

Seri Teknologi Obat Herbal

by Abdul Mun'im

Submission date: 14-Mar-2022 01:03PM (UTC+0700)

Submission ID: 1783826988

File name: Seri_Teknologi_Obat_Herbal_v.2.2_Unesco_Abdul_Mun_im.pdf (17.63M)

Word count: 52247

Character count: 311071

**APLIKASI TEKNIK EKSTRAKSI HIJAU
PADA PENGEMBANGAN OBAT HERBAL**

deepublish / publisher

Fungsi dan sifat hak cipta Pasal 4

Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 huruf a merupakan hak eksklusif yang terdiri atas hak moral dan hak ekonomi.

Pembatasan perlindungan Pasal 26

Ketentuan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 23, Pasal 24, dan Pasal 25 tidak berlaku terhadap:

- i. Penggunaan kutipan singkat Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait untuk pelaporan peristiwa aktual yang ditujukan hanya untuk keperluan penyediaan informasi aktual;
- ii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk kepentingan penelitian ilmu pengetahuan;
- iii. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk keperluan pengajaran, kecuali pertunjukan dan Fonogram yang telah dilakukan Pengumuman sebagai bahan ajar; dan
- iv. Penggunaan untuk kepentingan pendidikan dan pengembangan ilmu pengetahuan yang memungkinkan suatu Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait dapat digunakan tanpa izin Pelaku Pertunjukan, Produser Fonogram, atau Lembaga Penyiaran.

Sanksi Pelanggaran Pasal 113

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

46

SERI TEKNOLOGI OBAT HERBAL

**APLIKASI TEKNIK EKSTRAKSI
HIJAU PADA PENGEMBANGAN
OBAT HERBAL**

ABDUL MUN'IM

ISLAMUDIN AHMAD

 **deepublish**

Cerdas, Bahagia, Mulia, Lintas Generasi.

**APLIKASI TEKNIK EKSTRAKSI HIJAU PADA PENGEMBANGAN
OBAT HERBAL****Abdul Mun'im
Islamudin Ahmad**Desain Cover :
NamaSumber :
LinkTata Letak :
WerdiantoroProofreader :
Meyta LanjarwatiUkuran :
x, 244, Uk: 15.5x23 cmISBN :
No ISBNCetakan Pertama :
November 2021

Hak Cipta 2021, Pada Penulis

Isi diluar tanggung jawab percetakan

Copyright © 2021 by Deepublish Publisher
All Right Reserved**Hak cipta dilindungi undang-undang.**
Dilarang keras menerjemahkan, memfotokopi, atau
memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini
tanpa izin tertulis dari Penerbit.**PENERBIT DEEPUBLISH
(Grup Penerbitan CV BUDI UTAMA)**

Anggota IKAPI (076/DIY/2012)

Jl.Rajawali, G. Elang 6, No 3, Drono, Sardonoharjo, Ngaglik, Sleman

Jl.Kaliurang Km.9,3 – Yogyakarta 55581

Telp/Faks: (0274) 4533427

Website: www.deepublish.co.idwww.penerbitdeepublish.comE-mail: cs@deepublish.co.id

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Swt. karena atas kehendaknya penulisan buku ini dapat diselesaikan. Buku ini disarikan dari hasil penelitian mahasiswa Kelompok Penelitian *ionic liquids* (IL) dan *natural deep eutectic solvents* (NADES) dari Program Sarjana, Program Pascasarjana, baik Magister maupun Doktor di Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.

Tema yang diangkat adalah mengenai pemanfaatan metode ekstraksi pada pengembangan obat herbal. Hal ini karena penulis berpikir bahwa bagian proses merupakan salah satu bagian sangat penting dalam pengembangan obat herbal. Walaupun tema umum, tetapi pada buku ini sebenarnya ditekankan pada metode ekstraksi hijau dengan disertai contoh-contoh hasil penelitian. Walaupun metode ini belum banyak diaplikasikan pada industri herbal secara umum, tetapi sudah banyak digunakan pada industri bahan baku kosmetik.

Besar harapan agar kita bisa mampu bersaing dengan negara lain dalam bidang ekstraksi. Ucapan terima kasih penulis sampaikan pada mahasiswa bimbingan sarjana-pasca sarjana yang telah bekerja sama dalam penelitian metode ekstraksi hijau khususnya cairan ionik dan NADES. Juga kepada teman sejawat yang telah membimbing bersama.

Terakhir buku ini belum sempurna mohon masukan-masukan agar bisa lebih baik lagi.

Terima kasih

Penulis
Agustus 2021

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	v	
DAFTAR ISI	vi	
BAB I	EKSTRAKSI	1
1.1	Latar Belakang	1
1.2	Definisi Ekstraksi	3
1.3	Faktor Mempengaruhi Ekstraksi	5
1.3.1.	pH	6
1.3.2.	Polaritas	6
1.3.3.	Stabilitas terhadap panas	7
1.3.4.	Pemilihan pelarut	7
1.3.4.1	Pelarut polar	8
1.3.4.2	Pelarut Nonpolar	9
1.3.4.3	Pelarut Semi polar	9
1.3.4.4	Campuran Azeotrop	9
1.4	Metode Ekstraksi	10
Daftar Pustaka	14	
BAB II	METODE EKSTRAKSI KONVENSIONAL	16
2.1	Latar Belakang	16
2.2	Maserasi	17
2.3	Perkolasi	19
2.4	Infusa	22
2.5	Dekokta	23
2.6	Digesti	25
2.7	Sokhletasi	25
2.8	Distilasi	27

2.9	<i>Enfleurage</i>	29
2.10	Ekspresi/ Pemasakan	30
	Daftar Pustaka	31
BAB III	EKSTRAKSI NON-KONVENSIONAL	33
3.1	Latar Belakang	33
3.2	<i>Microwave Assisted Extraction (MAE)</i>	34
3.3	<i>Ultrasound Assisted Extraction (UAE)</i>	37
3.4	<i>Supercritical Fluid Extraction (SCFE)</i>	39
3.5	<i>Enzyme Assisted Extraction</i>	40
3.6	<i>Accelerated Solvent Extraction (ASE)</i>	41
3.7	<i>Pulsed Electric Field (PEF)</i>	43
3.8	<i>Solid Phase Micro Extraction (SPME)</i>	45
	Daftar Pustaka	46
BAB IV	APLIKASI CAIRAN IONIK (IONIC LIQUID) PADA PROSES EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER	49
4.1.	Latar Belakang	49
4.2.	Cairan ionik sebagai pelarut hijau untuk ekstraksi	51
4.3.	Sudut pandang toksisitas dan dampak lingkungan.....	55
4.4.	Ekstraksi metabolit sekunder menggunakan cairan ionik dengan bantuan gelombang mikro	57
4.5	Aplikasi berbasis cairan ionik.....	59
4.6	Mekanisme Metode Ekstraksi Cairan ionik.....	64
	Daftar Pustaka	66
BAB V	EKSTRAKSI POLIFENOL DARI HERBA SURUHAN MENGUNAKAN CAIRAN IONIK	77
5.1	Latar Belakang	77
5.2	Klasifikasi dan Morfologi Herba Suruhan	79
5.3	Penggunaan secara Empiris.....	80
5.4	Aplikasi Cairan Ionik pada Proses Ekstraksi Polifenol	81
5.5	Penentuan Kadar Polifenol Total	82
5.6	Dasar Pemilihan Jenis Cairan Ionik.....	86

5.7	Optimasi Metode Ekstraksi IL-MAE	88
5.7.1	Analisis Faktor Tunggal	88
5.7.2	Analisis <i>Response Surface Methodology</i>	90
	Daftar Pustaka	94
BAB VI	APLIKASI CAIRAN IONIK PADA EKSTRAKSI GAMMA-ORYZANOL DARI DEDAK PADI (<i>Oryza sativa L.</i>)	100
6.1	Latar Belakang	100
6.2	Kandungan Kimia Dedak Padi	102
6.3	Gamma-Oryzanol	102
6.4	Mekanisme Gastroprotektif Gamma-Oryzanol	103
6.5	Penapisan Cairan Ionik dan Garam untuk Ekstraksi Gamma-Oryzanol	104
6.6	Optimasi Metode IL-MAE	104
6.7	Kondisi Optimum IL [BMIM]BF ₄ -MAE	107
6.8	Kondisi Optimum Cairan Ionik [BMIM]PF ₆ -MAE	113
	Daftar Pustaka	114
BAB VII	APLIKASI CAIRAN IONIK PADA EKSTRAKSI BRAZILIN DARI KAYU SECANG	120
7.1	Latar Belakang	120
7.2	Khasiat Kayu Secang	121
7.3	Penarikan Senyawa Target dari Pelarut Cairan Ionik ..	123
7.4	Optimasi Ekstraksi	126
7.5	Aktivitas Penghambatan Enzim DPP-IV	128
	Daftar Pustaka	130
BAB VIII	APLIKASI CAIRAN IONIK PADA PROSES EKSTRAKSI RESVERATROL DARI KULIT KACANG TANAH	134
8.1	Latar Belakang	134
8.2	Morfologi, Habitat, dan Penyebaran Kacang Tanah....	135
8.3	Khasiat Resveratrol	136
8.4	Ekstraksi Resveratrol Menggunakan Cairan Ionik	137
	Daftar Pustaka	142

BAB IX	APLIKASI NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS (NADES) SEBAGAI PELARUT PADA PROSES EKSTRAKSI	149
9.1	Latar Belakang	149
9.2	NADES sebagai Pelarut Alternatif	151
9.3	Faktor-faktor yang Mempengaruhi Hasil	158
9.4	Stabilitas Senyawa dalam NADES	166
9.5	Bioaktivitas Senyawa dari Ekstrak NADES.....	170
9.6	Bioavailabilitas Senyawa dalam NADES	176
9.7	Aplikasi NADES dalam Farmasi dan Nutrasetikal.....	178
	Daftar Pustaka	180
BAB X	APLIKASI NADES PADA EKSTRAKSI SENYAWA TARGET DARI KULIT KAYU MANIS DAN BATANG SECANG	188
10.1	Latar belakang	188
10.2	Kayu manis	188
10.2.1	Deskripsi Tanaman	189
10.2.2	Kandungan kimia	190
10.2.3	Farmakologi Kulit Kayu Manis.....	191
10.3	Kayu Secang.....	192
10.3.1	Deskripsi, Taksonomi, dan Morfologi	192
10.3.2	Kandungan Kimia Kayu Secang	194
10.3.3	Farmakologi Kayu Secang	197
10.4	Ekstraksi Kayu Secang Menggunakan NADES	197
10.5	Ekstraksi Kulit kayu Manis Menggunakan NADES.....	200
10.6	Ekstraksi Kombinasi Kayu Secang dan Kulit Kayu Manis Menggunakan NADES.....	212
	Daftar Pustaka	220
BAB XI	APLIKASI NADES PADA EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER DARI BIJI KOPI HIJAU	224
11.1	Latar Belakang	224
11.2	Kandungan kimia	226
11.3	Manfaat Biji Kopi	226
11.4	Ekstraksi NADES Biji Kopi Hijau.....	227

11.5	Ekstraksi Biji Kopi Hijau dengan NADES HBA Kolin Klorida	228
11.6	Ekstraksi Biji Kopi Hijau dengan NADES HBA Betain ...	229
	Daftar Pustaka	232
	INDEKS	235
	BIOGRAFI PENULIS	242

BAB I

EKSTRAKSI

1.1 Latar Belakang

Produk alami seperti tanaman adalah sumber daya hayati terkaya dari senyawa bioorganik untuk obat-obatan modern, *nutraceuticals*, suplemen, dan aplikasi produk farmasi. Tanaman juga banyak digunakan dalam industri makanan dan kesehatan. Keberadaan senyawa fitokimia aktif dapat digunakan untuk pengobatan penyakit serta untuk peningkatan kecantikan dan kesehatan memberikan efek menguntungkan bagi manusia. Teknologi pengolahan dan ekstraksi tanaman yang efisien telah dikembangkan untuk mendapatkan jumlah bahan aktif dari tanaman dalam jumlah yang optimal.

Badan Kesehatan Dunia (WHO) mendefinisikan pengobatan tradisional sebagai serangkaian keterampilan, pengetahuan, pendekatan dan praktik Kesehatan berdasarkan kepercayaan/ keyakinan, teori, dan pengalaman masyarakat dengan berbagai adat istiadat yang berbeda yang memanfaatkan dan menggunakan bahan alami (termasuk tanaman, hewan, dan mineral), yang digunakan secara tunggal atau dalam kombinasi, untuk mengobati, mendiagnosis dan mencegah penyakit atau menjaga kesehatan. Produk tanaman baru-baru ini semakin penting dalam pengobatan masalah yang berhubungan dengan kesehatan. Laporan WHO menyatakan bahwa hampir 5,6 miliar

orang, atau sekitar 80% dari populasi penduduk dunia, menggunakan produk tanaman untuk perawatan kesehatan primer mereka. Produk ini juga diresepkan oleh Farmakope Nasional Cina dan India (Mohammad Azmin, *et al.*, 2016).

Di seluruh dunia, lebih dari 35.000 spesies tanaman telah dilaporkan penggunaannya untuk tujuan medis. Namun, jumlah spesies tanaman yang begitu luas, baru dilaporkan sekitar 121 senyawa aktif yang telah digunakan, yang sekitar 25% berasal dari resep obat tanaman. Kandungan fitokimia pada tanaman obat, seperti flavonoid, fenolat, dan saponin, diyakini memiliki banyak kemampuan terapeutik dan mampu mengurangi risiko berbagai penyakit, termasuk kondisi peradangan dan kanker (Mohammad Azmin, *et al.*, 2016).

Peneliti dari berbagai disiplin ilmu dihadapkan pada tantangan mengekstraksi bahan biologis dengan pelarut, seringkali sebagai langkah pertama menuju isolasi dan mengidentifikasi senyawa yang bertanggung jawab atas aktivitas biologis yang terkait dengan aktivitas biologis bahan dan ekstraknya. Secara biologis dan ekologis, metabolit sekunder dari tanaman penting sebagai senyawa pertahanan dan pembawa pesan kimia. Isolasi metabolit dari sumber alam perlu memperhatikan langkah-langkah persiapan sampel agar didapatkan bahan ekstrak yang dapat dianalisis secara kimiawi dan biologi (Roopashree & Naik, 2019).

Secara tradisional, ekstrak tanaman disiapkan dengan cara merebus akar, daun, atau seluruhnya tanam di air menggunakan metode yang dikenal sebagai Tisane atau Dekoksi. Jenis ekstrak ini dapat dikonsumsi secara oral, tetapi memakan waktu dan mungkin bukan metode yang paling efektif untuk mengekstraksi bahan aktif dari tanaman (Mohammad Azmin, *et al.*, 2016).

Berdasarkan literatur, perolehan zat bioorganik dengan metode ekstraksi konvensional lebih baik, memfasilitasi ekstraksi zat bioorganik dengan konsentrasi tinggi dengan sistem pelarut yang aman seperti etanol murni, dan cara sederhana. Namun, metode ekstraksi konvensional tidak selalu cocok untuk keperluan industri karena waktu ekstraksi yang lama dan konsumsi sistem pelarut berbahaya dalam jumlah besar

seperti metanol. Oleh karena itu, metode ekstraksi nonkonvensional modern dapat menjadi alternatif. Meskipun hasil yang baik dicapai dengan metode ekstraksi konvensional, metode ekstraksi non-konvensional modern dikembangkan untuk mencari metode ekstraksi yang lebih cepat dan lebih baik yang mengkonsumsi lebih sedikit pelarut (Roopan & Madhumitha, 2018)

1.2 Definisi Ekstraksi

Tiap langkah mulai dari tahap penanaman hingga pemanenan harus diperhatikan. Proses pemanenan harus dioptimalkan berdasarkan bagian tanaman yang diinginkan. Tabel 1.1 menjelaskan pemilihan waktu panen agar memberikan hasil optimal dalam proses ekstraksi (Mohammad Azmin, *et al.*, 2016).

