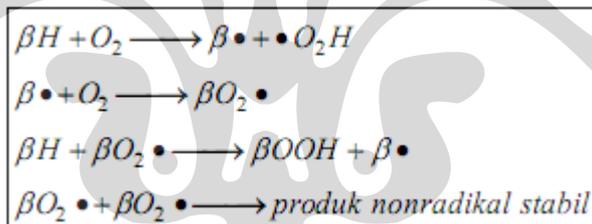
ekstraksi hingga 20 menit akan meningkatkan jumlah isoflavon dan sebaliknya berkurang (Kanitkar, 2007)

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).

#### 4.2.2 Penentuan Laju Degradasi Beta Karotene

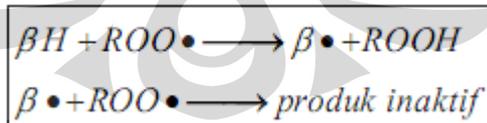
Dalam sistem emulsi minyak goreng-beta karoten, beta karoten mengalami pemutusan ikatan rangkap terkonjugasi oleh dua sebab, yaitu teroksidasi dan bereaksi dengan radikal peroksida yang berasal dari oksidasi minyak goreng. Mekanisme reaksi dapat dilihat sebagai berikut:

##### ❖ Oksidasi Beta Karoten



Gambar 4.5 Reaksi oksidasi beta karoten (Takahasi, 1999).

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



Gambar 4.6 Reaksi beta karoten dengan radikal peroksida (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. 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:

$$-r_{\beta H} = k_1 C_{\beta H} \quad (4.2)$$

$$-\frac{dC_{\beta H}}{dt} = k_1 C_{\beta H} \quad (4.3)$$

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

$$\text{Laju degradasi} = \ln\left(\frac{C_{A0}}{C_A} \times \frac{1}{t}\right) \quad (4.4)$$

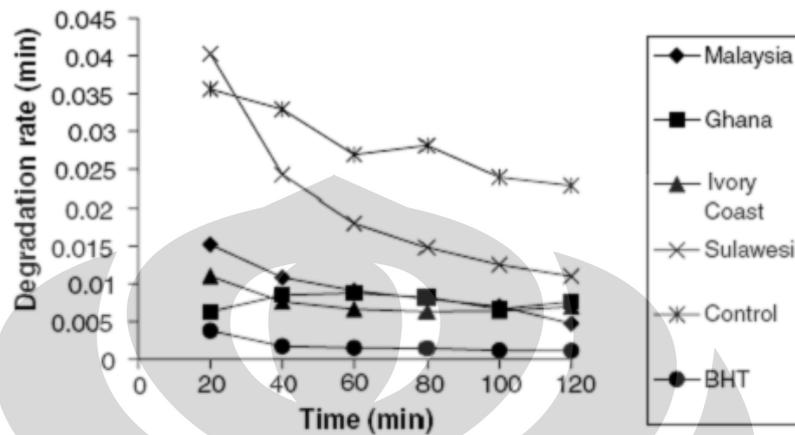
di mana:  $C_{A0}$  = konsentrasi awal beta karoten

$C_A$  = 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 coklat (Othman, 2005). Hasil laju degradasi beta karoten pada penelitian Othman dapat dilihat pada gambar berikut.

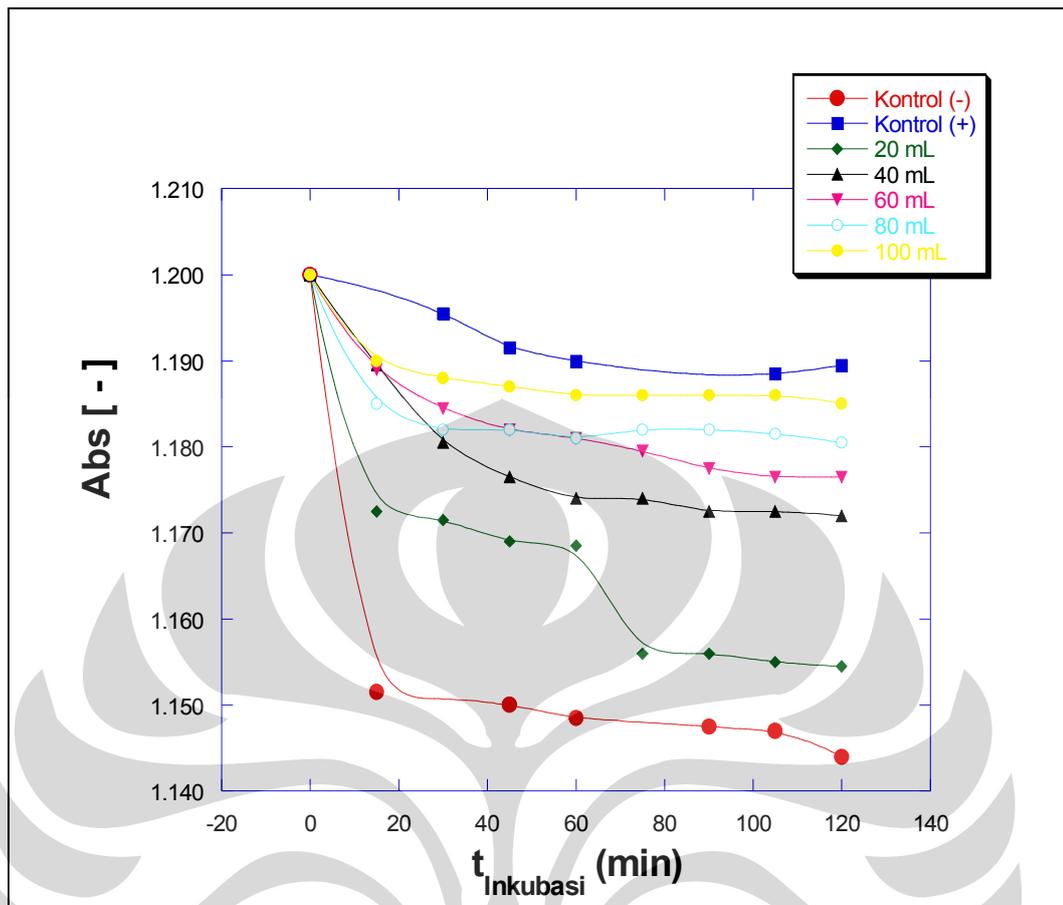


Gambar 4.7 Laju degradasi ekstrak biji coklat (ekstrak etanol) dengan metode *carotene bleaching* (Othman, 2005)

#### 4.2.3 Aktivitas Antioksidan

##### ❖ Variasi Volume Pelarut Etanol

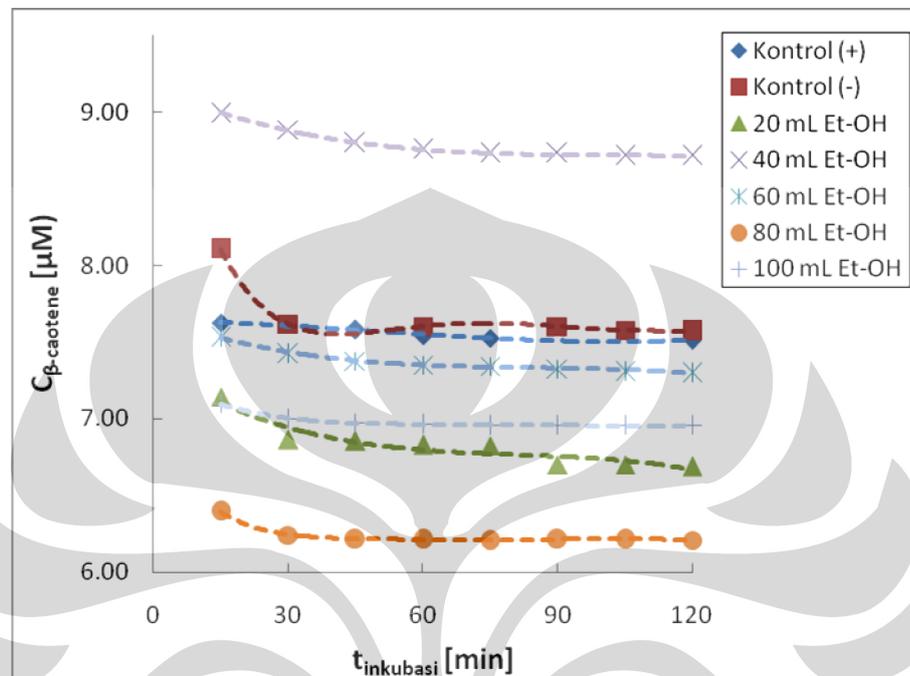
Dari pengujian yang dilakukan pada setiap sampel untuk variasi volume pelarut, absorbansinya menunjukkan penurunan dengan semakin panjangnya waktu pemanasan campuran minyak goreng, beta karoten, dan ekstrak. Penurunan absorbansi menunjukkan ada serangan terhadap ikatan rangkap dari beta karoten oleh radikal yang berasal dari oksidasi minyak goreng. Penurunan yang terjadi pada sampel yang diberikan 5% (berat minyak goreng) ekstrak kasar daun *Ageratum conyzoides L.* yang mengandung senyawa bioaktif (antioksidan) tidak sejauh dengan sampel tanpa penambahan ekstrak kasar (kontrol negatif). Berikut gambar penurunan absorbansi antar sampel uji, baik kontrol negatif, kontrol positif dan yang ditambahkan ekstrak.



Gambar 4.8 Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun *Ageratum conyzoides L.* dari ekstraksi variasi volume pelarut etanol.

Penurunan absorbansi ini terjadi akibat adanya reaksi oksidasi minyak goreng. Sampel yang ditambahkan ekstrak kasar daun yang mengandung senyawa bioaktif menunjukkan penurunan yang tidak terlalu tajam. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas antioksidan sesuai dengan yang diharapkan. Penurunan absorbansi antar sampel uji, baik yang ditambahkan ekstrak kasar ataupun tidak dapat dilihat pada gambar 4.8. Dari gambar tersebut penambahan ekstrak kasar dengan jumlah pelarut 100 mL memiliki penurunan absorbansi yang paling kecil dibanding lainnya. Berkurangnya absorbansi berhubungan erat dengan peluruhan beta karoten, semakin kecil penurunan absorbansi makin kecil juga peluruhan beta karoten. Peluruhan beta karoten yang kecil menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang cukup baik pada penambahan ekstrak kasar dengan pelarut etanol dengan volume 100 mL. Berikut Gambar 4.9 yang menjelaskan mengenai

konsentrasi betakaroten dalam sistem betakaroten-minyak goreng yang mengalami penurunan selama waktu inkubasi. Konsentrasi diperoleh dari kurva kalibrasi konsentrasi betakaroten yang dilampirkan pada lampiran.



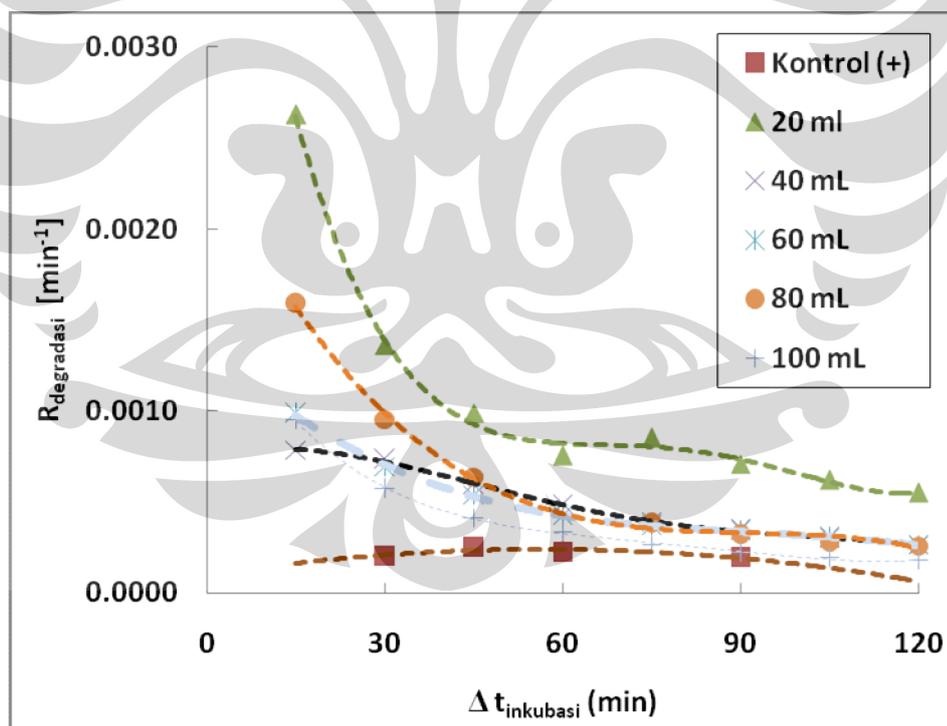
Gambar 4.9 Perubahan konsentrasi betakaroten selama waktu inkubasi dalam sistem betakaroten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun *Ageratum conyzoides* L. dari ekstraksi variasi volume pelarut etanol.

Pada gambar 4.9 dapat terlihat profil penurunan konsentrasi dari beta karoten yang terkandung dalam sistem beta karoten-minyak goreng. Sampel yang memiliki penurunan konsentrasi beta karoten paling besar merupakan kontrol negatif dan kontrol yang memiliki penurunan konsentrasi paling kecil merupakan kontrol positif. Untuk 15 menit pertama, semua sampel uji mengalami penurunan konsentrasi beta karoten yang menunjukkan adanya reaksi oksidasi pada sistem beta karoten-minyak goreng. Kemudian penurunan berkurang seiring bertambahnya waktu, reaksi oksidasi berjalan lebih lambat pada sampel yang ditambahkan BHT dan ekstrak kasar daun bandotan ke dalamnya. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas antioksidan sehingga konsentrasi tidak mengalami penurunan yang terlalu besar. Dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan ekstrak daun bandotan dengan volume etanol 100 mL diperoleh

penurunan ekstraksi paling besar dibandingkan penambahan ekstrak daun bandotan dengan variasi volume pelarut lainnya.

Mekanisme yang mungkin terjadi di dalamnya adalah dimulai dengan pembentukan radikal bebas dari minyak goreng akibat oksidasi. Radikal bebas yang terbentuk bermaksud untuk menyerang kemudian dinetralkan oleh atom hidrogen yang berasal dari senyawa antioksidan dari ekstrak. Sedangkan radikal antioksidan yang terbentuk cenderung bersifat 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 dilihat pada grafik berikut.



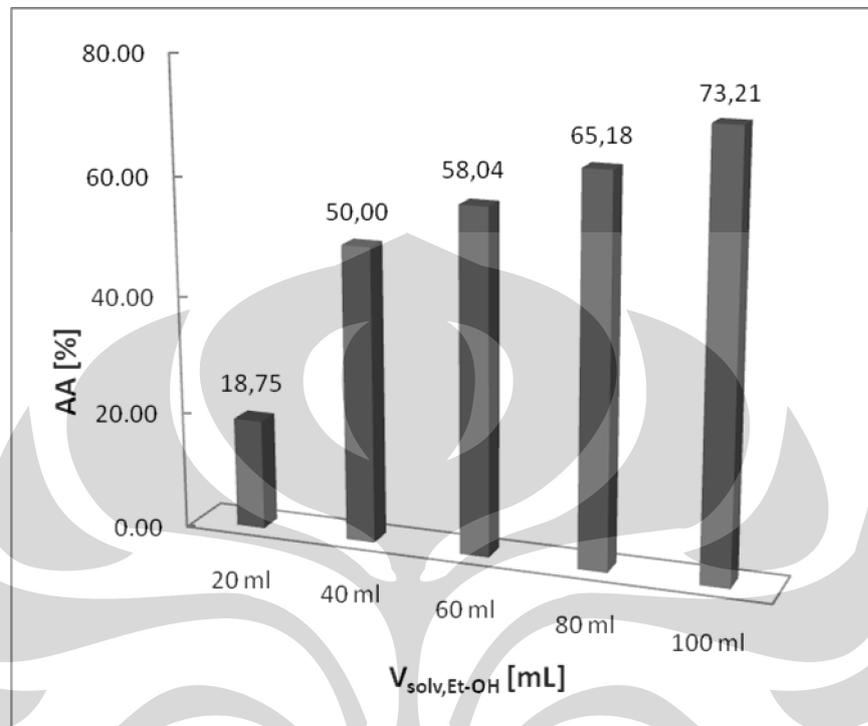
Gambar 4.10 Laju degradasi beta karoten dengan penambahan 5 % senyawa bioaktif daun *Ageratum conyzoides L* diekstrak kasar dengan variasi volume pelarut.