Tabel 1.1 Panduan Umum untuk Pemanenan Bagian Tumbuhan

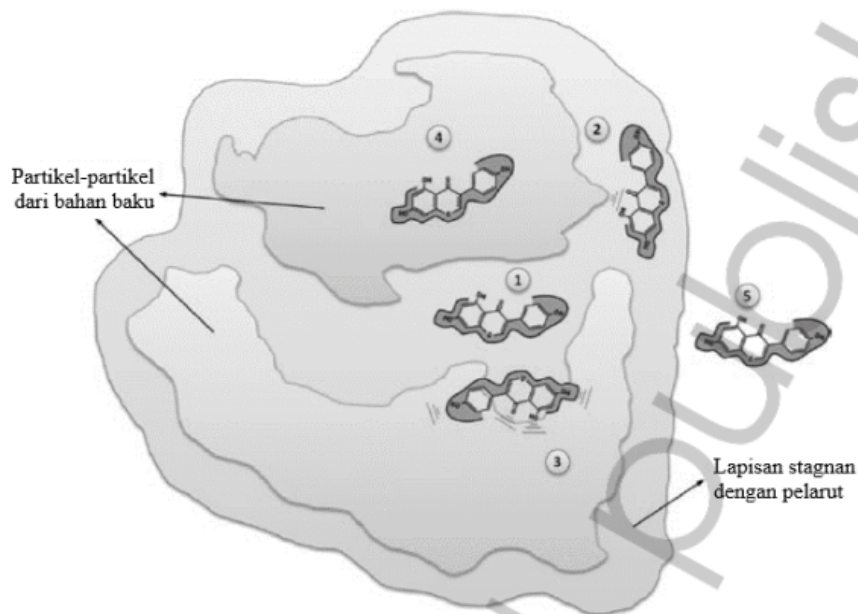
Bagian Tumbuhan yang Dikoleksi	Waktu dan Tahap Pemanenan
Keseluruhan bagian tumbuhan	Ketika mulai berbunga
Akar dan rimpang	Kematangan penuh, tingkat kematangan suatu spesies harus ditentukan terlebih dahulu
Daun	Daun yang berkembang penuh
Batang atau kulit batang	Di awal musim hujan, tahap kematangan spesies harus ditentukan terlebih dahulu
Kayu	Menjelang akhir musim hujan
Bunga	Di awal periode bunga mekar
Buah	Pematangan penuh
Biji	Ketika buah sudah matang

Menurut Goeswin, 2009, ekstraksi adalah proses penarikan zat target dari sampel menggunakan media pelarut. Ekstraksi merupakan langkah awal untuk mendapatkan senyawa aktif atau senyawa kimia dari sumber nabati atau pemisahan zat bioorganik alami dari komponen *inert*-nya dengan menggunakan berbagai pelarut dalam prosedur ekstraksi standar. Namun, seiring perkembangan ilmu pengetahuan dan penemuan alat-alat baru. Ekstraksi saat ini dapat dilakukan

tanpa pelarut. Pada metode ini akan terjadi pemisahan antara senyawa yang diinginkan dengan yang tidak diinginkan. Salah satu metode yang sangat dikenal ada pengepresan. Metode lain dengan menggunakan alat misalnya energi gelombang mikro, dapat dilakukan tanpa penambahan pelarut. Sebagai media pembawa pada metode tersebut adalah air atau cairan yang terdapat dalam sampel. Jadi, bahan yang bisa dilakukan dengan metode ini harus memiliki kandungan air, misalnya: buah segar.

Pada umumnya, senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam bahan alam (terutama tumbuhan dan hewan) lebih mudah dipisahkan menggunakan pelarut tertentu. Proses terekstraksinya senyawa metabolit sekunder pada matriks sampel bahan alam terjadi ketika pelarut mampu berpenetrasi ke dalam dinding sel, hingga menembus rongga sel di mana terdapat senyawa metabolit sekunder, kemudian melarutkan senyawa metabolit karena terjadi perbedaan konsentrasi antara larutan yang mengandung zat terlarut di dalam sel dengan pelarut di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini secara terus menerus akan terjadi hingga mencapai keseimbangan antara zat terlarut dengan pelarut di luar sel.

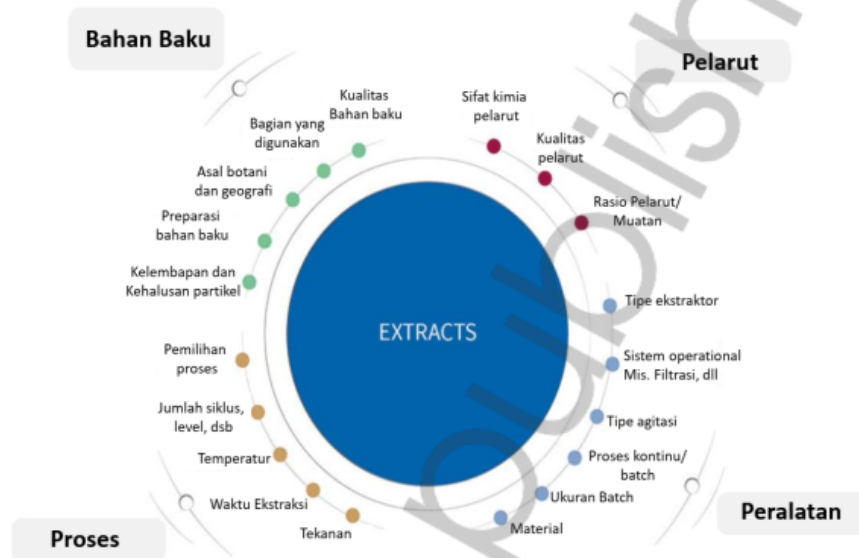
Berdasarkan konsep proses tersarinya metabolit sekunder seperti pada Gambar 1.1, menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung di dalam matriks sampel bahan alam dapat terabsorpsi melalui permukaan pori (1), dengan adanya pelarut, metabolit sekunder akan terabsorpsi pada permukaan pori (2), terlarutkan/terserap pada pori berukuran mikro/nano (3), senyawa kimia terikat pada matriks (4), atau terlarutkan dalam sejumlah besar pelarut/dalam larutan (5). Mekanisme ini tergantung posisi metabolit sekunder sehingga sangat berpengaruh pada proses ekstraksinya. Pada biji-bijian, buah-buahan (padat), batang, dan akar posisi zat terlarut biasanya terdistribusi ke seluruh sel-sel matriks dalam bentuk padat, sedangkan di daun dan bunga zat terlarut berada di dalam kelenjar trikoma yang sifatnya rapuh.



Gambar 1.1 Konseptualisasi dari matriks bahan alam dan tempat yang mungkin molekul kecil dapat ditemukan (sumber diperoleh dari S.H. Risvi, 2010. dalam A. Rostagno dan J.M. Prado, 2013)

1.3 Faktor Mempengaruhi Ekstraksi

Proses ekstraksi metabolit dapat bergantung pada pemisahan komponen antara fase pelarut dan pembentukan residu padat, konsentrasi volume pelarut harus gradien antara misel, yang kemudian harus menjadi nol untuk mencapai tahap kesetimbangan. Keadaan kesetimbangan tergantung pada sifat dan sifat fisika-kimia metabolit, kuantitas, jenis serta kadar pelarut, rasio pelarut dengan serbuk, lamanya ekstraksi, suhu, pH, luas permukaan sampel, dan tekanan. Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 1.2. Pengetahuan dasar tentang sifat fisikokimia fitokonstituen dan karakteristiknya sangat penting untuk memilih metode dan pelarut untuk ekstraksi. Sifat fitokonstituen meliputi pH, polaritas, stabilitas termo, dan sebagainya (Roopashree & Naik, 2019).



Gambar 1.2 Parameter yang mempengaruhi kualitas ekstrak

1.3.1. pH

Ekstraksi komponen sangat dipengaruhi oleh pH pelarut. Alkaloid non-polar tidak dapat diekstraksi secara sistem berair tetapi dapat diekstraksi menjadi asam berair polar karena sifat dasarnya dan pembentukan garam dalam asam. Asam lemak, fenol, dan asam organik dari tumbuhan lainnya diekstraksi menggunakan pelarut pada pH basa. Senyawa yang tidak stabil pada pH yang digunakan. Misalnya, ester rentan terhadap hidrolisis dalam alkali dan glikosida menghidrolisis sebagian gula asam.

1.3.2. Polaritas

Polaritas pelarut sangat berpengaruh besar pada hasil ekstraksi. Senyawa nonpolar larut dengan pelarut nonpolar dan begitu juga sebaliknya dengan prinsip "like dissolve like". Pemilihan pelarut tergantung pada salah satu sifat fisika dan kimia senyawa target secara langsung atau ekstraksi komponen diikuti dengan menghilangkan

senyawa-senyawa pengganggu terlebih dahulu. Contoh untuk ekstraksi kurkumin dilakukan penghilangan lemak terlebih dahulu kemudian dilanjutkan untuk ekstraksi dengan metanol dan kloroform.

1.3.3. Stabilitas terhadap panas

Biasanya kelarutan senyawa target meningkat dengan kenaikan temperatur. Temperatur yang lebih tinggi memfasilitasi penetrasi pelarut ke dalam struktur seluler tanaman dan meningkatkan kelarutan senyawa target. Selain itu, peningkatan temperatur juga mempercepat proses difusi larutan fitokonstituen dan dalam matriks atau sel. Komponen yang termolabil sensitif terhadap temperatur yang lebih tinggi. Senyawa artefak dapat terbentuk dengan adanya pelarut/komponen pada pemanasan, misalnya: asam organik akan bereaksi dengan pelarut etanol atau metanol membentuk ester. Hal ini dapat menurunkan senyawa kadar aktif secara biologis dan berakibat pada penurunan aktivitas. Selain itu, degradasi senyawa target juga dapat menimbulkan masalah pemisahan.

1.3.4. Pemilihan pelarut

Metabolit sekunder memiliki derajat kepolaran yang berbeda-beda sehingga pelarut yang harus dipilih untuk ekstraksi dipertimbangkan dengan hati-hati untuk memastikan disolusi sekunder metabolit yang diteliti. Pelarut (campuran pelarut, misalnya: alkohol-air) yang digunakan untuk melarutkan metabolit sekunder akan berdifusi keluar yang melarutkan zat terlarut. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi harus memiliki karakteristik ideal sebagai berikut:

1. Memiliki selektivitas yang tinggi terhadap bahan, harus melarutkan metabolit sekunder.
2. Mudah dihilangkan atau dipisahkan dari senyawa target, mudah menguap, dan tidak membentuk zat yang tidak stabil selama ekstraksi.
3. Tidak bereaksi dengan senyawa target atau bersifat *inert*.
4. Tidak Beracun, tidak mudah terbakar.

5. Ramah lingkungan, dan harga murah.
6. Tidak ada interaksi atau interaksi kimiawi rendah.
7. Bebas dari bahan peliat (dialkil ftalat, tri-n-butyl asetil sitrat, tri-butyl fosfat)/pengotor.
8. Tidak merusak alat ekstraksi.
9. Bisa didaur ulang atau dipakai kembali.

Beberapa pelarut yang umum digunakan adalah:

- a. Polar, contoh air.
- b. Nonpolar, contoh petroleum eter, dan dietil eter.
- c. Semipolar, contoh etanol, aseton, dan etil asetat.
- d. Campuran azetropik.

1.3.4.1 Pelarut polar

Senyawa polar seperti polisakarida, fenol, aldehid, keton, amina, dan senyawa mengandung oksigen lainnya akan larut dalam air, karena membentuk ikatan hidrogen. Senyawa kelompok alkohol alifatik menyebabkan penurunan kelarutan metabolit sekunder dalam air. Gugus polar yang terdapat dalam molekul, misalnya gliserin, asam tartrat, dan propilen glikol, kelarutan dalam air meningkat pesat karena penambahan gugus polar. Adanya percabangan gugus rantai karbon dapat mempengaruhi kepolaran (penurunan efek nonpolar) dan meningkatkan kelarutan dalam air (n-butyl alkohol larut dengan rasio 8 g/100 ml air pada temperatur 20°C, sedangkan butyl alkohol tersier dapat dengan mudah larut pada semua proporsi dalam air).

Biasanya pelarut polar memiliki konstanta dielektrik tinggi dapat menurunkan kemampuan gaya tarik antara ion bermuatan berlawanan, seperti natrium klorida atau kristal molekul lain. Pelarut polar seperti air memiliki konstanta dielektrik 80, sedangkan yang melarutkan komponen polar dengan cepat dari pelarut nonpolar kloroform, yang memiliki dielektrik konstanta 5. Oleh karena itu, pelarut organik nonpolar praktis tidak dapat melarutkan senyawa ionik dengan konstanta dielektrik yang rendah.

Berikut ini adalah karakteristik dari pelarut polar:

1. Sifat gaya interaksi dipol yang dimiliki oleh pelarut polar menyebabkan pembentukan ikatan hidrogen antara pelarut dan zat ionik. Misalnya, kelarutan garam natrium dari asam oleat dan air disebabkan oleh interaksi ion-dipol.
2. Pelarut polar memutuskan ikatan kovalen yang berpotensi elektrolit kuat dengan reaksi asam-basa karena pelarut ini amphiprotik. Misalnya, air menyebabkan ionisasi HCl sebagai berikut:
 - a) Air tidak mengionisasi asam organik secara signifikan.
 - b) Terbentuknya ikatan hidrogen dengan air disebabkan karena sifat kelarutan parsial. Asam karboksilat dan senyawa fenol mudah larut dengan basa kuat.

1.3.4.2 Pelarut Nonpolar

215

Pelarut nonpolar memiliki konstanta dielektrik yang rendah sehingga dapat melarutkan senyawa nonpolar dengan interaksi dipol yang menyebabkan adanya induksi tekanan. Senyawa polar sedikit larut atau tidak larut dalam pelarut nonpolar. Ikatan London dan Van der Waals yang lemah bertanggung jawab atas kelarutan molekul.

1.3.4.3 Pelarut Semi polar

62

Pelarut semi polar seperti alkohol dan keton dapat mengakibatkan perubahan tingkat kepolaran dengan pelarut nonpolar, seperti benzena yang mudah mengalami polarisasi sehingga mudah larut dalam alkohol. Pelarut semipolar berperan sebagai pelarut perantara yang menghasilkan kelarutan cairan polar dan nonpolar.

1.3.4.4 Campuran Azeotrop

Azeotrop merupakan campuran dua atau lebih pelarut dengan kepolaran yang berbeda dengan titik didih yang hampir sama atau berdekatan. Komposisi pelarut ini akan berpengaruh terhadap tingkat ekstraksi dan sifat disolusinya. Campuran azeotrop terdiri dari dua

bentuk yaitu azeotrop negatif dan positif. Azeotrop negatif merupakan campuran dengan tekanan azeotrop minimum atau didih maksimum, sebagai contoh asam klorida dengan rasio konsentrasi dalam air sebesar 20,2%. Azeotrop positif merupakan campuran didih minimum atau tekanan maksimum, sebagai contoh etanol dalam air dengan rasio konsentrasi 95,63%.

Karena kekhasan campuran azeotrop ini, maka dapat digunakan dan dimanfaatkan sebagai pelarut dalam proses destilasi maupun dalam proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder target tertentu, dan terkadang memerlukan teknik khusus untuk memaksimalkan kemampuannya untuk menarik senyawa metabolit sekunder target.