Laju degradasi sampel pada Gambar 4.10 menunjukkan bahwa laju degradasi akan menurun sampai waktu tertentu dan akan datar pada menit berikutnya. Laju degradasi akan mengalami penurunan sampai menit 90 dan menurun dengan kemiringan yang lebih kecil 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 4.10 terlihat bahwa laju degradasi akan menurun dan kemudian mendatar. Laju degradasi tidak berbeda jauh pada ekstrak kasar dengan volume pelarut etanol 100 dan 60 mL yang ditunjukkan pada Gambar 4.10. Pada waktu inkubasi 15 menit dan ekstrak kasar volume 40 mL memiliki laju degradasi beta karoten yang lebih kecil dibandingkan ekstrak kasar lainnya. Selama inkubasi laju degradasi ekstrak kasar dengan volume pelarut 40 mL akan turun tetapi tidak begitu signifikan sehingga pada waktu inkubasi ke 30 menit, laju degradasinya akan mendekati ekstrak kasar dengan volume pelarut 60 mL. Sedangkan ekstrak kasar dengan volume pelarut 20 mL pada waktu inkubasi 15 menit memiliki laju degradasi yang paling besar jika dibandingkan ekstrak kasar dengan volume pelarut 80 mL dan lainnya. 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 kasar 20 mL. Senyawa antioksidan ekstrak kasar 20 mL akan bekerja optimum setelah waktu 45 menit. Sisa senyawa antioksidan yang terdapat dalam ekstrak kasar 20 mL akan lebih banyak setelah waktu inkubasi 45 menit dibandingkan ekstrak kasar 40 mL sehingga laju degradasi akan lebih kecil.

Pada Gambar 4.10. dapat dilihat bahwa laju degradasi sampel dengan volume pelarut 100 mL menunjukkan laju degradasi terkecil dari waktu 30 sampai waktu 120 menit pemanasan dibandingkan dengan sampel uji lainnya. 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.

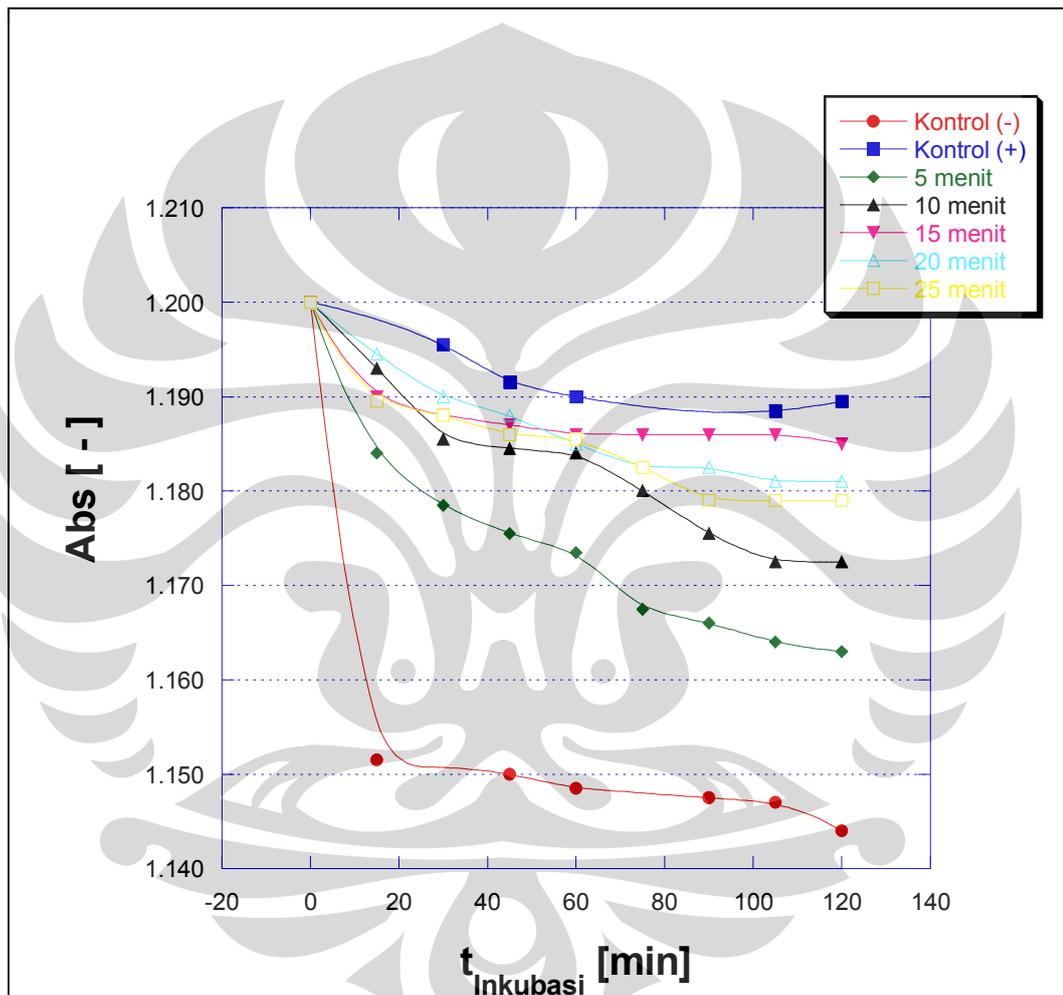


**Gambar 4.11** Aktivitas antioksidan pada sampel uji variasi volume pelarut etanol

Aktivitas antioksidan merupakan persentase pencegahan pemudaran warna jingga pada karoten atau dengan kata lain kemampuan antioksidan untuk menghambat oksidasi beta karoten. Perhitungan aktivitas antioksidan dilakukan dengan Persamaan 2.4. Dari Gambar 4.11 dapat dilihat bahwa sampel dengan volume pelarut 100mL memberikan aktivitas antioksidan terbesar, yaitu 73,21 %. Hal ini karena semakin banyak volume pelarut, maka kontak antara serbuk daun dengan etanol akan semakin besar. Sehingga senyawa bioaktif dengan aktivitas antioksidan 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 5, 10, 15, 20, dan 25 menit untuk menentukan pengaruh waktu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan.

### ❖ Variasi Waktu Ekstraksi

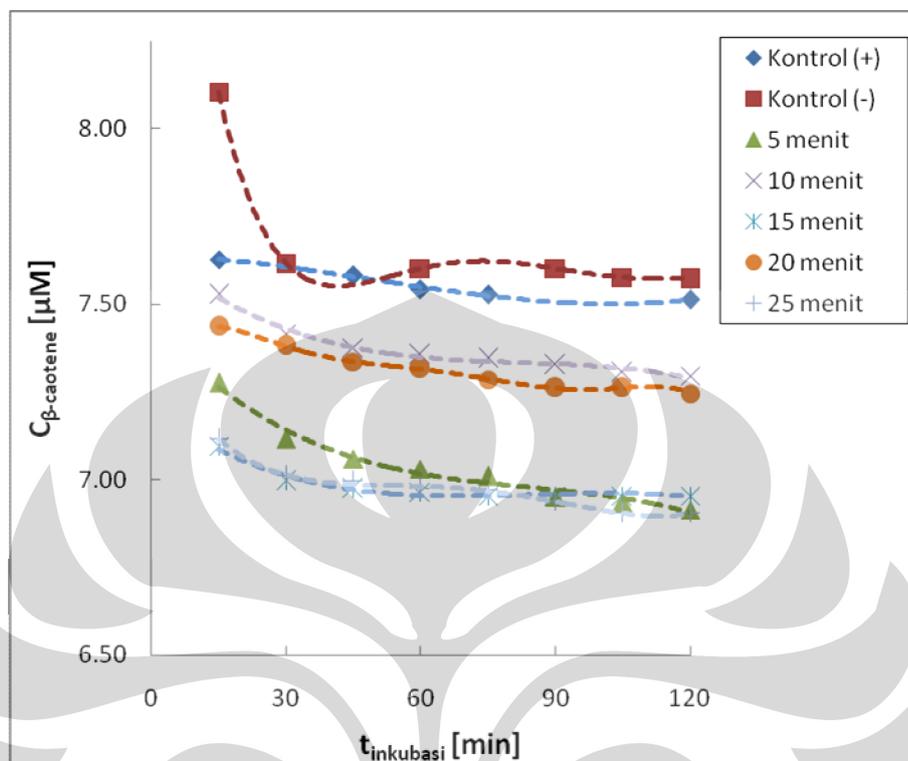
Seperti pada ekstraksi daun Bandotan variasi volume pelarut etanol, maka absorbansi dari sampel uji variasi waktu ekstraksi juga akan mengalami penurunan. Berikut ini merupakan perubahan absorbansi dari kontrol negatif, kontrol positif, dan sampel uji yang ditambahkan ekstrak kasar variasi waktu ekstraksi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



Gambar 4.12 Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun *Ageratum conyzoides* L. dari variasi waktu ekstraksi

Pada Gambar 4.12 perubahan absorbansi dari sampel uji variasi waktu ekstraksi 15 menit menunjukkan penurunan yang terkecil dibandingkan dengan yang lainnya. Sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu ekstraksi 15 menit

memiliki aktivitas antioksidan terbesar. Hal ini dapat dibuktikan pada perhitungan laju degradasi, aktivitas antioksidan dan penurunan konsentrasi betakaroten.