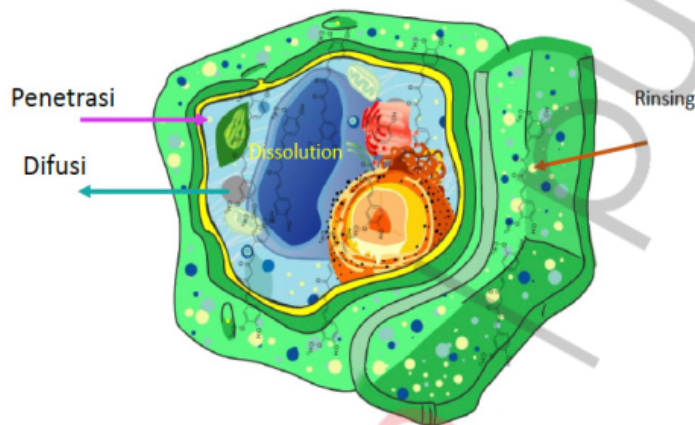
Teknik yang digunakan untuk meningkatkan ekstraksi di antaranya adalah:

1. *Ultrasound* dapat meningkatkan proses ekstraksi untuk beberapa bahan tanaman. Misalnya, pemakaian larutan etanol 50% opium untuk pengujian alkaloid.
2. Penggunaan gelombang mikro juga dapat meningkatkan ekstraksi.
3. Mengubah polaritas.
4. Meningkatkan tekanan.
5. Pengadukan.
6. Mengubah pH.
7. Mengurangi ukuran partikel, namun harus diperhatikan untuk bahan mengandung minyak atsiri, dan proses penyaringan.
8. Melakukan *pretreatment*, misalnya: menghilangkan pengotor, merusak dinding sel.
9. Mengombinasi dua atau lebih metode ekstraksi.

1.4 Metode Ekstraksi

Dengan keragaman metode dan prinsip ekstraksi yang berbeda, pemilihan teknik ekstraksi yang tepat dan terbaik perlu dievaluasi dengan cermat untuk mencapai jumlah dan kualitas ekstraksi yang tinggi (fitokonstituen).

Selama proses ekstraksi metabolit sekunder dari tanaman, terjadi mekanisme pembilasan/pelarutan zat ekstraktif yang keluar dari sel tanaman yang hancur. Penambahan pelarut akan membuat sel tanaman “membengkak” berakibat pada peningkatan permeabilitas dinding sel, terjadi penetrasi pelarut, zat ekstraktif akan terlarut ke dalam pelarut, kemudian terjadi pembubaran zat ekstraktif yang akan keluar dari sel tanaman secara difusi (Gambar 1.3).



Gambar 1.3. Proses ekstraksi metabolit

Tahap awal dalam pemisahan satu bagian dari keseluruhan dapat disebut ekstraksi, dan sejumlah metode ekstraksi tersedia untuk tujuan ini. Ekstraksi menggunakan pelarut cair pada suhu kamar dan tekanan atmosfer adalah metode yang paling umum. Metode ekstraksi yang paling populer adalah menggunakan pelarut cair pada tekanan atmosfer, mungkin dengan menggunakan panas. Harus ditekankan bahwa metode yang diuraikan pada buku ini, akan menghasilkan ekstrak yang tetap multikomponen dan perlu dilanjutkan dengan fraksinasi atau isolasi, untuk menghilangkan bahan-bahan atau komponen yang tidak diinginkan, tidak berkaitan, maupun bahan yang berkaitan erat dalam matriks sampel bahan alam.

Tabel 1.2. Beberapa sifat ekstraktif terhadap senyawa metabolit sekunder pada penggunaan pelarut

Golongan Senyawa	Sifat	Pelarut Umum
Alkaloid	<ul style="list-style-type: none"> - Mengandung 1 atom N dan bersifat basa - Membentuk garam dengan pelarut asam 	Dietilamin, amonia, pelarut organik
Karotenoid	<ul style="list-style-type: none"> - Merupakan pigmen merah/oranye/kuning pada tanaman - Umumnya berupa tetraterpenoid, dan digolongkan menjadi hidrokarbon teroksigenasi (xantofil) - Hidrokarbon kurang polar dan xantofil lebih polar 	Petroleum eter untuk hidrokarbon, kloroform atau EtOH (etanol) atau campurannya untuk xantofil
Glikosida	<ul style="list-style-type: none"> - Bersifat polar tergantung jumlah dan jenis gula, dan struktur gula aglikon - Jika pelarut berupa air, perlu ditambahkan amonium sulfat atau alkohol untuk mencegah kerusakan enzimatis 	aseton, metanol, air, atau campurannya, kloroform
Fenolik	<ul style="list-style-type: none"> - Cenderung polar, bentuk sebagai fenol bebas atau glikosidanya - Dapat membentuk garam fenolat dengan pelarut alkali berair 	Alkohol berair, alkali berair
Protein	<ul style="list-style-type: none"> - Terdapat gugus karboksilat, amino, dan fenolik bebas pada strukturnya - Sebagian besar terionisasi pada pH tinggi atau rendah 	Air, dapar, asam atau basa, garam
Polisakarida	<ul style="list-style-type: none"> - Polimer dari gula, terdiri dari 3 jenis yaitu yang larut air, sebagian larut air, dan membentuk gel 	Air dingin/hangat untuk polisakarida larut air dan sebagian larut

Golongan Senyawa	Sifat	Pelarut Umum
Minyak atsiri	- Menguap di udara pada suhu kamar, berbau harum	Air

Alkohol (etanol dan metanol) adalah pelarut universal dalam pelarut ekstraksi untuk proses penelitian. Secara umum, semakin baik ukuran partikel bahan tanaman, semakin baik hasil ekstraksinya. Efisiensi ekstraksi akan menjadi meningkat dengan meningkatnya difusi zat terlarut dan penetrasi pelarut kedalam matriks sampel yang disebabkan oleh ukuran partikel yang makin kecil. Selain itu, efisiensi ekstraksi meningkat seiring dengan peningkatan waktu ekstraksi dalam rentang waktu tertentu. Waktu yang meningkat tidak akan mempengaruhi ekstraksi setelah terjadi keseimbangan zat terlarut dalam pelarut yang digunakan. Semakin besar rasio *solvent-to-solid*, semakin tinggi hasil ekstraksi. Namun, rasio yang terlalu tinggi akan mengakibatkan pelarut ekstraksi berlebihan dan membutuhkan waktu lama untuk terkonsentrasi dan juga biaya produksi (Zhang et al., 2018).

Tabel 1.3. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi senyawa (Rasul, 2018)

Jenis Pelarut	Metabolit Sekunder
Air	Tannin, Antosianin, Terpenoid, Saponin
Etanol	Tannin, Terpenoid, Polifenol, Flavonoid, Alkaloid
Metanol	Tannin, Terpenoid, Polifenol, Saponin, Antosianin
Kloroform	Flavonoid, Terpenoid
Diklorometana	Terpenoid
Ether	Alkaloid, Terpenoid
Aseton	Flavonoid

Metode ekstraksi yang tepat harus dipilih untuk memastikan bahwa senyawa aktif potensial tidak hilang, terdistorsi atau hancur selama proses ekstraksi. Hal-hal yang perlu dipertimbangkan sebelum melakukan proses ekstraksi adalah (Roopan dan Madhumitha, 2018):

1. Polaritas senyawa (nonpolar ke polar dan tidak stabil secara termal) dari senyawa untuk mengetahui metode ekstraksi

yang akan dipertimbangkan.

2. Kandungan air bahan tanaman sangat penting untuk mencegah fermentasi mikroba dan degradasi metabolit selanjutnya yang dapat mempengaruhi kualitas ekstraksi.
3. Penggilingan bahan tanaman menjadi partikel yang lebih kecil untuk meningkatkan ekstraksi untuk memperluas kontak pelarut-senyawa target dan sampel lebih homogen, meningkatkan luas permukaan, dan memfasilitasi penetrasi pelarut ke dalam sel.
4. Pemilihan metode ekstraksi yang tepat untuk memastikan bahwa konstituen aktif potensial akan diekstraksi.

Daftar Pustaka

- 127 Ahmad, I., Aqil, F., Oawis, M. *Modern Phytomedicine, Turning Medicinal Plants into Drugs*. Weinheim: Penerbit WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 2006.
- 232 Anonim, *Acuan Sediaan Herbal*, vol 7, ed I, Direktorat Obat Asli Indonesia, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta. 2008.
- Evans WC. *Trease and Evans Pharmacognosy*, Edisi ke-25, New York: WB Saunders. 2002
- 13 Mohammad Azmin, S. N. H., Abdul Manan, Z., Wan Alwi, S. R., Chua, L. S., Mustafa, A. A., & Yunus, N. A.. *Herbal Processing and Extraction Technologies*. *Separation & Purification Reviews*, 2016; 45(4): 305–320.
- 192 Rastagno M.A., Villares A., Guillamon E., dan Prado J.M., *Natural Product Extraction: Principles and Applications*. Cambridge: Penerbit RSC Publishing 2013.
- 139 Roopan, S.M., Madhumitha, G. *Bioorganic Phase in Natural Food: An Overview*. In S. M. Roopan & G. Madhumitha (Eds.), *Bioorganic Phase in Natural Food: An Overview*. Springer International Publishing. 2018.

123

Roopashree, K.M., Naik, D. Advanced method of secondary metabolite extraction and quality analysis. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2019; 198(3): 1829–1842.

Sarker SD, Nahar L, *Natural products isolation: Methods and Protocols*, Third Edition. New Jersey: Penerbit Humana Press. 2005.

Sarker S.D., dan Nahar L., *Natural Product Isolation*. Edisi Ketiga. New York, Dordrecht, Heidelberg, Londong: Penerbit Springer Humana Press. 2012.

191

Shah B., dan Seth AK., *Textbook of Pharmacognosy & Phytochemistry*. New Delhi, India: Penerbit Saunders Elsevier. 2010.

Taiz, L., dan Zeiger, E., Photosynthesis: the light reactions. *Plant physiology*, 2006; 4: 20-30.

Vallisuta O., dan Olimat SM., *Drug Discovery: Research in Pharmacognosy*. Rijeka, Kroasia: Penerbit In Tech. 2012.

METODE EKSTRAKSI KONVENSIONAL

2.1 Latar Belakang

⁷⁹ Secara umum metode ekstraksi secara konvensional dikenal ada dua cara, yaitu cara panas dan cara dingin. Metode ekstraksi cara panas artinya proses ekstraksi yang dilakukan menggunakan bantuan pemanasan, sedangkan metode ekstraksi secara dingin artinya proses ekstraksi tidak menggunakan pemanasan. Akan tetapi, hanya dilakukan perendaman pada pelarut tertentu pada suhu kamar. Perbedaan cara ekstraksi tersebut dilakukan karena mempertimbangkan sifat kestabilan senyawa metabolit sekunder target.

Metabolit sekunder pada umumnya tersimpan dalam struktur sel, maka untuk menarik senyawa tersebut perlu dilakukan ekstraksi menggunakan metode tertentu agar dapat dipisahkan dari residunya. Dengan demikian akan diperoleh ekstrak dengan kadar senyawa metabolit sekunder tinggi dan jika diperlukan untuk pemurnian maka akan mudah dilakukan isolasi. Namun, kompleksitas dan selektivitas senyawa metabolit sekunder di dalam matriks tumbuhan yang menyebabkan pemisahan senyawa target butuh metode khusus untuk dapat memisahkan senyawa metabolit sekunder tersebut. Beberapa metode konvensional yang umum dan spesifik digunakan untuk senyawa tertentu dibahas pada bagian bab ini.

2.2 Maserasi

Maserasi dikenal sebagai metode ekstraksi yang murah dan mudah untuk mendapatkan senyawa bioaktif dari suatu tanaman. Kata maserasi atau "*Macerare*" (berasal dari Bahasa Latin), yang berarti rendam atau disebut ekstraksi padat – cair. Pada awalnya, maserasi adalah proses ekstraksi dengan minyak atau lemak panas. Pada teknik ini, sel minyak dari bunga dipecah melalui perendaman dalam lemak atau minyak panas pada suhu 60 – 70°C yang selanjutnya menyerap minyak esensial. Lemak dipisahkan dari bunga dan digunakan kembali untuk menyerap keharuman dari kumpulan bunga segar berikutnya. Lemak diperoleh kembali dengan tekanan hidrolik. Pomade sering dimaserasi menggunakan alkohol pekat untuk menghasilkan ekstrak.

Maserasi umumnya memiliki beberapa langkah. Pertama, penggilingan bahan tanaman menjadi partikel kecil yang bertujuan untuk meningkatkan luas permukaan untuk pencampuran yang baik dengan pelarut. Kedua, pelarut yang tepat ditambahkan ke dalam wadah tertutup yang telah berisi serbuk simplisia dan dibiarkan selama beberapa waktu pada suhu ruang. Ketiga, cairan disaring untuk memisahkan dari residu. Proses pengadukan pada maserasi sesekali dilakukan untuk memudahkan proses ekstraksi dengan meningkatkan laju difusi (Azmir, *et al.*, 2013).

Metode ekstraksi maserasi baik digunakan untuk mengekstraksi metabolit yang bersifat termolabil. Namun, metode ini juga memiliki kelemahan antara lain, membutuhkan waktu ekstraksi yang cukup lama, pelarut yang cukup banyak, dan adanya risiko senyawa tidak terekstraksi seluruhnya jika kelarutan zat pada suhu ruang rendah (Sarker, *et al.*, 2005).



Gambar 2.1 Proses Maserasi

Teknik maserasi berevolusi, yaitu bahan tanaman direndam dalam *menstruum* secara utuh, berbentuk kasar atau berbentuk tepung dalam wadah yang tertutup rapat dengan mulut lebar dengan sering dilakukan agitasi atau pengadukan. Hal ini untuk mengatasi masalah pada ekstraksi, yaitu perlunya waktu lama untuk mencapai kesetimbangan dan kejenuhan pelarut. Cara lain untuk mengatasi masalah tersebut adalah dengan pemanasan atau pengadukan. Modifikasi metode maserasi ini dikenal dengan Digesti.

Maserasi sering digunakan sebagai langkah awal *pretreatment* untuk ekstraksi selanjutnya. Bahan baku tanaman untuk ekstraksi umumnya kering dengan kadar air rendah. Hal ini menyebabkan kekakuan dan kepadatan pada struktur matriks, sedangkan pada kondisi alaminya mengandung air cukup tinggi. Dengan perendaman pelarut berair, struktur tersebut menjadi lebih renggang terbuka dan pelarut pengestraksi mudah berpenetrasi dan juga berdifusi. Dengan demikian proses ekstraksi dengan metode ekstraksi lain akan lebih cepat dan mudah.

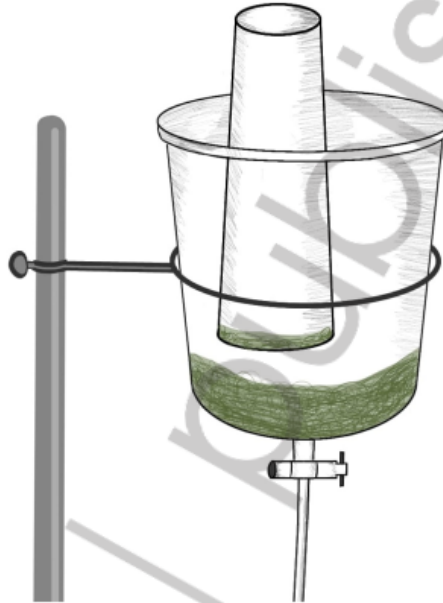
Pemilihan pelarut pada metode konvensional ini akan menentukan jenis komponen bioaktif. Pelarut yang sering digunakan adalah air dan alkohol atau kombinasi keduanya. Namun, maserasi jangka panjang dengan pelarut air harus diwaspadai karena mudah terjadi kontaminasi jamur dan ragi yang tidak mungkin terjadi dalam alkohol atau larutan hidroalkohol. Selain itu enzim-enzim, seperti polifenol oksidase masih dapat bekerja pada lingkungan berair tinggi.

Secara umum, mekanisme maserasi adalah bahan tanaman ditempatkan dalam bejana tertutup dan pelarut ditambahkan. Keadaan seperti itu dibiarkan untuk waktu yang lama (bervariasi dari jam ke hari) dengan pengadukan sesekali. Waktu yang cukup diberikan bagi pelarut untuk berpenetrasi dan berdifusi ke dinding sel untuk melarutkan konstituen yang ada di tumbuhan. Prosesnya terjadi secara difusi molekuler. Setelah waktu yang diinginkan tercapai, cairan disaring, dan residu padat ditekan untuk memperoleh pelarut sebanyak mungkin.

Teknik maserasi memiliki keunggulan, yaitu sederhana tanpa alat yang rumit, tidak perlu keterampilan operator, hemat energi, ideal untuk senyawa yang tidak mudah larut, dan cocok untuk memperoleh bahan baku obat yang murah atau tidak terlalu potensial dan termolabil. Untuk kerugiannya adalah butuh waktu lama hingga berhari-hari, tidak banyak mengekstrak senyawa, prosesnya lambat, dan butuh pelarut yang banyak.

2.3 Perkolasi

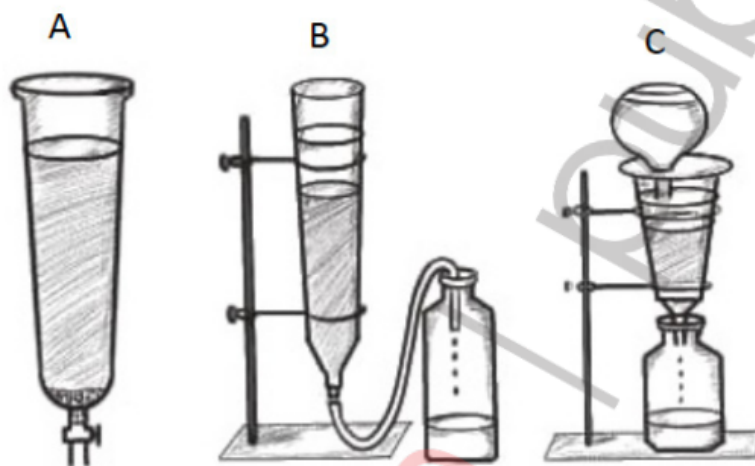
Perkolasi biasanya termasuk salah satu metode yang paling sering untuk ekstraksi tanaman karena tidak membutuhkan banyak manipulasi atau waktu. Perkolasi adalah proses berkelanjutan di mana pelarut jenuh terus-menerus digantikan oleh pelarut *menstruum* segar. Biasanya perkolasi sampel diperkuat dalam pelarut di perkolator selama 24 jam (hingga tiga kali) dan kemudian ekstrak dikumpulkan.



Gambar 2.2 Pengepresan residu Perkolator

Perkolasi banyak digunakan untuk mendapatkan tingtura dan ekstrak cair. Proses ekstraksi secara perkolasi dilakukan dengan membasahi sampel dengan sejumlah pelarut yang sesuai, kemudian dibiarkan selama 4 jam dalam wadah tertutup dengan baik. Selanjutnya sampel yang telah terbasahi dimasukkan kedalam wadah perkolator dan bagian atas perkolator ditutup. Sejumlah pelarut ditambahkan hingga menutupi dan membentuk lapisan tipis di atas sampel dan dibiarkan selama perkolator ditutup selama 24 jam. Tempat keluar larutan perkolator kemudian diatur sedemikian rupa agar cairannya keluar dengan cara menetes secara perlahan. Secara perlahan pula, pelarut ditambahkan sesuai kebutuhan dan dibiarkan meresap dengan diberikan sekitar tiga perempat dari volume ekstrak yang diinginkan. Residu sampel kemudian ditekan dan cairan ditambahkan ke perkolator. Proses ini diulangi hingga tetesan pelarut dari perkolator saat menguap tidak meninggalkan residu.

Keuntungan teknik perkolasi lebih cepat dibanding maserasi, dapat diterapkan terhadap konstituen yang termolabil, cocok untuk bahan baku obat yang mahal dan potensial, serta teknik ekstraksi paripurna. Namun, kerugian teknik ini membutuhkan waktu lebih lama daripada teknik Sokhlet, pelarut yang lebih banyak, dibutuhkan keterampilan operator, dan perlu memperhatikan ukuran partikel bahan.



Gambar 2.3 Beberapa metode perkolasi, (A dan B) perkolator biasa, (C) perkolator kontinu

Beberapa masalah yang mungkin muncul pada saat perkolasi adalah:

- Jika zat aktifnya termolabil, penguapan dalam volume besar dapat menyebabkan hilangnya sebagian dari konstituen aktif
- Jika pelarutnya berupa campuran alkohol-air, hasil penguapan dalam penguapan alkohol meninggalkan konsentrat yang berair, yang mungkin tidak mampu mempertahankan materi yang diekstraksi dalam larutan dan dapat terjadi pengendapan. Hal ini dapat ditanggulangi dengan cara penguapan pada tekanan rendah (vakum). Evaporasi dilakukan agar semua bagian air dihilangkan.

Pengembangan dari metode perkolasi adalah dengan meningkatkan temperatur dengan demikian proses pelarutan dan kesetimbangan lebih cepat. Karena terjadi peningkatan kelarutan lebih cepat, metode pelarut hangat pada perkolasi bisa dikombinasikan dengan pemberian tekanan. Dengan demikian proses ekstraksi menjadi lebih cepat.

2.4 Infusa

Infusa merupakan salah satu metode ekstrak paling tua dan sudah lama digunakan manusia. Infusa mengacu pada proses ekstraksi menggunakan air sebagai pelarut dalam penangas air (temperatur di mana bejana infus direndam dalam penangas air pada temperatur terukur 96-98°C selama waktu tertentu (15-20 menit) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.4 (Departemen Kesehatan RI, 2000). Infus dibuat dengan merendam tanaman dalam air selama periode waktu khusus. Prosesnya bisa umumnya panas. Umumnya, infus selalu disiapkan baru untuk segera digunakan menggunakan karena menggunakan pelarut air, dan tanpa penambahan apapun. Dengan demikian produk tersebut tidak memiliki waktu simpan lama. Untuk mengatasinya dapat dilakukan dengan metode yang mengurangi kontak dengan udara luar, agar terhindar dari kontaminasi. Metode lain adalah dengan penambahan bahan yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Proses ini sangat sederhana dan mudah, tetapi tidak banyak zat yang dapat diekstraksi. Prosesnya, yaitu dengan menyiapkan wadah bersih, bagian tanaman direndam seluruhnya dalam air panas atau dingin, diamkan sekitar 15 menit, lalu saring.



Gambar 2.4 Panci infusa

2.5 Dekokta

Dekokta juga merupakan metode ekstraksi sudah lama digunakan untuk ekstraksi, dekokta berasal dari kata Latin “*dekoktum*” merupakan sediaan cair yang diperoleh dengan cara mengekstraksi komponen tumbuhan dengan menggunakan air sebagai pelarut pada temperature 90°C. Metode ini dilakukan dengan cara yang sama dengan infusa, tetapi memerlukan waktu yang lebih lama. Teknik ini cocok untuk senyawa yang dalam larut air, dan tidak hancur dengan pemanasan menggunakan panci tim seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.5. Dekokta digunakan untuk ekstraksi bagian tanaman keras seperti akar, kulit kayu, kayu, dan sebagainya, yang memiliki senyawa yang larut dalam air. Untuk potongan kulit kayu yang besar, waktu pendidihan lebih lama hingga 2 jam atau lebih karena perlu untuk memecah, melembutkan, dan mengekstrak potongan yang lebih besar. Alternatif lain, potongan besar kayu tersebut dijadikan potongan lebih kecil, dilakukan proses pendidihan selama 20 menit, kemudian dibiarkan (rendam) semalaman sebelum menyaring ramuannya. Ketika penyaringan, potongan kayu tersebut diberi tekanan agar mendapat hasil rebusan sebanyak mungkin.



Gambar 2.5 Panci dekokta

Secara umum, dekokta diterapkan dengan mekanisme mendidihkan bahan dengan air menggunakan panas, sampai air berkurang seperempatnya. Kemudian, ekstrak didinginkan dan disaring dengan wadah bersih. Keuntungan teknik dekokta adalah cocok untuk senyawa tahan panas, peralatan murah dan sederhana, mudah pelaksanaannya, dan tidak memerlukan keterampilan khusus, sedangkan kerugiannya adalah tidak cocok untuk senyawa termolabil dan juga produk tidak tahan lama. Sama dengan infusa untuk mempanjang usia dapat dapat dilakukan.

Keuntungan metode dekokta yaitu peralatan yang digunakan sederhana dan biaya operasional yang relatif rendah. Sedangkan kerugian, yaitu (i) senyawa metabolit sekunder terlarut kemungkinan dapat mengendap kembali, terutama jika temperaturnya kembali pada suhu kamar, (ii) hilangnya senyawa atsiri, (iii) beberapa zat-zat akan rusak

dengan pemanasan, (iv) ekstrak tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam pada suhu kamar karena kurang stabil dan mudah terkontaminasi bakteri dan jamur, dan (v) terkadang beberapa simplisia akan menghasilkan ekstrak yang berlendir, menyebabkan penyaringan menjadi sulit.

2.6 Digesti

Digesti merupakan modifikasi dari maserasi. Modifikasi ini dilakukan untuk mengatasi kekurangan-kekurangan metode ekstraksi maserasi. Pengertian digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengocokan tertentu) pada temperatur di atas temperatur kamar, biasanya 40-50°C (Departemen Kesehatan RI, 2000). Dengan penambahan pengadukan dan atau pemanasan proses transfer masa lebih cepat, dengan demikian proses ekstraksi juga lebih cepat. Selain itu, terjadi peningkatan kelarutan senyawa target dengan adanya peningkatan temperatur.

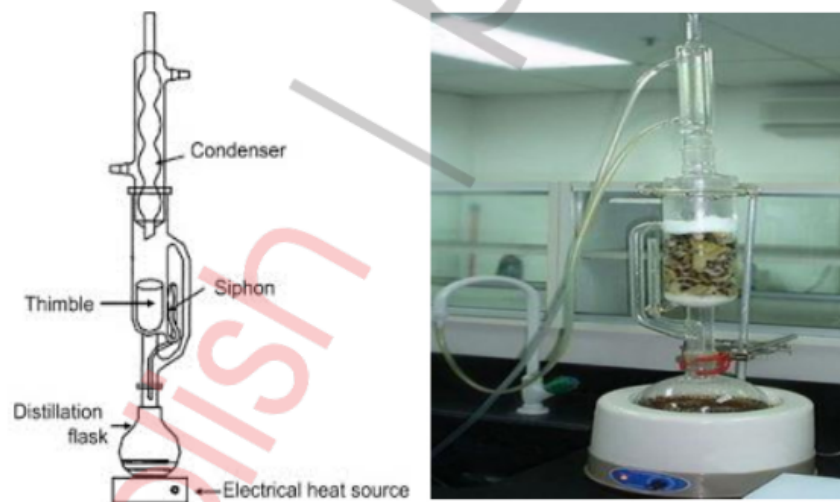
2.7 Sokhletasi

Pada awalnya, alat sokhlet atau soxhlet digunakan untuk penentuan lemak dalam susu, ditemukan oleh ilmuwan pertanian Jerman, Franz von Soxhlet pada tahun 1871 (Gambar 2.6). Alat sokhlet terdiri dari tabung gelas vertikal yang berfungsi untuk menampung sampel tanaman yang akan diekstraksi, memiliki *siphon* dan tabung uap yang terpasang di dalamnya.

Sampel tanaman sering digiling menjadi bentuk halus untuk memfasilitasi transfer komponen aktif ke dalam pelarut yang lebih baik. Kemudian sampel herbal dimasukkan ke dalam *timble porous* dan tutup dengan kapas. *Timble* yang mengandung sampel ditempatkan ke dalam tabung kaca vertikal pada Sokhlet, kondensor refluks dipasang ke bagian atas sokhlet, sedangkan ujung bawahnya dipasang ke labu yang berisi pelarut organik atau air. Pelarut yang umum dipakai pada teknik sokhlet adalah aseton, kloroform, diklorometana, etil asetat, dan n-heksana atau petroleum eter karena menguap relatif cepat (Roopan dan Madhumitha, 2018). Air jarang digunakan karena mempunyai titik

dididih cukup tinggi dan beresiko terjadinya kerusakan senyawa hasil ekstraksi. Karena hasil ekstraksi akan tertampung dalam labu destilasi dan akan mengalami pemanasan tinggi selama ekstraksi berlangsung.

Pada teknik Sokhlet otomatis yaitu Soxtec, dibagi menjadi tiga tahap yaitu perebusan, pembilasan, dan penguapan. Seperti Sokhlet tradisional, sampel ditempatkan dalam *timble*, dalam tahap pendidihan *timble* diturunkan ke dalam pelarut mendidih, sedangkan segera setelah mendidih, *timble* dinaikkan. Pada tahap pembilasan, pelarut yang direfluks meresap atau membilas zat terlarut dari sampel herbal. Selama penguapan, aliran pelarut ditampung terlebih dahulu pada wadah simplisia/ekstraksi agar tidak kembali ke labu destilasi, lalu mengalir keluar melalui tabung ke labu destilasi.



Gambar 2.6 Alat Sokshlet

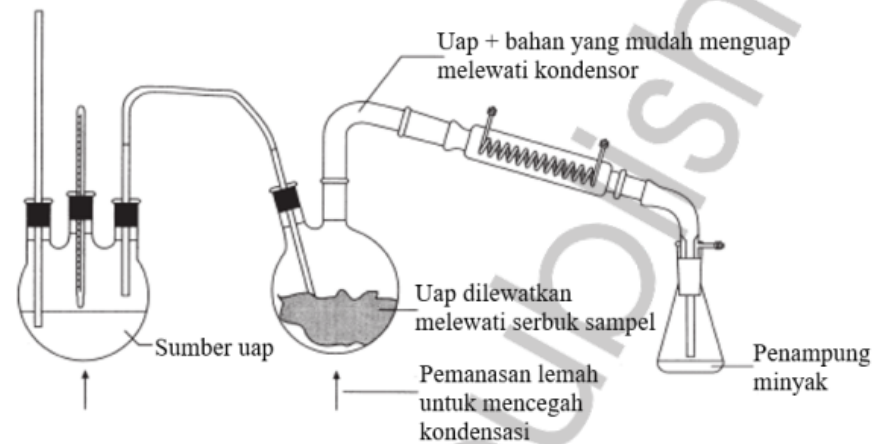
Seringkali sampel direndam atau dibasahi dengan pelarut dahulu. Pelarut dalam labu dipanaskan dengan pemanas mantel, uapnya akan melalui tabung uap dan kondensor sehingga menyebabkan uap terkondensasi dan jatuh ke ruang ekstraksi. Ketika tingkat pelarut di tabung kaca atau ruang ekstraksi mencapai tingkat luapan, pelarut akan mengalir kembali tabung *siphon* ke dalam labu destilasi

yang membawa serta konstituen yang diekstraksi. Keseluruhan proses ini terus berulang hingga pelarut di ruang ekstraksi habis.