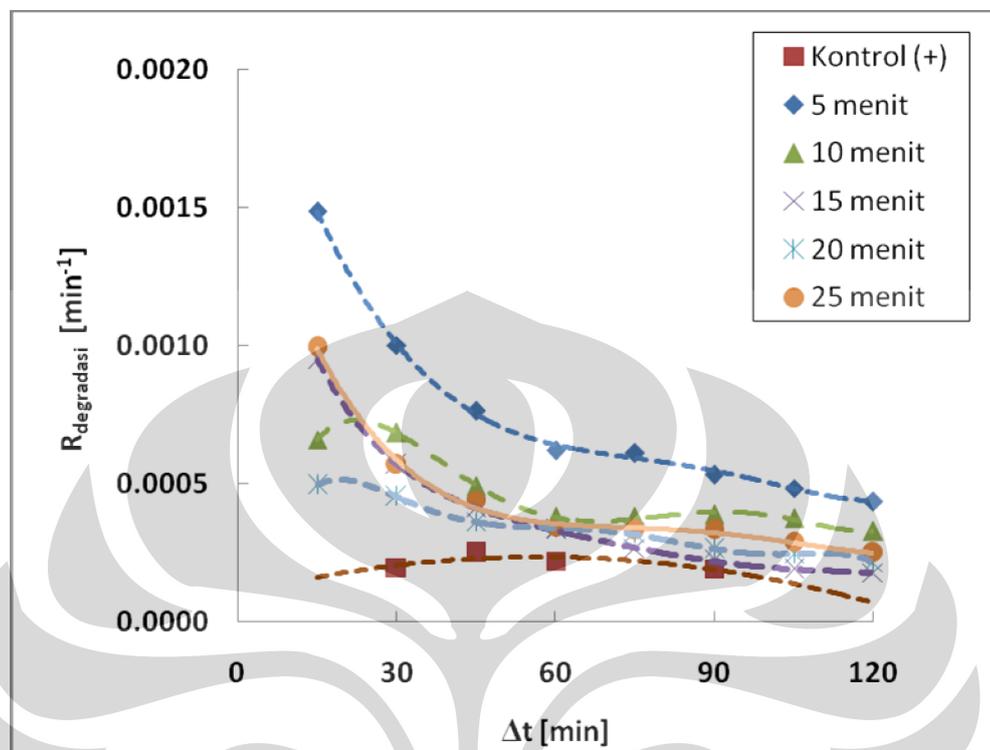


Gambar 4.13 Perubahan konsentrasi betakaroten selama waktu inkubasi dalam sistem betkaroten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun *Ageratum conyzoides* L. dari ekstraksi variasi waktu ekstraksi.

Dari gambar 4.13 dapat diketahui konsentrasi dari beta karoten dalam sistem beta karoten-minyak goreng. Sampel dengan penambahan ekstrak kasar daun bandotan dengan variasi waktu 15 menit memiliki penurunan konsentrasi yang lebih kecil dibanding sistem beta karoten-minyak goreng dengan penambahan ekstrak kasar dengan variasi waktu 5, 10, 20 dan 25 menit. Selang waktu inkubasi 15 – 45 penurunan konsenstrasi pada sampel yang ditambahkan ekstrak kasar ke dalamnya terjadi sangat cepat yang menandakan terjadinya reaksi oksidasi. kemudian di menit inkubasi selanjutnya konsentrasi beta karoten dari sampel tidak mengalami penurunan yang besar karena aktivitas dari antioksidan mulai bekerja dan reaksi oksidasi mengalami perlambatan akibat adanya antioksidan.

Laju degradasi sampel uji variasi waktu pada penelitian ini juga menunjukkan penurunan setiap waktu inkubasi. Penurunan ini terjadi hingga akhir masa inkubasi walaupun ada beberapa sampel yang mengalami kenaikan

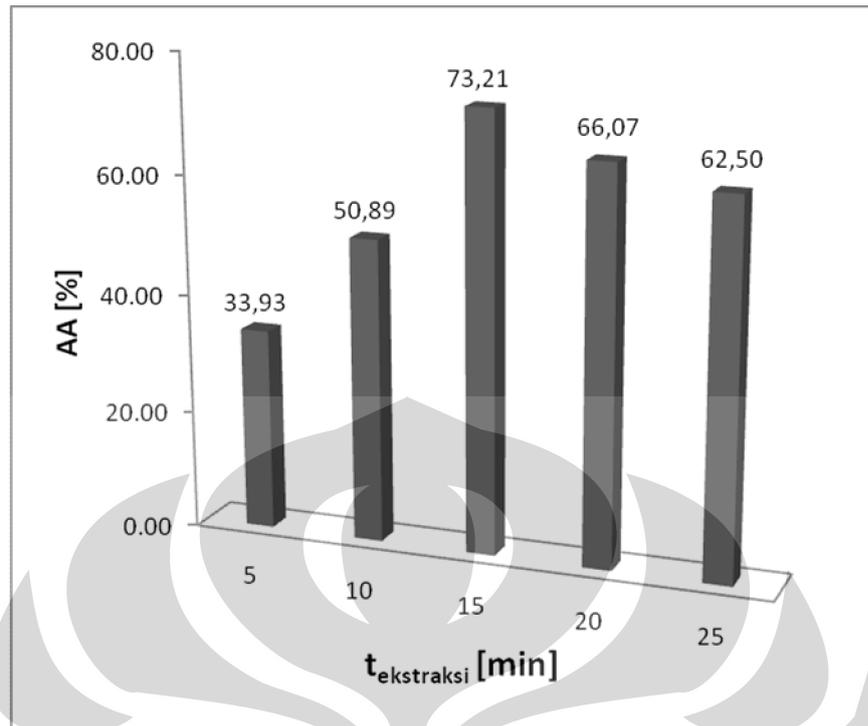
tiba-tiba di antara menit 90 dan 105. Hasil laju degradasi untuk sampel uji variasi waktu ekstraksi dapat dilihat pada grafik berikut ini.



Gambar 4.14 Laju degradasi beta karoten dengan penambahan 5 % senyawa bioaktif daun *Ageratum conyzoides* L. yang diekstrak kasar dengan variasi waktu ekstraksi

Dari Gambar 4.14 dapat disimpulkan bahwa waktu ekstraksi 15 menit merupakan waktu ekstraksi optimum untuk mendapatkan ekstrak kasar yang baik dalam menghambat oksidasi. Jika mengekstrak lebih dari waktu 15 menit, maka ekstrak kasar akan terdegradasi akibat penyinaran gelombang mikro yang terlalu lama. Alasannya adalah suhu yang ditimbulkan akan tinggi, yang menyebabkan ekstrak kasar yang mengandung antioksidan akan terdegradasi (Qing, 2005). Oleh karena itu, 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 4.15** Aktivitas antioksidan (AA) pada sampel uji variasi volume pelarut etanol.

Nilai aktivitas antioksidan pada masing-masing sampel uji dapat dilihat pada Gambar 4.15 di mana aktivitas antioksidan terendah pada waktu 5 menit yaitu 33,93 % dan aktivitas antioksidan tertinggi adalah pada waktu 15 menit yaitu 73,21%. Proses ekstraksi yang terlalu lama dapat menyebabkan ekstrak kasar yang mengandung antioksidan terdegradasi (Qing,2005) sehingga semakin lama waktu ekstraksi menyebabkan kemampuan ekstrak kasar menghambat oksidasi semakin menurun.