Keuntungan dari teknik sokhlet adalah sederhana dengan sedikit pelatihan, mampu mengekstrak massa sampel lebih banyak daripada kebanyakan metode alternatif terbaru seperti ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro dan ekstraksi cairan superkritis, pelarut dapat digunakan kembali, tidak memerlukan filtrasi setelah ekstraksi, tidak tergantung jenis senyawa, teknik sederhana, dan perpindahan transfer kesetimbangan berulang kali karena pelarut *fresh* bersentuhan dengan matriks padat. Namun, teknik ini memerlukan waktu yang lama, dan penggunaan panas tidak cocok untuk senyawa termolabil, proses intensif di laboratorium, pelarut yang banyak. Selain itu, ini juga tidak cocok untuk pelarut dengan titik didih tinggi karena dapat merusak senyawa yang tidak tahan panas. Waktu dan pelarut menjadi titik kritis dalam teknik sokhlet. Sampel biasanya diekstraksi pada titik didih pelarut dalam waktu lama, panas dapat menyebabkan dekomposisi senyawa target termolabil. Lamanya paparan bahan kimia organik terhadap bahan juga dapat menyebabkan terbentuk senyawa artefak. Contoh senyawa artefak pada tanaman herbal adalah keberadaan *diterpene-metil-ester* dalam ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculate*) dan ginsenoside Rg3 yang ada dalam akar ginseng.

2.8 Distilasi

Distilasi dapat didefinisikan sebagai pemisahan komponen-komponen campuran dua zat cair atau lebih berdasarkan perbedaan titik didih. Distilasi digunakan untuk minyak atsiri atau tanaman yang mengandung minyak atsiri, seperti buah jeruk dan bunga harum. Pelarut yang digunakan adalah air dan pelarut organik. Untuk menyebarkan minyak pada segel minyak itu memisahkan komponen berdasarkan perbedaan tekanan uap atau tekanan osmotik unit distilasi. Ada tiga sistem distilasi: air, uap, dan uap.



Gambar 2.7 Skema Destilasi Uap sederhana
(Sumber diperoleh dari Houston J.L., dan Raman A., 1998.)

Alat distilasi uap laboratorium sederhana ditunjukkan pada **Gambar 2.7**. Setelah minyak dan uap mengembun, kedua lapisan dapat dipisahkan secara fisik (seperti corong pemisah pada skala yang lebih kecil). Minyak bisa berada di atas atau bawah, tergantung pada kepadatan dalam kaitannya dengan air. Namun, jika kelarutan minyak dalam air dapat diterima, pelarut dapat digunakan untuk mengekstrak lapisan air untuk hasil yang lebih baik. Untuk minyak dengan densitas yang sama dengan air, pelarut organik, seperti xilena, yang lebih berat dari air, ditempatkan dalam wadah pengumpul. Minyak yang menguap larut di lapisan atas dengan cara yang sama seperti minyak mengembun. Untuk memaksimalkan hasil minyak, langkah-langkah harus diambil untuk memastikan kondensasi efektif uap dan minyak menguap, dan pengumpulan kondensat ini dilakukan sedemikian rupa untuk mencegah hilangnya volatil. Namun, sistem tertutup sepenuhnya tidak boleh digunakan untuk menghindari bahaya ledakan. ⁴⁸

Distilasi uap didasarkan pada prinsip fisik bahwa ketika dua cairan yang tidak dapat bercampur digabungkan, setiap cairan bertindak seolah-olah itu hanya pelarut dan menggunakan tekanan uap. Tekanan uap total cairan mendidih sama dengan jumlah tekanan uap parsialnya,

yaitu tekanan yang diberikan oleh masing-masing komponen. Titik didih yang dimaksud adalah tekanan uap total yang sama dengan tekanan atmosfer, sehingga setiap cairan mencapai titik didihnya pada suhu yang lebih rendah daripada suhu murninya.

Memaksimalkan hasil minyak memerlukan perbaikan berkala untuk memastikan bahwa kondensat dan minyak evaporasi beroperasi secara efisien dan pengumpulan kondensat bekerja dengan baik untuk mencegah hilangnya volatil. Untuk menghindari risiko ledakan, jangan gunakan sistem yang benar-benar tertutup. Keuntungan dari distilasi uap “kering” ini adalah relatif cepat dan menggunakan lebih sedikit energi.

Keuntungan dari metode distilasi adalah hasil minyak yang tinggi dan komponen minyak yang mudah menguap kurang rentan terhadap hidrolisis dan polimerisasi. Kerugiannya adalah perubahan kimia senyawa bioaktif dan hilangnya senyawa bioaktif sebagai molekul yang mudah menguap ketika pelarut dihilangkan, tetapi selektivitas senyawa dapat dianggap sangat rendah karena residu pelarut beracun juga dapat menjadi bagian dari ekstrak, tetapi ekstrak mengandung cenderung dilakukan. Seskuiterpen monoterpen berkecepatan tinggi dan seskuiterpen teroksigenasi.

2.9 *Enfleurage*

Enfleurage adalah proses ekstraksi wewangian dari bunga dari senyawa nonpolar dan mudah menguap, dengan menyerapnya menggunakan lemak dingin (Gambar 2.9). Proses ini digunakan pada bunga melati dan wangi bunga, yang memiliki karakteristik tetap keharuman bahkan dalam kondisi dipetik. Lemak harus jenuh dan tidak berbau untuk mencegah masuknya bau lemak. Lemak dari babi atau sapi lebih disukai.



Gambar 2.9 Proses *enfleurage*

Lemak dilapisi tipis di kedua sisi pelat kaca yang terpasang pada bingkai kayu persegi panjang atau casis. Bunga harum segar dilapisi sedikit di atas lemak sasis berlapis. *Enfleurage* memberikan hasil minyak bunga yang jauh lebih besar daripada metode konvensional lain. Namun, lemak dingin pada *enfleurage* telah diganti dengan ekstraksi dengan pelarut yang mudah menguap karena *enfleurage* adalah proses yang sangat rumit, panjang, harus banyak pengalaman, dan tenaga terlatih.

2.10 Ekspresi/ Pemasakan

Ekspresi merupakan proses fisik yang menerapkan suatu tekanan untuk memeras minyak keluar dari bahan atau sari dari tanaman. Metode ini digunakan untuk minyak esensial yang sensitif terhadap suhu, seperti minyak esensial dari kulit lemon dan jeruk, minyak kedelai, minyak bunga matahari, dan minyak zaitun (Gambar 2.10). Proses dilakukan dengan alat pengepres atau penghancur yang dioperasikan dengan tangan (manual) atau dengan mesin pres raksasa di industri. Kerusakan sel kernel dari bahan menyebabkan elusi minyak.



Gambar 2.10 Alat pengepresan

Ekspresi dapat digunakan untuk memperoleh minyak lemak ("fixed oil") dari bahan tanaman, meliputi penggunaan tekanan pada bahan yang akan mengganggu struktur sel dan memungkinkan minyak keluar dari bahan. Metode ini sering digunakan untuk industri-industri yang memproduksi minyak-minyak tumbuhan, seperti minyak kedelai, minyak bunga matahari, dan minyak zaitun. Panas dapat digunakan untuk membuat minyak kurang kental, tetapi dalam beberapa kasus, hal ini menghasilkan kualitas bahan yang diperoleh lebih rendah.

Daftar Pustaka

- 110 Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Saheha F, Mohamed, A, Jahurul M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng.* 2013; 117:426-436.
- 122 Fattorusso, E., Gerwick W.H., Tagliabatella-Scafati, O. *Handbook of Natural Products*. Heidelberg, New York, London: Penerbit Springer Dordrecht. 2012.

Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G., Rakesh, D.D. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Padeiciano, Trieste, Italy: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology. 2008.

Houghton P.J., Raman. *Laboratory Handbook of the Fractionation of Natural Extract*. 1st Edition. London: Chapman & Hall Publisher, Springer-Science+Business Media. V.B. 1998.

Khoddami, A., Wilkes, M., Roberts, T. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 2013; 18(3): 2328-2375.

Puertolas, E., Lopez, N., Condon, S., Alvarez, I., Raso, J. Evaluation of phenolic extraction during fermentation of red grapes treated by a continuous pulsed electric fields process at pilot-plant scale. *J Food Eng.* 2010; 98(1): 120-125.

Rastagno, M.A., Villares, A., Guillamon, E., Prado, J.M. *Natural Product Extraction: Principles and Applications*. Cambridge: Penerbit RSC Publishing. 2013.

Sarker, S.D., Latif, Z., Gray, A.I. *Natural Products Isolation*. 2nd Edition. Totowa, New Jersey: Humana Press. 2006.

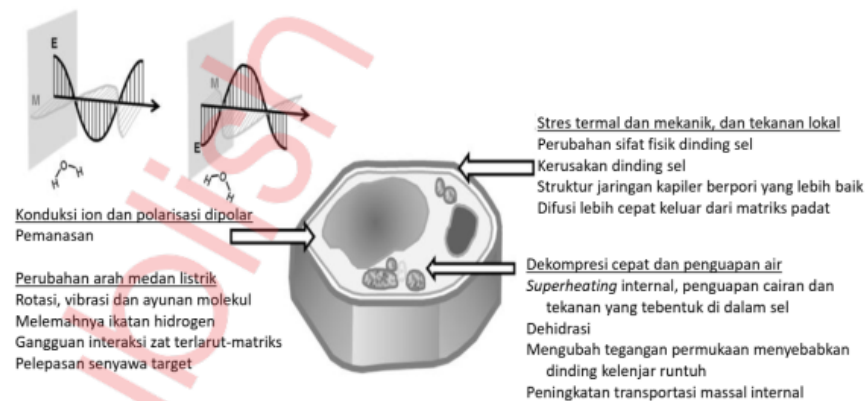
EKSTRAKSI NON-KONVENSIONAL

3.1 Latar Belakang

Dengan semakin berkembangnya teknologi pengaplikasian penemuan-penemuan baru diaplikasikan pada proses ekstraksi. Aplikasi paling banyak digunakan adalah tambahan berbagai jenis energi untuk mempercepat dan meningkatkan hasil ekstraksi. Teknik ekstraksi yang berbeda harus digunakan dalam kondisi yang beragam untuk memahami selektivitas ekstraksi dari berbagai sumber daya alam. Semua teknik ini memiliki beberapa tujuan bersama, antara lain: (a) untuk mengekstraksi senyawa bioaktif yang ditargetkan dari sampel tanaman, (b) untuk meningkatkan selektivitas metode analisis, (c) meningkatkan kepekaan *bioassay* dengan meningkatkan konsentrasi senyawa yang ditargetkan, (d) untuk mengonversi senyawa bioaktif menjadi bentuk yang lebih cocok untuk deteksi dan pemisahan, dan (e) untuk menyediakan sebuah metode yang maksimal, reproduktif yang tidak tergantung dari variasi dalam matriks sampel. Beberapa metode ekstraksi secara nonkonvensional, di antaranya seperti *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE), *Pulsed-Electric Field Extraction* (PEF), *Supercritical Fluid Extraction* (SFE), *Pressurized Liquid Extraction* (PLE), dan *Microwave-Assisted Extraction* (MAE).

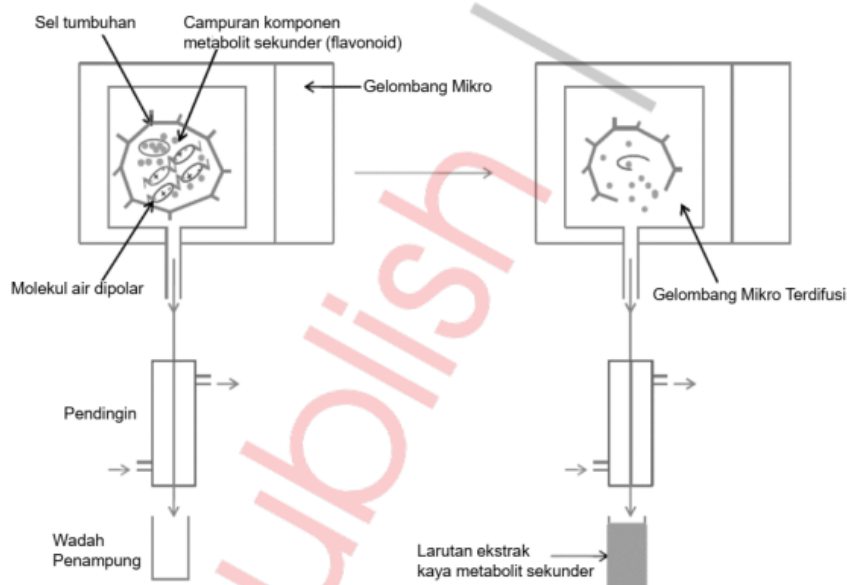
3.2 Microwave Assisted Extraction (MAE)

Microwave Assisted Extraction (MAE) merupakan suatu teknik non-konvensional untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder target di dalam sampel tanaman dengan bantuan gelombang mikro yang dihasilkan dari suatu medan listrik dengan menggunakan energi rotasi molekul yang disebabkan oleh kesejajaran medan listrik yang dimiliki oleh molekul dengan momen dipol dalam pelarut dan sampel yang kemudian akan melepaskan panas ke dalam medium. Teknik ini membuat pemanasan lebih efektif dan selektif, mempercepat transfer energi, dan mengurangi gradien termal. Gelombang mikro yang dihasilkan oleh MAE merupakan gelombang radiasi nonionisasi yang tidak berpengaruh pada struktur molekul. Gelombang mikro juga dapat menembus material tertentu yang dipanaskan secara selektif berdasarkan sifat dielektriknya (Gambar 3.1). Efek radiasi gelombang mikro pada proses ekstraksi didasarkan pada efek termal yang mengarah pada peningkatan fisikokimia dan penetrasi-difusi pelarut dan zat terlarut serta kerusakan struktural dari matriks (Seoane. Paula Rodríguez, 2018).



Gambar 3.1 Fisikokimia dan struktural efek dari *microwave irradiation* sel tanaman menggunakan *microwave-assisted extraction* (Seoane. Paula Rodríguez, 2018).

Pemanasan pada gelombang mikro bekerja langsung pada molekul target melalui dua cara yaitu rotasi dipol dan konduksi ionik yang sering terjadi secara bersamaan. Panas yang dihasilkan disebabkan oleh perbedaan fase antara bidang orientasi yang secara bergantian berubah arah dan orientasi medan dipol yang cenderung sejajar dengan medan listrik dan melalui resistansi larutan untuk migrasi ion di bawah pengaruh medan listrik karena gelombang mikro elektromagnetik mendorong penetrasi pelarut ke dalam matriks sampel dan meningkatkan perpindahan ion terlarut serta mengganggu ikatan hidrogen (NN, 2015). MAE juga membuat zat terlarut lebih mudah melarut dan membuat protoplasma lebih permeabel yang disebabkan oleh penguapan cairan secara mendadak dan tekanan yang terbentuk di dalam dinding sel sehingga membuat degradasi dan gangguan pada dinding sel (Seoane. Paula Rodríguez, 2018).



Gambar 3.2 Ilustrasi mekanisme ekstraksi menggunakan gelombang mikro tanpa pelarut (Perino-Issartier, *et al.*, 2010)

Proses yang dipercepat dan hasil ekstraksi yang tinggi di MAE adalah hasil dari kombinasi sinergis dari dua fenomena transportasi: gradien panas dan massa yang bekerja dalam arah yang sama. Di sisi lain, dalam ekstraksi konvensional, perpindahan panas terjadi dari luar ke substrat, sedangkan perpindahan massa terjadi dari dalam keluar matriks (Gambar. 3.2). Selain itu, meskipun dalam ekstraksi konvensional panas ditransfer dari sumber panas menuju bagian dalam sampel, di MAE sumber panas diiradiasikan secara volumetrik dalam media (Perino-Issartier, et.al., 2010).