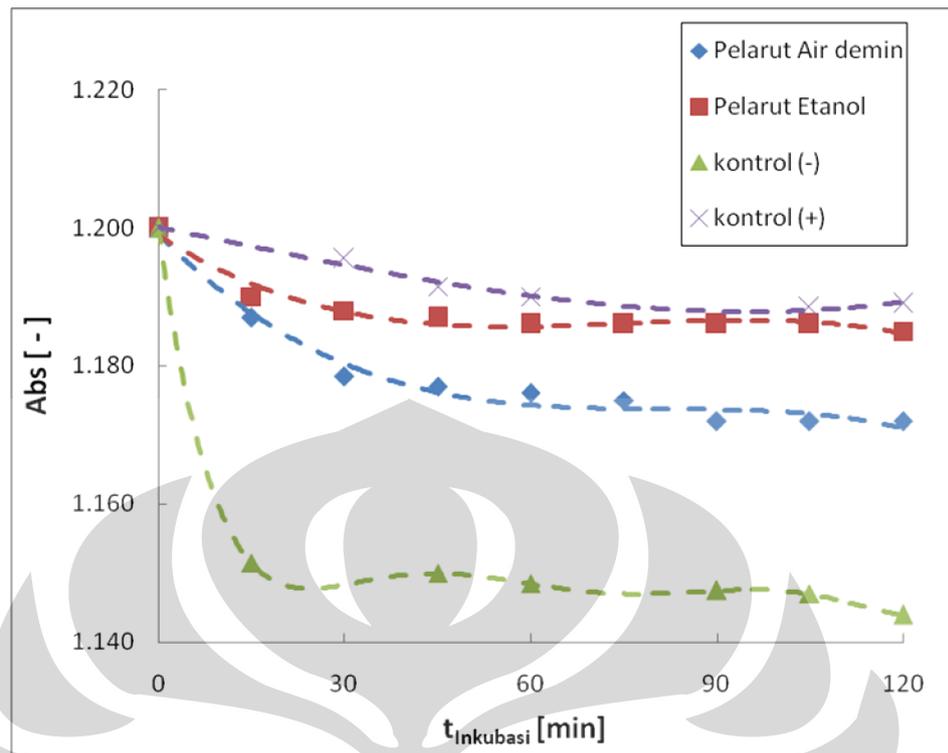
#### **4.3 Perbandingan Hasil Ekstraksi Gelombang Mikro dengan Pelarut Etanol dan Air Demineralisasi serta Ekstraksi Maserasi.**

Untuk melihat bagaimana pengaruh dari pelarut yang berbeda dengan metode ekstraksi yang sama (berbantu gelombang mikro) dan pengaruh perbedaan metode dengan pelarut yang sama maka dilakukan analisis ini. Pada eksperimen yang dilakukan untuk melihat pengaruh pelarut yang digunakan, pelarut pembandingnya berupa air demineralisasi dengan kondisi ekstraksi maksimum (waktu ekstraksi = 15 menit dan volume pelarut = 100 mL) pada ekstraksi berbantu gelombang mikro dengan pelarut etanol dalam menghasilkan aktivitas

antioksidan. Air demineralisasi dipilih karena cukup banyaknya bahan alam yang digunakan sebagai obat, seperti jamu hanya dilarutkan di dalam air. Dari Penelitian yang dilakukan diperoleh hasil berat ekstrak kasar untuk penggunaan pelarut air demineralisasi sebesar 0,5826 gr dari dua gram serbuk daun bandotan yang digunakan, berbeda dengan hasil ekstraksi berbantu gelombang mikro yang hanya menghasilkan 0,1751 gr dari dua gram serbuk daun bandotan.

Untuk aktivitas antioksidan yang diperoleh dengan ekstraksi berbantu gelombang mikro dengan pelarut air demineralisasi diperoleh sebesar 50 %, yang dihitung dengan persamaan 2.4, berbeda dengan hasil maksimal dari aktivitas antioksidan dari penggunaan pelarut etanol, yaitu sebesar 73,21 %. Hal ini menunjukkan bahwa air demineralisasi akan lebih banyak memperoleh konstituen-konstituen lainnya yang memiliki aktivitas antioksidan rendah dibanding pelarut etanol yang lebih efektif untuk memperoleh ekstrak kasar yang mengandung antioksidan.

Air merupakan pelarut yang memiliki kedielektrikan dan faktor disipasi yang besar dibanding etanol (lihat tabel 2.2) akan merusak konstituen yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Hal ini dikarenakan kedielektrikan dan faktor disipasi yang besar akan memperbesar laju pemanasan pada ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro, dengan laju pemanasan yang besar maka akan merusak konstituen yang termolabil (Mandal, 2007) Berikut perbandingan perubahan absorbansi pengujian aktivitas antioksidan antara ekstrak kasar dari pelarut etanol dengan pelarut air demineralisasi.



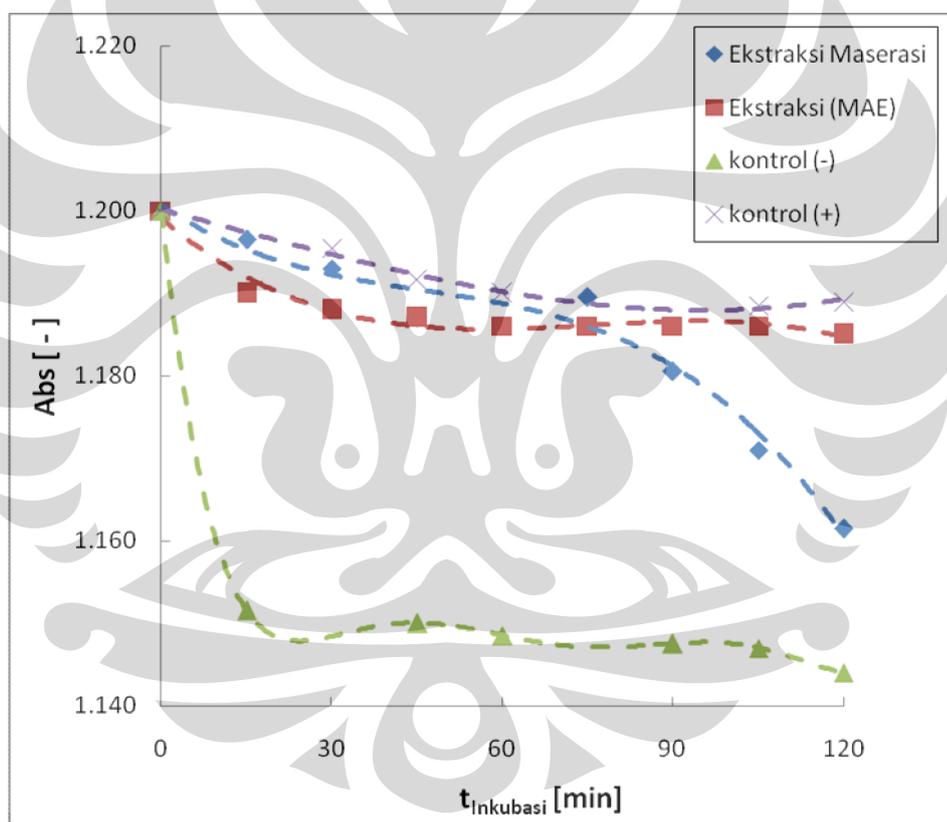
**Gambar 4.16** Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun *Ageratum conyzoides* L. dari ekstraksi variasi pelarut.

Absorbansi dari sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5 % berat ekstrak kasar yang diperoleh melalui ekstraksi berbantu gelombang mikro dengan pelarut etanol memiliki penurunan absorbansi yang lebih kecil dibandingkan absorbansi dengan pelarut air demineralisasi. Dari 30 menit pertama, laju penurunan absorbansi dari sampel dengan ekstrak kasar yang diperoleh melalui ekstraksi berbantu gelombang mikro berpelarut air demin lebih besar dibanding yang berpelarut etanol.

Selanjutnya dari hasil ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol diperoleh *yield* sebesar 0,426 gr dari lima gram padatan serbuk daun bandotan atau 8,52 % (rasio ekstrak/padatan). Untuk hasil *yield* maksimum ekstraksi dengan berbantu gelombang mikro diperoleh sebesar 0.2055 gram atau lebih dari 10 % dengan *yield* pada kondisi ekstraksi yang menghasilkan aktivitas antioksidan terbesar, sebesar 0.1751 gram atau 8,75 %. Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi berbantu gelombang mikro dengan pelarut etanol akan lebih baik dalam memperoleh *yield* ekstraksi dibanding ekstraksi maserasi berpelarut etanol.

Dari hasil perhitungan aktivitas antioksidan diperoleh besar aktivitas antioksidan ekstrak kasar daun bandotan melalui ekstraksi maserasi sebesar 31.25 %. Sedangkan pada ekstrak kasar yang diperoleh dari ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro diperoleh hasil maksimal yaitu sebesar 73,21 %. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar yang diperoleh dari maserasi memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan ekstrak kasar hasil ekstraksi berbantu gelombang mikro.