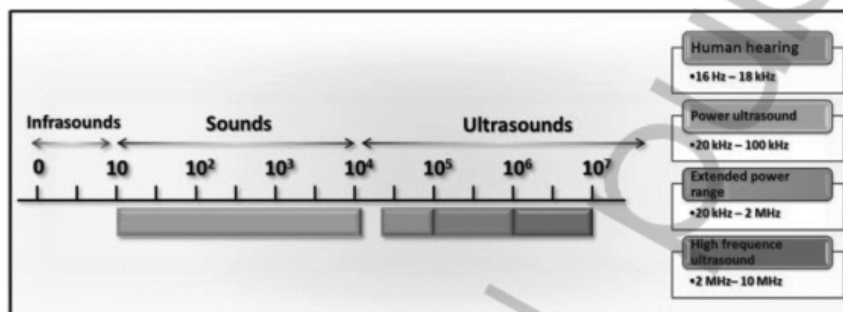
Tabel 3.1. Konstanta dielektrik beberapa pelarut (NN, 2015)

Pelarut	Konstanta Dilektrik (20°C)
Heksana	1,89
Toluena	2,4
Diklorometana	8,9
Aseton	20,7
Etanol	24,3
Metanol	32,6
Air	78,5

Penggunaan MAE menghasilkan penghematan waktu ekstraksi dan konsumsi pelarut dibandingkan metode ekstraksi cair-padat konvensional seperti sokhlet atau alat *cleverger*. MAE digunakan juga untuk ekstraksi otomatis konstituen tanaman polar yang penting, seperti isoflavone dari kedelai atau taxane dari *Taxus*. MAE merupakan prosedur yang cepat, sensitif dan selektif, dengan menggunakan kombinasi pemanasan gelembang dan distilasi kering pada tekanan atmosfer. Metode MAE terbatas pada senyawa fenolik molekul kecil seperti asam fenolat (asam galat dan asam elagat), *quacertin*, isoflavon, dan transresveratrol karena molekul ini stabil di bawah gelombang mikro dengan kondisi pemanasan sampai 100 °C selama 20 menit. Waktu ekstraksi dan daya iradiasi menjadi suatu faktor penentu pelarut MAE. Penggunaan MAE di laboratorium lebih banyak digunakan untuk senyawa larut dalam air.

3.3 *Ultrasound Assisted Extraction (UAE)*

Penggunaan *ultrasound* (USG) dalam pengolahan makanan, ekstraksi, dan analisis telah banyak diteliti akhir-akhir ini dan jumlah makalah/jurnal yang diterbitkan dalam dua dekade terakhir telah meningkat sangat tajam. Teknologi ini dapat digunakan secara tidak langsung sebagai sebuah teknik inovatif dan menjanjikan dari abad ke-21, dengan berbagai aplikasi dalam bidang farmasi dan kimia sejak pertengahan abad ke-20.



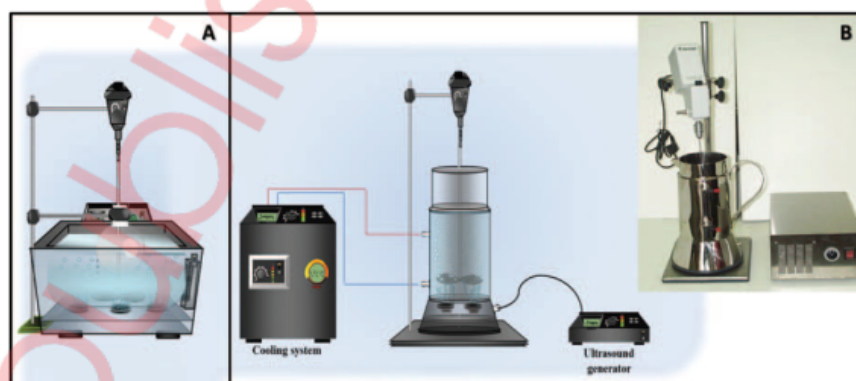
Gambar 3.3 Rentang Frekuensi Suara (diadopsi dari Rastagno *et al.* 2013)

Dengan prinsip di mana gelombang suara ditransmisikan melalui media dengan menginduksi gerak getaran dari molekul-molekul yang membentuk bagian dari itu. Ambang batas pendengaran manusia tercapai ketika frekuensi suara lebih tinggi dari 16-18 kHz. USG terdiri dari wilayah frekuensi antara 18 kHz da 100 MHz, batas atas tidak didefinisikan secara lengkap (**Gambar 3.3**). Wilayah yang luas ini masih dapat dibagi menjadi dua wilayah yang berbeda, yaitu USG power antara 20 sampai 100 kHz dan USG diagnostik antara 1 sampai 10 MHz. Klasifikasi di atas bergantung pada kemampuan transmisi energi ke dalam media pada frekuensi yang lebih rendah, yang menginduksi fenomena kavitasi (Rastagno, *et al.*, 2013).

Energi yang digunakan untuk menginduksi gerakan getaran dari molekul, yang dapat dibagi menjadi *low power ultrasound/LPU* (frekuensi tinggi) yang frekuensinya lebih tinggi dari 100 kHz dan *high power ultrasound/HPU* (frekuensi rendah) dengan frekuensi antara 16/20 dan 100 kHz (Isela Lavilla, 2018).

Teknik ekstraksi secara luas diterima sebagai prasyarat untuk penentuan analisis dari analit organik dan anorganik pada berbagai sampel. Sebagai bagian dari proses analisis, persiapan sampel merupakan langkah yang sangat penting sehingga seluruh proses dapat disederhanakan (Rosello-Soto, *et al.*, 2016). Dalam hal ini kemampuan sistem analitis untuk menangani sampel cairan telah membawa pengembangan metode pemisahan yang memenuhi tujuan utama yaitu untuk mendapatkan analit/senyawa target dengan hasil yang maksimal (Rastagno, *et al.*, 2013).

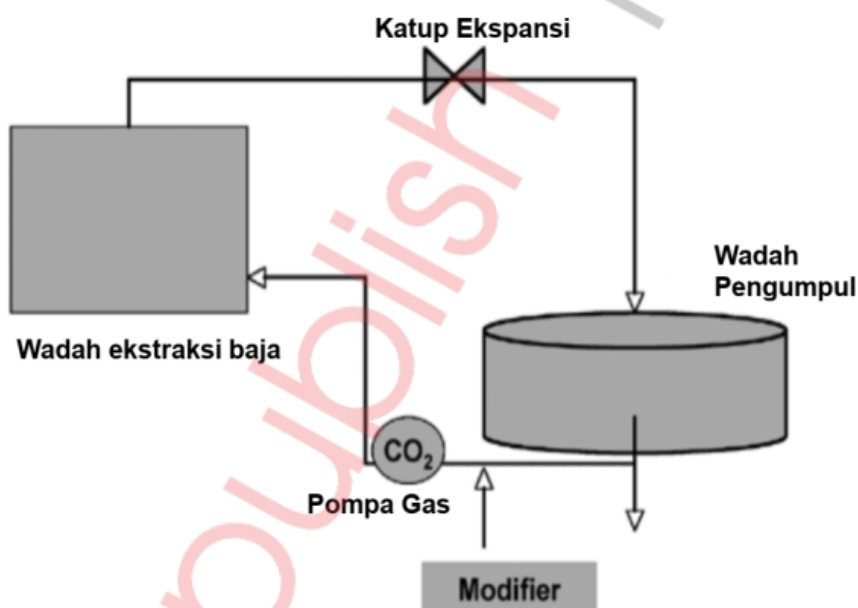
Semua sistem ultrasonik terdiri dari transduser yang mengubah energi listrik menjadi energi suara dengan bergetar secara mekanis pada frekuensi ultra sonik menghasilkan suara ultrasonik. Dari berbagai macam transduser yang tersedia saat ini, tujuannya adalah tetap sama. Transduser piezoelektrik didasarkan pada bahan keramik kristal yang merespons energi listrik. Transduser ini adalah jenis yang paling umum dan digunakan di sebagian prosesor ultrasonik dan reaktor, yang disebut-sebut sebagai yang paling efisien sampai 95%. Suara ultrasonik yang dihasilkan diiradiasi oleh *emitter* atau emitor (atau disebut juga reaktor) yang berfungsi untuk memperkuat gelombang. Secara umum ada dua bentuk reaktor atau emitor, yaitu sistem *bath* dan sistem *probe* dapat dilihat pada Gambar 3.4 (Rastagno, *et al.*, 2013).



Gambar 3.4 bentuk-bentuk reaktor dengan *Bath system*; (A) *Ultrasonic Bath system* dan (B) *Ultrasonic reactor* (sumber diperoleh dari Rastagno, *et al.*, 2013)

3.4 *Supercritical Fluid Extraction (SCFE)*

Teknik ini menggunakan sifat gas di atas titik kritisnya. SCFE memiliki sifat antara dilihat dari bentuknya lebih dekat disebut cairan dan dilihat dari difusivitasnya lebih dekat ke gas sehingga lebih konsisten dalam menembus matriks sampel. SCFE memiliki kemampuan lebih ekstraksi tinggi dibandingkan cairan konvensional di mana tingkat ekstraksinya lebih cepat dan lebih efektif daripada menggunakan fase cair-cair. Peningkatan kemampuan pelarut dengan menggunakan *co-solvent*, seperti etanol atau metanol (Costa, 2016). SCFE digunakan untuk analit nonpolar, pada senyawa polar kelarutannya sangat buruk (NN, 2015). SCFE umumnya menggunakan karbon dioksida karena karbon dioksida adalah pelarut yang ideal untuk ekstraksi dari produk tanaman karena tidak beracun, tidak mudah meledak, tersedia, dan mudah untuk dihilangkan dari hasil ekstraksi produk, serta mempunyai suhu dan tekanan kritis yang dapat dengan mudah dicapai, yaitu pada suhu 31°C dan tekanan 73,8 bar (Costa, 2016).



Gambar 3.4 skema Teknik *Supercritical Fluid Extraction (SFE)*

Keuntungan dari SCFE antara lain pelarutnya dapat digunakan untuk ekstraksi berturut-turut dengan cara dikonversikan dan didaur ulang melalui penyetelan suhu dan nilai tekanan sehingga ramah lingkungan. Suhu rendah yang digunakan pada SCFE cocok untuk senyawa yang termolabil. Kualitas ekstrak yang didapat sama seperti dengan menggunakan sistem ekstraksi sokhletasi tetapi lebih sensitif, selektif, dan unik. Kerugian utama SCFE adalah sulit untuk mengekstrak aglikon polioksigenasi dan aglikon glikosida dari matriks tanaman. Untuk meningkatkan ekstraksi metabolit ini, perlu ditambahkan *co-solvent* organik seperti metanol sebelum proses ekstraksi. Namun, perolehan kebanyakan analit polar tidak selalu memuaskan. Kerugian SCFE lainnya adalah kompleksitas instrumentasi yang digunakan keamanan analisis di mana tekanan dan suhu tinggi dapat menyebabkan terjadinya ledakan dan mahalnya alat yang digunakan (Costa, 2016).

3.5 *Enzyme Assisted Extraction*

Saat ini penggunaan enzim banyak diaplikasikan pada berbagai bidang. Enzim umumnya diperoleh dari kultur mikroorganisme, tumbuhan, dan jaringan mamalia atau bahkan dari mikroorganisme dengan cara teknologi rekombinan DNA. Enzim merupakan katalis biologis yang sangat spesifik dan mempunyai banyak keunggulan dibandingkan dengan katalis kimia, karena mereka berasal dari sumber yang *biodegradable* dengan spesifisitas meningkatkan hasil substrat dan mengurangi produk samping melalui proses yang ramah lingkungan. Penggunaan enzim biasanya pada konsentrasi rendah, hampir 75% enzim yang ada merupakan enzim hidrolitik yang dapat melemahkan dinding sel tanaman. Contoh enzim yang umum digunakan seperti glukosidase, pektinase, amilase, glucoamilase, protease, lipase, glukonase, xylase, papain, hemiselulase, dan oksidase. Senyawa yang dapat diekstraksi dengan metode ini antara lain pektin, fenol, polisakarida, minyak, protein pigmen, dan *flavour* (vanilin) (Soto-Maldonado. Carmen, 2018).

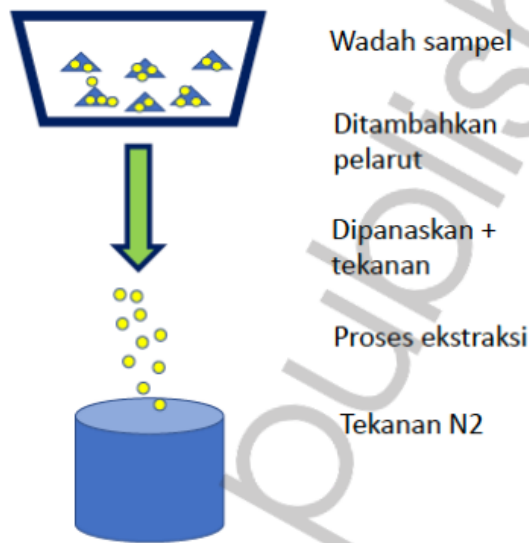
Perlakuan *pretreatment* sebelum dilakukan ekstraksi, seperti perlakuan mekanis yang akan merusak dinding sel tanaman

sehingga pelarut dan enzim dapat masuk dan zat aktif akan terlarut. *Pretreatment* dapat berupa perlakuan mekanis maupun termal, seperti memperkecil ukuran partikel, memperluas permukaan kontak, dapat juga dengan memberikan pemanasan. Pemilihan pH yang tepat untuk optimasi enzim yang digunakan biasanya menggunakan larutan dapar. pH optimum sejumlah enzim berada dikisaran pH isoelektrik protein. Selain pH, temperatur juga dapat mempengaruhi aktivitas enzim sehingga laju reaksinya menjadi optimal, apabila temperatur di atas temperatur optimum enzim yang digunakan maka enzim akan terdenaturasi. Konsentrasi enzim yang digunakan biasanya sekitar 0,2-3,0%, apabila konsentrasi enzim yang digunakan terlalu tinggi (lebih dari 5,0%) maka akan tidak produktif dan akan terjadi kompetisi adsorpsi yang dapat memblokir akses enzim (Parada Casas. M., 2018).

3.6 Accelerated Solvent Extraction (ASE)

Accelerated Solvent Extraction (ASE) atau *Pressurized Solvent Extraction* (PSE) adalah teknik persiapan sampel yang menggabungkan temperatur dan tekanan tinggi pada pelarut cair untuk mencapai pelarutan analit yang lebih cepat dan lebih efisien dari berbagai matriks. Dalam sistem ASE, proses ekstraksi dilakukan pada temperatur yang melebihi titik didih pelarut. Ekstraksi analit dari bahan tanaman berdasarkan kelarutan analit, efek perpindahan massa dan gangguan keseimbangan permukaan dengan menggunakan suhu dan tekanan secara bersamaan (Roopashree dan Naik, 2019).

Secara khusus, tekanan memfasilitasi ekstraksi dari bahan tanaman yang memiliki analit pada pori-pori matriks atau dalam pori-pori yang tertutup air atau dalam pori-pori bersegel gelembung udara. Tekanan yang digunakan pada ASE adalah sekitar 100-140 ATM, dan pada suhu 50-200 °C. Tekanan tinggi membantu dalam menjaga pelarut dalam keadaan cair pada temperatur tinggi. Peralatan ASE menghemat waktu, pelarut dan biaya laboratorium, serta memiliki reproduktivitas yang baik karena minimalnya sampel tanaman (Roopashree dan Naik, 2019; Subhash C. Mandal, 2015).