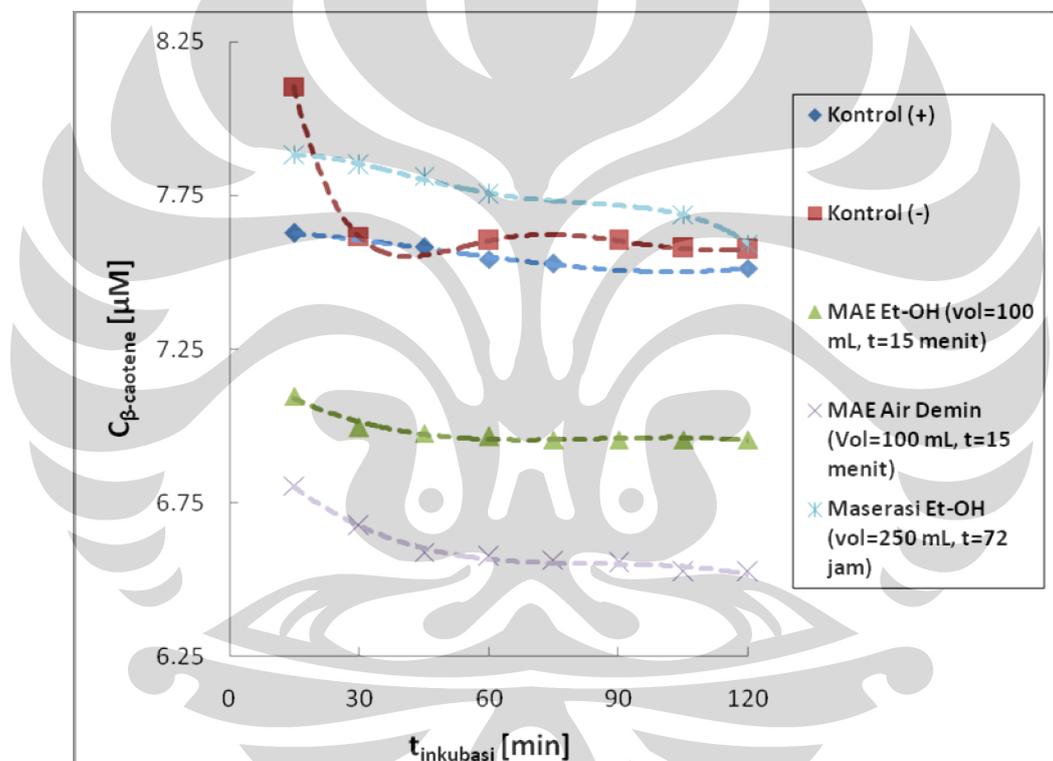
Berikut gambar perubahan absorbansi selama inkubasi ekstrak kasar hasil ekstraksi maserasi bandotan dibanding dengan ekstrak kasar hasil ekstraksi berbantu gelombang mikro, kontrol negatif dan kontrol positif.



**Gambar 4.17** Perubahan absorbansi pada 453 nm selama waktu inkubasi dalam sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun *Ageratum conyzoides* L. dari ekstraksi berbantu gelombang mikro dan maserasi.

Dari grafik dapat terlihat penurunan absorbansi dari sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan ekstrak kasar hasil maserasi memiliki laju

penurunan absorbansi lebih besar kecil menit ke 15 hingga ke menit 75 dibanding sistem beta karoten-minyak goreng yang ditambahkan ekstrak kasar hasil ekstraksi dengan gelombang mikro berpelarut etanol. Namun pada menit ke 75 hingga 120 penurunan aktivitas antioksidan sangat tinggi, hal ini dimungkinkan karena sangat berkurangnya kandungan senyawa yang memiliki kandungan antioksidan karena telah bereaksi dengan radikal bebas. Gambar 4.18 menjelaskan mengenai perubahan konsentrasi dari penambahan ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi gelombang mikro dengan menggunakan dua pelarut yang berbeda, etanol dan air demin serta ekstraksi meserasi berpelarut etanol.



Gambar 4.18 Perubahan konsentrasi betakaroten selama waktu inkubasi dalam sistem betkaroten-minyak goreng yang ditambahkan 5% berat ekstrak kasar daun *Ageratum conyzoides L.* dari ekstraksi gelombang mikro (MAE) dengan pelarut etanol dan air demin serta ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol.

Berikut tabel yang berisi perbandingan antara *yield* dan aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar yang diperoleh dari ekstraksi berbantu gelombang mikro dengan pelarut etanol dan air demin dan ekstraksi maserasi berpelarut etanol.

**Tabel 4.1. Data ekstrak kasar hasil ekstraksi berbantu gelombang mikro (MAE) berpelarut etanol dan air demin serta ekstraksi maserasi**

	<b>MAE (pelarut etanol)</b>	<b>MAE (pelarut air demin)</b>	<b>Ekstraksi Maserasi (pelarut etanol)</b>
<b>Kondisi operasi:</b>			
<b>Waktu</b>	15 menit	15 menit	72 jam
<b>Volume pelarut (mL)</b>	100 mL	100 mL	250 mL
<b>Yield (gram)</b>	0,18	0,58	0,43
<b>Aktivitas antioksidan</b>	73,21 %	50,00 %	31,25 %



## BAB V

### KESIMPULAN

1. Persen berat ekstrak per berat simplisia yang dihasilkan pada variasi volume pelarut etanol dari 20 mL, 40 mL, 60 mL, 80 mL, dan 100 mL berturut-turut adalah 1,65 %, 3,77 %, 4,30 %, 5,99 %, dan 8,75 %. Persen Berat ekstrak kasar yang didapatkan mengalami kenaikan yang mencapai titik maksimal pada volume pelarut 100 mL. Kecenderungan kenaikan persen berat ekstrak disebabkan karena adanya kontak antara serbuk daun dengan etanol semakin besar dan senyawa bioaktif di dalam daun akan lebih cepat berpindah dari sel daun ke pelarut.
2. Persen Berat ekstrak per berat simplisia yang dihasilkan pada variasi waktu ekstraksi dari 5, 10, 15, 20 dan 25 menit berturut-turut adalah 7,21 %, 7,95 %, 8,75 %, 10,28 % dan 8,86 %. Persen berat ekstrak cenderung naik kemudian 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 metode ekstraksi berbantu gelombang mikro dengan pelarut etanol, yaitu sebesar 73,21 %. Aktivitas ini diperoleh kondisi waktu 15 menit dan jumlah pelarut 100 mL.
4. Aktivitas Antioksidan yang diperoleh dengan ekstraksi berbantu gelombang mikro berpelarut etanol lebih besar dibanding berpelarut air demineralisasi, yaitu berturut-turut sebesar 73,21 % dan 50,00 %. Namun persentase *yield* ekstraksi yang diperoleh ekstraksi berbantu gelombang mikro berpelarut air demineralisasi lebih besar dibanding berpelarut etanol, yaitu berturut-turut sebesar 29 % dan 8,75 %. Hal ini disebabkan air demineralisasi lebih banyak melarutkan senyawa bioaktif yang tidak memiliki kemampuan aktivitas antioksidan yang baik.
5. Aktivitas Antioksidan yang diperoleh dengan ekstraksi berbantu gelombang mikro berpelarut etanol lebih besar dibanding ekstraksi dengan ekstraksi maserasi berpelarut etanol, yaitu berturut-turut sebesar 73,21 % dan 31,25 %. Persentase *yield* ekstraksi yang diperoleh ekstraksi berbantu gelombang

mikro berpelarut etanol lebih besar dibanding ekstraksi maserasi berpelarut etanol, yaitu berturut-turut sebesar 8,75 % dan 8,52 %. Hal ini disebabkan air demineralisasi lebih banyak melarutkan senyawa bioaktif yang tidak memiliki kemampuan aktivitas antioksidan yang baik.



## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. *Ageratum conyzoides* L. [http://en.Wikipedia.org/wiki/Ageratum\\_conyzoides](http://en.Wikipedia.org/wiki/Ageratum_conyzoides). (Diakses 18 Mei 2010)
- 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.
- Ballard, Temeshia S. *Optimizing the Extraction of Phenolic Antioxidant Compounds from Peanut Skins*. Virginia: Doctor of Philosophy in Biological Systems Engineering Virginia Polytechnic Institute and State University, 2008.
- Baker, H.G. *Characteristics and modes of origin of weeds*. Academic Press, New York. 1965.
- Borthakur, N. and A.K.S. Baruah. *Search for precocenes in Ageratum conyzoides Linn. of North-East India*. J. Indian Chem. Soc. 64:580–581.1987.
- Burton, Graham W. *Antioxidant Action of Carotenoids*. The Journal of Nutrition, 1988.
- Dean, John R. *Extraction Methods for Environmental Analysis*. London: John Wiley & Sons Ltd., 1998.
- Durodola, J.J. *Antibacterial property of crude extracts from herbal wound healing remedy—Ageratum conyzoides*. Planta Med. 32:388–390, 1977.
- Ekundayo, O., S. Sharma, dan E.V. Rao. *Essential oil of Ageratum conyzoides*. Planta Med. 54:55–57, 1988.
- European Parliament and Council Directive No. 95/2/EC
- Gonzales, A.G., G. Thomas, and P. Ram. *Chromenes form Ageratum conyzoides*. Phytochemistry 30:1137–1139,1991.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Oxidative stress and antioxidant protection: some special cases*. In: Halliwell B, Gutteridge JMC (eds) *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford Science Publications, Oxford, UK, pp. 485-543, 2000.