Gambar 3.7. Sistem operasional teknik ASE

Pada studi sebelumnya telah mengevaluasi berbagai struktur kimia (kurkuminoid, saponin, flavonoid, polifenol, dan terpenoid) dalam matriks berbeda seperti akar, daun, buah, tanaman, dan rimpang. Minyak esensial dapat diekstraksi menggunakan alat *Clevenger* dan ekstraktor ASE menggunakan pelarut n-heksana atau diklorometana secara bergantian (NN, 2015).

Pada temperatur yang lebih tinggi, kebanyakan antioksidan fenolik bersifat stabil, sedangkan katekin dan epikatekin terdegradasi. Untuk mengekstraksi polifenol seperti katekin dan epikatekin dari teh dan biji anggur, ditemukan bahwa di antara pelarut air, metanol, etanol, dan etil asetat, pelarut metanol memiliki hasil tertinggi. ASE juga digunakan untuk ekstraksi saponin, *phloroglucinols*, dan *procyanidins* (NN, 2015).

ASE terbagi menjadi 2 jenis, yaitu mode statis dan dinamis. ASE statis sampel diekstraksi dengan pelarut pada suhu tinggi dan kondisi bertekanan tanpa aliran pelarut keluar. Apabila sudah mencapai

kesetimbangan maka analit dikumpulkan dengan membilas ekstraksi sel secara cepat dengan pelarut dan gas inert. Sedangkan pada ASE dinamis, ekstraksi pelarut terus mengalir melalui ekstraksi sel. Keuntungan ASE dinamis adalah pelarut yang digunakan secara terus menerus, sehingga memerlukan pelarut yang lebih besar dibandingkan dengan ASE statis (Subhash C. Mandal, 2015).

ASE dianggap sebagai alternatif untuk ekstraksi senyawa polar dibandingkan dengan ekstraksi sokhlet tradisional dengan penurunan jumlah pelarut yang digunakan serta waktu ekstraksi yang dibutuhkan. Penggunaan suhu yang tinggi pada ASE dapat menyebabkan degradasi senyawa termolabil. ASE digunakan untuk ekstraksi berbagai macam metabolit yang besar dan polaritas yang berbeda-beda, seperti flavonolignan, kurkuminoid, saponin, dan terpenoid (Subhash C. Mandal, 2015).

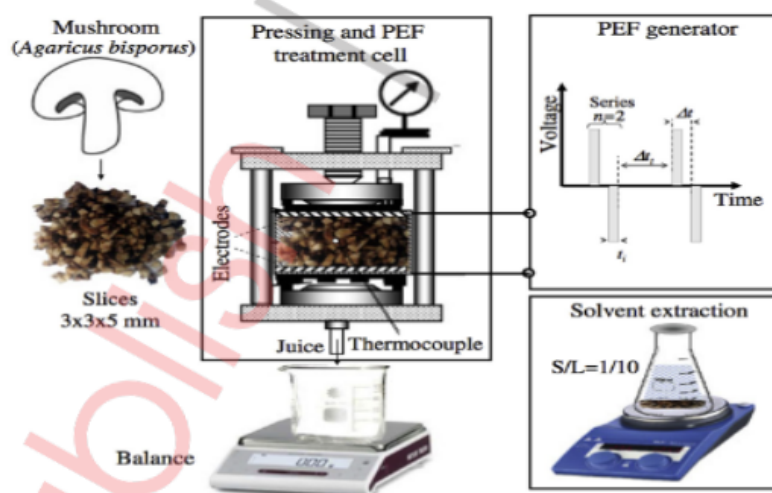
3.7 Pulsed Electric Field (PEF)

Pulsed electric field (PEF) menggunakan pengaruh medan listrik yang kuat pada material yang terletak di antara 2 elektroda yang menyebabkan gangguan membran sel sehingga meningkatkan permeabilitas sel. Teori elektroporasi sel yang menyebabkan kerusakan mematikan pada sel atau menyebabkan stres permeabilitas sementara dari membran sel yang disebabkan oleh potensi dari transmembran. Berdasarkan data eksperimental yang didapatkan bukti bahwa sitoplasma selalu bermuatan negatif di mana seluruh anion sitoplasma memproduksi listrik potensial sehingga mempengaruhi pengangkutan ion dan molekul kecil. Ekstraksi bahan padat membutuhkan 0,1-5 kV/cm³ sehingga ekstraksi yang dihasilkan menjadi 2 x lipat. PEF termasuk dalam non-termal teknik. PEF juga banyak digunakan pada industri makanan sebagai pengaktivasi mikroorganisme serta telah terbukti menjanjikan untuk ekstraksi intraseluler dari bahan makan nabati (Rosello-Soto, *et al.*, 2016).

PEF terdiri dari tiga bagian, yaitu *pulse generator*, *treatment chamber*, dan sistem pompa. Sistem umumnya dikendalikan oleh

komputer dan dipantau oleh osiloskop. Keuntungan yang diperoleh dengan menggunakan ekstraksi PEF adalah hasil ekstraksi yang dihasilkan lebih baik, penurunan waktu pemrosesan yang lebih singkat, pengurangan degradasi senyawa yang sensitif terhadap panas, biaya yang lebih murah dan dampaknya terhadap lingkungan lebih sedikit. PEF banyak digunakan pada industri pangan, dan zat aktif yang dapat diekstraksi dengan metode ini antara lain pektin, fenol, polisakarida, inulin, dan kitosan (Costa, 2016).

Teknik ini juga sering disebut sebagai teknik hijau karena tidak menggunakan pelarut. Di mana sampel yang berupa irisan ditempatkan pada ruang pengepresan dan *treatment* PEF. Setelah ditekan jus yang dihasilkan dikumpulkan, ekstrak yang dihasilkan mempunyai stabilitas koloid yang lebih tinggi, protein segar dan polisakarida dalam jumlah besar (Costa, 2016).



Gambar 3.8 Pulse Electric Field (Costa, 2016)

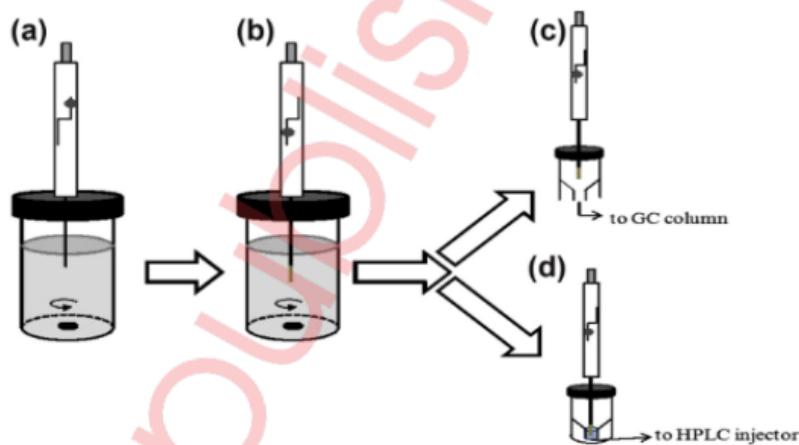
Model PEF dibagi menjadi model pori-pori berair dan model kompresi elektro. Model pori-pori berair ketika sel terkena medan listrik eksternal, maka akan terjadi induksi transmbran yang diinduksi oleh potensi energi bebas yang diperlukan untuk penataan ulang struktural

membran fosfolipid dan memungkinkan pembentukan pori hidrofilik sehingga zat yang larut dalam air maupun dalam lemak akan menemukan rute untuk keluar. Pada model kompresi elektro file pengenalan medan listrik eksternal mengarah pada daya tarik yang ditingkatkan muatan berlawanannya yang berada di luar dan di dalam sel dan menghasilkan elektro-kompresi membran sel akhirnya menghasilkan pembentukan pori (Okoli, *et al.*, 2019).

29

3.8 Solid Phase Micro Extraction (SPME)

Solid phase micro extraction (SPME) merupakan teknik preparasi sampel tanpa menggunakan pelarut yang efektif untuk kromatografi gas (GC). SPME menggunakan silika diameter sempit serat optik menyatu dengan dilapisi secara eksternal polimer film tipis (carbowax, polydimethylsiloxane/PDS) atau campuran polimer yang dicampur dengan bahan padat berbasis karbon berpori (PDMS-carboxen). Serat optik dilapisi dan direndam dalam sampel, setelah keseimbangan tercapai kemudian serat ditarik dan dipaparkan pada injeksi ruang gas kromatograf. Serat kemudian akan terekspos dan analitnya akan hilang secara termal ke dalam injektor GC, kemudian secara konvensional dikromatografi.



Gambar 3.9 Konfigurasi Solid Phase Micro (Subhash C. Mandal, 2015)

Keuntungan dari SPME adalah batas deteksi dapat diperoleh hingga per triliun, dan SPME bebas dari pelarut dan serat dapat digunakan berulang kali sehingga SPME dapat digunakan untuk karakterisasi dan kuantifikasi dari senyawa volatil biogenik organik (misalnya isoterpena dan terpenoid) (Subhash C. Mandal, 2015).

Daftar Pustaka

- 13 Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N., Omar, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 2013; 117(4): 426–436.
- 6 Belwal, T., Chemat, F., Venskutonis, P.R., Cravotto, G., Jaiswal, D.K., Bhatt, I.D., Devkota, H.P., Luo, Z. Recent advances in scaling-up of non-conventional extraction techniques: Learning from successes and failures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020; 127: 115895.
- 85 Caldas, T.W., Mazza, K.E.L., Teles, A.S.C., Mattos, G.N., Brígida, A.I.S., Conte-Junior, C.A., Borguini, R.G., Godoy, R.L.O., Cabral, L.M.C., Tonon, R.V. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. *Industrial Crops and Products*, 2018; 111: 86–91.
- 222 Costa, R. The Chemistry Of Mushrooms : A Survey of Novel Extraction Techniques Targeted to Chromatographic and Spectroscopic Screening. In Atta-ur-Rahman, *Studies in Natural Products Chemistry*, 2016; 49: p. 279.
- 274 Isela L., C.B. Fundamentals of Ultrasound Assisted Extraction. In e. a. Herminia Dominguez, *Water Extraction of Bioactive Compounds : From Plants to Drug*, 2018; 2018: 291-316.
- Kuswandani, F., Satari, M.H., Maskoen, A.M. Antimicrobial Efficacy of *Myrmecodia pendens* Extract and Fraction Combination against Enter action Combination against *Enterococcus faecalis* A ooccus

faecalis ATCC 29212. *Journal of Dentistry Indonesia*, 2019; 26(3): 119–125.

13 Mohammad Azmin, S.N.H., Abdul Manan, Z., Wan Alwi, S.R., Chua, L.S., Mustafa, A.A., Yunus, N.A. Herbal Processing and Extraction Technologies. *Separation & Purification Reviews*, 2016; 45(4): 305–320.

Molina, G.A., González-Fuentes, F., Loske, A.M., Fernández, F., Estevez, M. Shock wave-assisted extraction of phenolic acids and flavonoids from *Eisenhardtia polystachya* heartwood: A novel method and its comparison with conventional methodologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2020; 61: 104809.

39 NN, A. A review on the extraction methods use in medical plants, principle, strength and limitation. *Medical and Aromatic Plants*, 2015; 4: 12-28.

5 Okolie, C.L., Akanbi, T.O., Mason, B., Udenigwe, C.C., Aryee, A.N.A. Influence of conventional and recent extraction technologies on physicochemical properties of bioactive macromolecules from natural sources: A review. *Food Research International*, 2019; 116: 827–839.

Parada Casas. M., Enzyme-Assisted Aqueous Extraction Processes. In e. a. Herminia Dominguez Gonzales, *Water Extraction Of Bioactive Compounds From Plants to Drug Development*: Elsevier. 2018: 333-368.

Patra, J.K., Das, G., Lee, S., Kang, S.-S., Shin, H.-S. Selected commercial plants: A review of extraction and isolation of bioactive compounds and their pharmacological market value. *Trends in Food Science & Technology*, 2018; 82: 89–109.

52 Périno-Issartier S, Zill-e-Huma, Abert-Vian M, Chemat F. Solvent free microwave-assisted extraction of antioxidants from Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) food by-products. *Food Bioprocess Technol.* 2011; 4(6): 1020-1028.

- 109 Rasul, M.G. Conventional Extraction Methods Use in Medicinal Plants, their Advantages and Disadvantages. *International Journal of Basic Sciences and Applied Computing*. 2018; 6: 10–14.
- 139 Roopan, S. M., Madhumitha, G. Bioorganic Phase in Natural Food: An Overview. In S. M. Roopan & G. Madhumitha (Eds.), *Bioorganic Phase in Natural Food: An Overview*. Springer International Publishing: 2018.
- 129 Roopashree, K.M., Naik, D. Advanced method of secondary metabolite extraction and quality analysis. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2019; 8(3): 1829–1842.
- Rosello-Soto, E., Parniakov, O., Deng, Q., Patras, A., Koubaa, M., Grimi, N., Boussetta, N., Tiwari, B.K., Vorobiev, E., Lebovka, N., Barba, F.J. Application of Non-conventional extraction Methods : Toward a Sustainable and green Production of Valuable Compounds from Mushrooms. *Food Eng Rev*. 2016; 8: 1-10.
- 288 Seoane. Paula Rodríguez, N.F.-F. Microwave-Assisted Water Extraction. In G.-M. J. Herminia Dominguez, *Water Extraction of Bioactive Compounds From Plants to Drug Development*: Elsevier. 2018: 163-198.
- 284 Soto-Maldonado. Carmen, M.E.-H. Enzyme-Assisted Extraction Of Phenolic Compounds. In e. a. Hermina Dominguez, *Water Extraction Of Bioactive Compounds From Plants to Drug Development*: Elsevier. 2018: 369-384.
- Subhash C. Mandal. Clasification of Extraction Methods. In e. a. Subhash C. Mandal, *Essential of Botanical Extraction, Principles and Applications*: Elsevier. 2015: 110-136.

APLIKASI CAIRAN IONIK (*IONIC LIQUID*) PADA PROSES EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER

4.1. Latar Belakang

Eksplorasi kandungan aktif bahan alam telah dilakukan sejak lama. Namun, produk yang dihasilkan masih relatif kecil sehingga tidak dapat digunakan secara komersial. Penelitian ilmiah terhadap bahan alam (khususnya bahan alam yang digunakan pada sistem pengobatan tradisional) yang mulai dari pencarian, proses produksi, hingga uji toksisitas, efikasi, dan khasiat telah dilakukan selama ini. Namun, masih sering mengalami kendala dan masalah dalam proses pengembangan bahan alam dengan kualitas yang tidak homogen atau tidak konsisten terhadap kandungan dan aktivitas yang sangat tergantung dari berbagai kondisi.

Produk alam (tanaman, hewan, dan mikroorganisme) merupakan sumber yang dapat diperbaharui di alam yang telah secara umum dimanfaatkan oleh masyarakat secara turun temurun selama ribuan tahun. Keanekaragaman sumber daya alam hayati masih menjadi sumber utama inspirasi dalam pengembangan obat baru, pangan fungsional, dan bahan tambahan pangan (Cragg dan Newman,

2013). Secara umum, senyawa metabolit sekunder target dari bahan alami dihasilkan melalui jalur biologis dari berbagai jalur biosintetik dan diperoleh dengan menggunakan prosedur ekstraksi yang tepat (Azmir, *et al.*, 2013; Bucar, *et al.*, 2013). Senyawa aktif produk alami dapat diekstraksi dengan beberapa teknik ekstraksi konvensional dan nonkonvensional (Sarker dan Nahar, 2012; Khoddami, *et al.*, 2013). Kebanyakan metode ini berdasarkan eksplorasi sifat, jenis, dan kekuatan masing-masing pelarut.