- Iqbal, MCM et al. *A Fungistatic Chromene from Ageratum conyzoides*. *Phytoparasitica* 32(2):119-126, 2004.
- J. Hao, W. Han, S. Huang, B. Xue and X. Deng. *Microwave-assisted extraction of artemisinin from Artemisia annua L.* *Sep.Purif. Technol.* 28, 191-196, 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.
- L. Wongkittipong , S. Prat, C. Damronglerd, Gourdon. *Solid-liquid extraction of Andrographolide from plants—experimental study, kinetic reaction and model*, *Sep. Purif. Technol.* 40, 147–154, 2004.
- Lin Chau Ming. *Ageratum conyzoides: A Tropical Source of Medicinal and Agricultural Products*. *Perspectives on new crops and new uses*. 1999.
- Kanitkar, Akanksha V. *Parameterization of Microwave Assisted Oil Extraction and Its Transesterification to Biodiesel*. Louisiana: Master of Science in Biological and Agricultural Engineering Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, 2010.
- 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
- Kong, C., Hu, F., and Xu, X. *Allelopathic potential and chemical constituents of volatile oil from A. conyzoides under Stress*. *J. Chem.Ecol.* 25:2347–2356. 1999.
- 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.
- 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.
- Miereles, M. Angela A. *Extracting Bioactive Compounds for Food Products, Theory and Applications*. CRC Press: Boca Raton, 2009.

- Mihaela, Nemes Simona. *Microwave-Assisted Extraction (MAE) of Secoisolariciresinol Diglucoside (SDG) from Flaxseed*. Montreal: Master of Science of Bioresource Engineering Department, McGill University, 2007.
- Nyemb, Nyunai et al. *Antioxidant potential of aqueous leaf extract of *Ageratum conyzoides* Linn.in diabetic rats*. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy Vol. 1(4) pp. 041-046,2009.
- Oladejo, O.W. *Enhancement of Cutaneous Wound Healing By Methanolic Extracts of *Ageratum conyzoides* in the Wistar Rat*.African Journal of Biomedical Research, Vol. 6 (1); 27 – 31, 2003.
- Othman, Azizah, et al.*Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans*.*Journal of Food Chemistry*, 100 (2007) 1523–1530; 2007.
- Pratt, D.E, et al.*Natural Antioxidant Not Exploited Commercially*. *Food Antioxidants*, editor B.J.F Hudson, hal.171-177. 1990.
- Qing, Chen Xiao, et. al.*Microwave-Assisted Extraction of Polysaccharides from *Solanum nigrum**. Journal Central South University Technology, Vol. 12, No. 5, 2005.
- G, Scott.*Antioxidants* .Japan: Bull. Chem. Soc., 1998.
- Shahidi, Fereidoon. *Antioxidant: Extraction, Identification, Application, and Efficiency measurement*. Journal of Environment, Agricultural, and Food Chemistry, 7 (8) 3325-3330, 2008.
- Evens, Martha. *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 20 Mei 2010)
- 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.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Data Berat Ekstrak.

#### Variasi Volume Pelarut

Volume (ml)	Berat Ekstrak (gram)	% (berat ekstrak/berat simplisia)
20	0.0330	1.6475
40	0.0755	3.7725
60	0.0861	4.3025
80	0.1198	5.9875
100	0.1751	8.7525

#### Variasi Waktu Ekstraksi

Waktu (menit)	Berat Ekstrak (gram)	% (berat ekstrak/berat simplisia)
5	0.1442	7.2100
10	0.159	7.9500
15	0.1751	8.7525
20	0.2055	10.2750
25	0.1771	8.8550

### Lampiran 2. Data Absorbansi Pada Uji Aktivitas Antioksidan dan nilai rata-ratanya.

Sampel	Besarnya Adsorbansi								
	0	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	0.9480	0.8980	0.9020	0.8950	0.8960	0.8980	0.8950	0.8950	0.8930
	0.9470	0.9000	0.9020	0.9000	0.8960	0.8970	0.8950	0.8940	0.8900
Rata-rata	0.9475	0.8990	0.9020	0.8975	0.8960	0.8975	0.8950	0.8945	0.8915
BHT	0.9000	0.9020	0.8950	0.8930	0.8910	0.8910	0.8870	0.8890	0.8890
	0.9000	0.9030	0.8960	0.8900	0.8890	0.8910	0.8870	0.8880	0.8900
Rata-rata	0.9000	0.9025	0.8955	0.8915	0.8900	0.8910	0.8870	0.8885	0.8895
Pelarut 20 ml Et-OH	0.8530	0.8250	0.8300	0.8260	0.8270	0.8080	0.8090	0.8080	0.8070
	0.8500	0.8230	0.8160	0.8150	0.8130	0.8070	0.8060	0.8050	0.8050
Rata-rata	0.8515	0.8240	0.8230	0.8205	0.8200	0.8075	0.8075	0.8065	0.8060
Pelarut 40 ml Et-OH	1.0360	1.0260	1.0170	1.0120	1.0100	1.0100	1.0090	1.0090	1.0080
	1.0360	1.0250	1.0160	1.0130	1.0100	1.0100	1.0080	1.0080	1.0080
Rata-rata	1.0360	1.0255	1.0165	1.0125	1.0100	1.0100	1.0085	1.0085	1.0080
Pelarut 60 ml Et-OH	0.8900	0.8790	0.8750	0.8730	0.8720	0.8700	0.8680	0.8670	0.8670
	0.8910	0.8800	0.875	0.8720	0.8710	0.8700	0.8680	0.8670	0.8670
Rata-rata	0.8905	0.8795	0.8750	0.8725	0.8715	0.8700	0.8680	0.8670	0.8670
Pelarut 80	0.7770	0.7620	0.7600	0.7600	0.7590	0.7600	0.7580	0.7580	0.7520

ml Et-OH	0.7770	0.7620	0.7580	0.7580	0.7570	0.7580	0.7600	0.7590	0.7630
Rata-rata	0.7770	0.7620	0.7590	0.7590	0.7580	0.7590	0.7590	0.7585	0.7575
Pelarut 100 ml Et- OH	0.8470	0.8360	0.8350	0.8340	0.8330	0.8330	0.8330	0.8330	0.8320
	0.8470	0.8380	0.8350	0.8340	0.8330	0.8330	0.8330	0.8330	0.8320
Rata-rata	0.8470	0.8370	0.8350	0.8340	0.8330	0.8330	0.8330	0.8330	0.8320
Ekstraksi 25 menit	0.8490	0.8370	0.8400	0.8340	0.8340	0.8310	0.8280	0.8280	0.8280
	0.8490	0.8400	0.8340	0.8360	0.8350	0.8320	0.8280	0.8280	0.8280
Rata-rata	0.8490	0.8385	0.8370	0.8350	0.8345	0.8315	0.8280	0.8280	0.8280
Ekstraksi 20 menit	0.8800	0.8750	0.8700	0.8700	0.8670	0.8640	0.8630	0.8620	0.8620
	0.8820	0.8760	0.8720	0.8680	0.8650	0.8630	0.8640	0.8620	0.8620
Rata-rata	0.8810	0.8755	0.8710	0.8690	0.8660	0.8635	0.8635	0.8620	0.8620
Ekstraksi 15 menit	0.8470	0.8380	0.8350	0.8340	0.8330	0.8330	0.8330	0.8330	0.8320
	0.8470	0.8360	0.8350	0.8340	0.8330	0.8330	0.8330	0.8330	0.8320
Rata-rata	0.8470	0.8370	0.8350	0.8340	0.8330	0.8330	0.8330	0.8330	0.8320
Ekstraksi 10 menit	0.8510	0.8440	0.8330	0.8360	0.8370	0.8340	0.8330	0.8230	0.8230
	0.8510	0.8440	0.8400	0.8350	0.8330	0.8280	0.8200	0.8240	0.8240
Rata-rata	0.8510	0.8440	0.8365	0.8355	0.8350	0.8310	0.8265	0.8235	0.8235
Ekstraksi 5 menit	0.8650	0.8480	0.8420	0.8400	0.8370	0.8320	0.8300	0.8280	0.8280
	0.8650	0.8500	0.8450	0.8410	0.8400	0.8330	0.8320	0.8300	0.8280
Rata-rata	0.8650	0.8490	0.8435	0.8405	0.8385	0.8325	0.8310	0.8290	0.8280
Pelarut Air Demin	0.8180	0.8050	0.7980	0.7960	0.7950	0.7940	0.7900	0.7900	0.7900
	0.8180	0.8050	0.7950	0.7940	0.7930	0.7920	0.7900	0.7900	0.7900
Rata-rata	0.8180	0.8050	0.7965	0.7950	0.7940	0.7930	0.7900	0.7900	0.7900
Maserasi pelarut etanol	0.9250	0.9220	0.9180	0.9120	0.9280	0.9160	0.9070	0.8980	0.8880
	0.9260	0.9220	0.9190	0.9130	0.9280	0.9140	0.9050	0.8950	0.8860
Rata-rata	0.9255	0.9220	0.9185	0.9125	0.9280	0.9150	0.9060	0.8965	0.8870

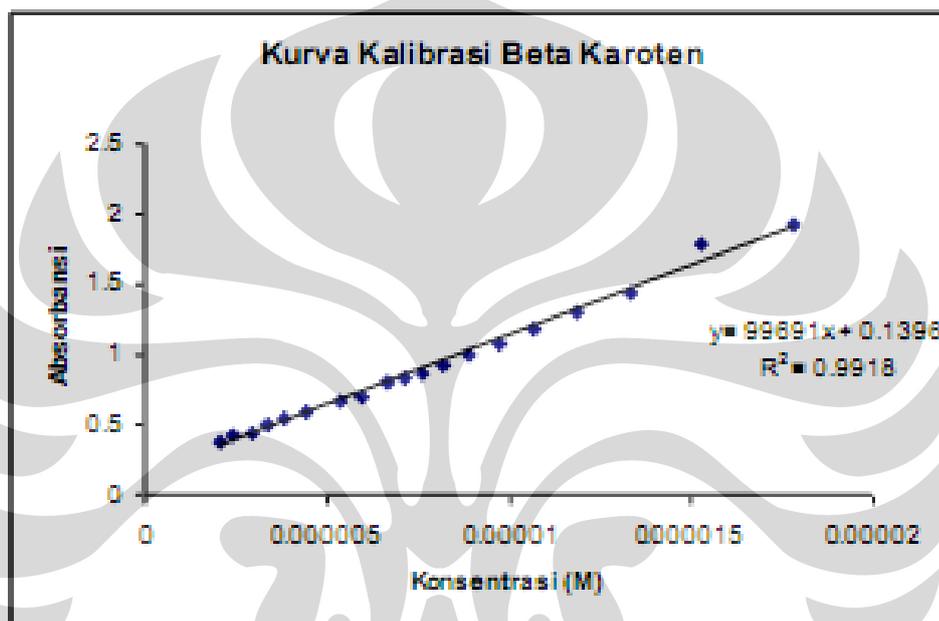
Data Absorbansi Rata-rata Pada Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel	Besarnya Adsorbansi								
	0	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	0.9475	0.8990	0.9020	0.8975	0.8960	0.8975	0.8950	0.8945	0.8915
BHT	0.9000	0.9025	0.8955	0.8915	0.8900	0.8910	0.8870	0.8885	0.8895
20 ml	0.8515	0.8240	0.8230	0.8205	0.8200	0.8075	0.8075	0.8065	0.8060
40 ml	1.0360	1.0255	1.0165	1.0125	1.0100	1.0100	1.0085	1.0085	1.0080
60 ml	0.8905	0.8795	0.8750	0.8725	0.8715	0.8700	0.8680	0.8670	0.8670
80 ml	0.7770	0.7620	0.7590	0.7590	0.7580	0.7590	0.7590	0.7585	0.7575
100 ml	0.8470	0.8370	0.8350	0.8340	0.8330	0.8330	0.8330	0.8330	0.8320
25 menit	0.8490	0.8385	0.8370	0.8350	0.8345	0.8315	0.8280	0.8280	0.8280
20 menit	0.8810	0.8755	0.8710	0.8690	0.8660	0.8635	0.8635	0.8620	0.8620
15 menit	0.8470	0.8370	0.8350	0.8340	0.8330	0.8330	0.8330	0.8330	0.8320
10 menit	0.8510	0.8440	0.8365	0.8355	0.8350	0.8310	0.8265	0.8235	0.8235

5 menit	0.8650	0.8490	0.8435	0.8405	0.8385	0.8325	0.8310	0.8290	0.8280
Air demin	0.8180	0.8050	0.7965	0.7950	0.7940	0.7930	0.7900	0.7900	0.7900
Maserasi	0.8415	0.8270	0.8200	0.8178	0.8163	0.8128	0.8105	0.8095	0.8090

**Lampiran 3. Konsentrasi Beta Karoten pada Sistem Beta Karoten-Minyak Goreng yang Ditambahkan Ekstrak Kasar Daun Bandotan pada Waktu Inkubasi Selama 120 Menit**

Nilai absorbansi ini diperoleh dengan menggunakan kurva kalibrasi beta karoten.



	Konsentrasi (Mikro Molar)							
	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	8.104	7.618		7.602		7.602	7.577	7.572
BHT	7.628		7.582	7.542	7.527			7.512
20 mL Et-OH	7.141	6.865	6.855	6.830	6.825	6.700	6.700	6.690
40 mL Et-OH	8.992	8.886	8.796	8.756	8.731	8.731	8.716	8.716
60 mL Et-OH	7.532	7.422	7.377	7.352	7.342	7.327	7.307	7.297
80 mL Et-OH	6.394	6.243	6.213	6.213	6.203	6.213	6.213	6.208
100 mL Et-OH	7.096	6.996	6.976	6.966	6.955	6.955	6.955	6.955
25 menit	7.116	7.011	6.996	6.976	6.971	6.940	6.905	6.905
20 menit	7.437	7.382	7.337	7.317	7.287	7.261	7.261	7.246
15 menit	7.096	6.996	6.976	6.966	6.955	6.955	6.955	6.955
10 menit	7.527	7.417	7.377	7.357	7.347	7.327	7.307	7.297
5 menit	7.276	7.116	7.061	7.031	7.011	6.950	6.935	6.915
Air Demin	6.805	6.675	6.589	6.574	6.564	6.554	6.524	6.524
Maserasi	7.883	7.848	7.813	7.753			7.688	7.592

#### Lampiran 4. Aktivitas Antioksidan

Dengan menggunakan persamaan 2.4 untuk menghitung aktivitas antioksidan diperoleh hasil pengujian aktivitas antioksidan dari tiap ekstrak yang ditambahkan ke dalam sistem beta karoten-minyak goreng adalah sebagai berikut:

<b>Aktivitas Senyawa Antioksidan</b>	
<b>Sampel</b>	<b>Aktivitas Antioksidan (%)</b>
<b>BHT</b>	<b>81.25</b>
<b>20 ml</b>	<b>18.75</b>
<b>40 ml</b>	<b>50.00</b>
<b>60 ml</b>	<b>58.04</b>
<b>80 ml</b>	<b>65.18</b>
<b>100 ml</b>	<b>73.21</b>
<b>5 menit</b>	<b>33.93</b>
<b>10 Menit</b>	<b>50.89</b>
<b>15 Menit</b>	<b>73.21</b>
<b>20 Menit</b>	<b>66.07</b>
<b>25 Menit</b>	<b>62.50</b>
<b>Air Demineralisasi</b>	<b>50.00</b>
<b>Maserasi</b>	<b>41.96</b>

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

Laju degradasi dihitung dengan persamaan 4.3. Dari hasil perhitungan diperoleh hasil perhitungan pada tabel berikut.

	Laju Degradasi							
	15	30	45	60	75	90	105	120
<b>BHT</b>	( - )	0.00020	0.00025	0.00022	( - )	0.00019	( - )	( - )
<b>20 ml</b>	0.00263	0.00136	0.00099	0.00075	0.00085	0.00071	0.00062	0.00055
<b>40 ml</b>	0.00079	0.00073	0.00059	0.00049	0.00039	0.00035	0.00030	0.00026
<b>60 ml</b>	0.00098	0.00070	0.00054	0.00043	0.00037	0.00034	0.00030	0.00027
<b>80 ml</b>	0.00159	0.00096	0.00064	( - )	0.00038	0.00032	0.00028	0.00026
<b>100 ml</b>	0.00095	0.00057	0.00041	0.00033	0.00027	0.00022	0.00019	0.00018
<b>5 menit</b>	0.00149	0.00100	0.00076	0.00062	0.00061	0.00053	0.00048	0.00044
<b>10 Menit</b>	0.00066	0.00069	0.00049	0.00038	0.00038	0.00039	0.00038	0.00033
<b>15 Menit</b>	0.00095	0.00057	0.00041	0.00033	0.00027	0.00022	0.00019	0.00018
<b>20 Menit</b>	0.00050	0.00045	0.00036	0.00034	0.00032	0.00027	0.00025	0.00022
<b>25 Menit</b>	0.00099	0.00057	0.00044	0.00034	0.00033	0.00033	0.00029	0.00025