Aplikasi metode ekstraksi dengan pendekatan prinsip kimia hijau (*green chemistry*) untuk menggali potensi komponen metabolit sekunder dari bahan alam terus meningkat, dalam hal ini penggunaan larutan garam cair sebagai pelarut (Espino, *et al.*, 2016). Cairan ionik (ILs) dipilih karena tidak mudah terbakar, tidak mudah menguap, stabil pada suhu tinggi, tidak beracun, dan memiliki fleksibilitas untuk menyesuaikan sifat fisikokimia senyawa target (Jessop, *et al.*, 2012). Selanjutnya, juga dipertimbangkan dari sudut pandang dampak lingkungan dan dampak ekonomi dalam pemilihan pelarut (Chemat dan Vian, 2014).

Ekstraksi berbantuan gelombang mikro berbasis cairan ionik (IL-MAE) adalah salah satu metode ekstraksi non-konvensional yang telah dikembangkan dan diterapkan dalam beberapa tahun terakhir. Prinsip penggunaan IL-MAE sama dengan prinsip metode MAE, hanya berbeda pada prinsip dan jenis pelarut yang digunakan. Keberhasilan dalam menerapkan teknik ini untuk mendapatkan konstituen target yang optimal telah banyak dilaporkan termasuk ekstraksi resveratrol dari *Polygonum cuspidatum* Sieb.et.Zucc. (Du, *et al.*, 2007), ekstraksi alkaloid fenolik dari *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Lu, *et al.*, 2009), Ekstraksi minyak atsiri dari beberapa tanaman, yaitu *Illicium verum*, *Cuminum cyminum* (Zhai, *et al.*, 2009), *Schisandra chinensis* (Ma, *et al.*, 2011), *Cinnamomum spp.* (Liu, *et al.*, 2013), ekstraksi kuersetin dan kaempferol dari *Toona sinensis* dan *Rosa sinensis* (Liu, *et al.*, 2013), ekstraksi flavonoid dari *Cajanus cajan* dan *Scutellaria baicalensis* (Wei, *et al.*, 2012; Zhang, *et al.*, 2015), metabolit sekunder dan ekstraksi polifenol

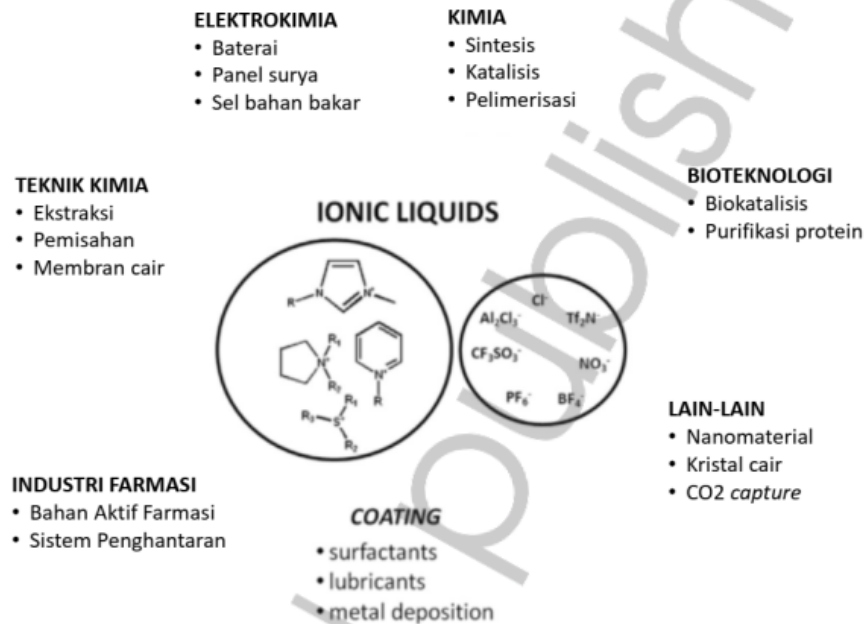
dari *Peperomia pellucida* (L) Kunth (Ahmad, *et al.*, 2017a; 2017b), dan seterusnya. Tinjauan ini bertujuan untuk memberikan informasi rinci tentang penerapan metode IL-MAE sebagai ekstraksi metabolit sekunder yang cepat dan hijau dari tanaman herbal.

4.2. Cairan ionik sebagai pelarut hijau untuk ekstraksi

Penerapan prinsip kimia hijau dalam pemilihan pelarut yang bertujuan untuk mengkaji dan mempelajari potensi kandungan senyawa metabolit sekunder dari bahan alam terus mengalami peningkatan dari tahun ke tahun, terutama pemanfaatan dan pengembangan pelarut cairan ionik sebagai pelarut alternatif (Espino, *et al.*, 2015).

Kombinasi ion dari cairan ionik dapat dikembangkan dan dimanfaatkan sebagai pelarut alternatif karena memiliki fleksibilitas untuk menyesuaikan sifat fisikokimia senyawa target, selain itu, juga dianggap sebagai bahan alternatif potensial sebagai pengganti pelarut organik dengan mempertimbangkan dampak lingkungan dan ekonomi yang sifatnya tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, tidak beracun dan aman bagi operator atau peneliti (Jessop, *et.al.*, 2012; Chemat dan Vian, 2014).

Agar proses ekstraksi dan pemisahan dapat berhasil secara maksimal sangat penting untuk memiliki pengetahuan tentang sifat kelarutan konstituen target dalam bahan alami. Beberapa komponen potensial bahan alam (terutama tanaman obat) memiliki kelarutan yang rendah terhadap pelarut air, oleh karena itu, digunakan pelarut organik seperti eter, alkana, etil asetat, kloroalkana, alkohol, dan pelarut organik lainnya. Namun, pemilihan pelarut ditentukan oleh jenis konstituen yang ditargetkan atau sudah diketahui. Jika informasi tersebut tidak tersedia, maka harus mengikuti prinsip "*like dissolve like*" (Hanani, 2015).



Gambar 4.1 Pengembangan dan pemanfaatan *ionic liquid*/cairan ionic pada berbagai bidang

Konsep polaritas yang diterima dan dipahami secara luas, berdasarkan definisi polaritas, adalah jumlah semua antarmolekul (interaksi spesifik dan nonspesifik) antara pelarut dan zat terlarut potensial, dan interaksi ini memicu reaksi kimia (Reichardt, 2005). Ini dapat dilihat sebagai fenomena fisik dan kimia yang terdiri dari interaksi Coulomb, interaksi dipol-dipol, interaksi ikatan hidrogen, dan interaksi donor-akseptor asam-basa. Terkait dengan polaritas IL, biasanya berkisar dari pelarut nonhidrogen donor dipolar (DMF, DMSO, dan asetonitril) hingga pelarut ikatan hidrogen polar (alkohol primer, air), tergantung pada sifat komponen (Hanani, 2019; Reichardt, 2005). Hal ini juga dipengaruhi oleh faktor penting lainnya seperti titik didih dan titik leleh, densitas, viskositas dan tegangan permukaan pelarut (Jacquemin, *et al.*, 2006). Cairan ionik dapat dianggap sebagai “*self-assembly amphiphiles*” yang membentuk jaringan polimer dengan ikatan hidrogen dalam bentuk model struktur umum bentuk padat dan

cair (Dupont, 2004; Greaves, *et al.*, 2013).

Seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 4.1**, cairan ionik pada suhu kamar adalah kandidat yang menjanjikan untuk memenuhi persyaratan di atas karena seluruhnya terdiri dari kation organik stabil dan anion anorganik atau organik, yang cair pada suhu kamar dan menunjukkan sifat unik seperti sifat tinggi. Stabilitas termal, tetapi, dan reaktivitas kimia rendah (Ventura, *et al.*, 2014; Bogdanov, *et al.*, 2009; Bogdanov, Iliiev, *et al.*, 2009; Poole and Poole, 2010). Karena keunikan tersebut yang memiliki sifat dengan viskositas, kerapatan yang dapat disesuaikan halus, polaritas, dan dapat bercampur dengan pelarut organik umum, yang sangat dapat diterapkan di berbagai bidang seperti kimia analitik (Parvilescu and Hardacre, 2007), katalis dan sintesis (Poole and Poole, 2011; Opallo and Lesniewski, 2011), elektrokimia (Hallet and Welton, 2011), dan yang paling penting, IL dapat diterapkan dalam proses pengekstrakan (ekstraksi) dari bahan alam (Poole dan Poole, 2010; Chemat, *et al.*, 2012; Ho, *et al.*, 2013; Zhang, *et al.*, 2009).

Tabel 4.1 Beberapa contoh cairan ionik yang biasa digunakan sebagai pelarut alternatif untuk ekstraksi metabolit sekunder target dari bahan alam.

Cairan Ionik (Ionic liquid)	Singkatan	Titik Didih (°C)	Densitas (g/mL)	Viscositas (cP)	BM
1-ethyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate	[EMIM][BF ₄]	6	1.248	66	197.8
1-ethyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate	[EMIM][PF ₆]	58-62	1.373	450	256.13
1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate	[BMIM][BF ₄]	82	1.208	233	225.80
1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorofosphate	[BMIM][PF ₆]	10	1.373	400	284.18
1-butyl-3-methylimidazolium bromide	[BMIM]Br	60	1.134	Padat	218.9

Cairan Ionik (Ionic liquid)	Singkatan	Titik Didih °C	Densitas (g/mL)	Viscositas (cP)	BM
1-butyl-3-methylimidazolium chloride	[BMIM]Cl	89	1.120	padat	146.50
1-butyl-3-methylimidazolium trifluoromethylsulfonate	[BMIM][CF ₃ SO ₃]	16	1.290	90	260.0
1-butyl-3-methylimidazolium bis (trifluoromethylsulfonyl) amide	[BMIM] [NtfO ₂]	-8	1.404	48	433.0
1-allyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate	[AMIM][BF ₄]	-88	1.231	321	240.02
1-hexyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate	[HMIM][BF ₄]	-82	1.075	211	254.08
1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate	[HMIM][PF ₆]	-61	1.304	800	312.0
1-octyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate	[OMIM][BF ₄]	-79	1.11	440	281.2
1-octyl-3-methylimidazolium chloride	[OMIM]Cl	0	1.000	16,000	230.50
N-methylpyrrolidinium bis (trifluoromethylsulfonyl) amide	[MPPyr][NtfO ₂]	0	1.44	39	416
	BAF	-10	0.99	11.5	91
N-butylpyrrolidinium bis (trifluoromethylsulfonyl) amide	[BMPyrrol][NtfO ₂]	-50	1.4	71	422

Pemilihan pelarut terus meningkat, dengan memperhatikan prinsip-prinsip kimia hijau dalam studi tujuan komposisi dan potensi metabolit sekunder dari bahan alami, yaitu penggunaan cairan ionik sebagai pelarut hijau (Espino, *et al.*, 2016). Hal ini dikarenakan cairan ionik memiliki fleksibilitas menggabungkan ion (kation dan anion) yang sesuai dengan sifat fisikokimia metabolit sekunder target dan dapat dijadikan pelarut alternatif yang aman karena tidak mudah menguap

61 dan tidak beracun (Ho, *et al.*, 2013). Selain sifat fisikokimia cairan ionik yang mempengaruhi hasil ekstraksi, ada beberapa pertimbangan lain yang memerlukan pertimbangan keseluruhan 202 es dari segi dampak ekonomi dan lingkungan (Chemat dan Vian, 2014; Ho, *et al.*, 2013; Smiglak, *et al.*, 2014; Claudio, *et al.*, 2014; Du, *et al.*, 2009).

Cairan ionik sebagai pelarut banyak digunakan untuk mengekstraksi metabolit sekunder (terutama polifenol dan alkaloid) dari produk alam seperti 1-butil-3-metilimidazolium klorida [BMIM]Cl, 1-butil-3-metilimidazoliumbromida ([BMIM]Br), 1-heksil-3-metilimidazoliumbromida ([HMIM]Br), 1-butil-3-metilimidazolium tetrafluoroborat ([BMIM]BF₄), 1-etil-3-metilimidazoliumbromida ([EMIM]Br), 1-butil-3-metilimidazolium dihidrogenfosfat ([BMIM] [H₂SO₄]), 1-butil-3-metilimidazoliumhidrosulfat ([BMIM] [HSO₄]), 1-butil-3-metilimidazoliumbromida ([OMIM]Br), dan jenis lainnya (Du, *et al.*, 2007; Zhang, *et al.*, 2015; Fan, *et al.*, 2012; Pham, *et al.*, 2010). Secara umum, peningkatan kemampuan untuk menarik konstituen kimia tertentu dapat meningkat dengan peningkatan hidrofobisitas pelarut yang digunakan (Wang, *et al.*, 2016). Selanjutnya, kemampuan ikatan hidrogen dari cairan ionik juga merupakan faktor 269 yang mempengaruhi ekstraksi dengan mempertimbangkan anion (Du, *et al.*, 2009; Zhang, *et al.*, 2010).

4.3. Sudut pandang toksisitas dan dampak lingkungan

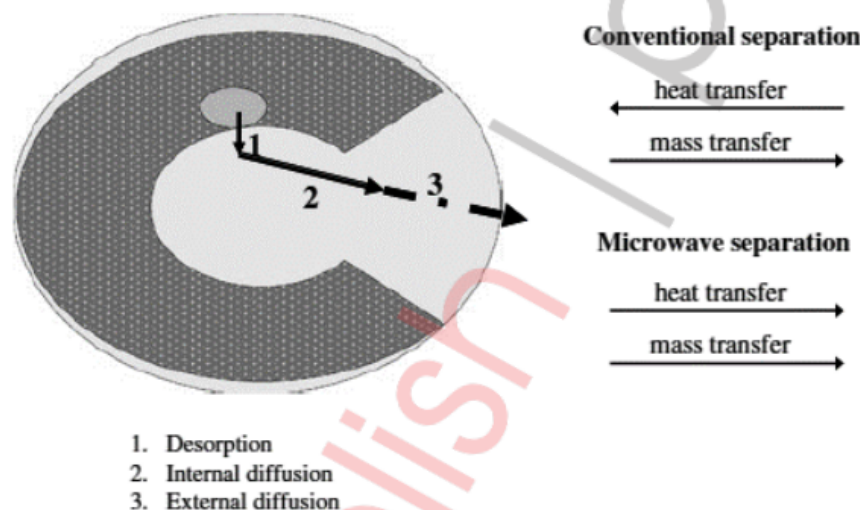
Setelah pengenalan kimia hijau, terutama penggunaan cairan ionik sebagai pelarut alternatif dalam hal ini, ada juga kekhawatiran tentang toksisitas dan dampak lingkungan dari produsen pelarut cairan ionik pada saat itu. Selama dekade terakhir, berbagai kajian dan riset yang difokuskan pada upaya optimasi kemampuan biodegradabilitas dan mempelajari pengurangan efek toksik dari cairan ionik (Landry, *et al.*, 2005). Selain itu, beberapa penelitian telah melaporkan cairan ionik di mana anion memiliki efek terbatas pada laju biodegradasi ionik, komponen yang paling urgen adalah komponen kation. Toksisitas cairan ionik sangat dipengaruhi oleh lipofilisitas, yang terkait dengan panjang

dan derajat percabangan ¹²⁵ai alkil rantai lurus, dan juga tergantung pada sifat anionik (Garcia, *et al.*, 2010; Peric, *at. al.*, 2013; Bubalo, *et al.*, 2014). Uji toksisitas cairan ionik protik (asam alifatik dan organik) dan cairan ionik aprotik (*imidazolium* dan *pyridinium*) terhadap organisme akuatik telah dilaporkan oleh (Peric, *et al.*, 2013), serta tes pada sel leukemia tikus (IPC-18) dan enzim asetilkolinesterase, dengan aktivitas cairan ionik protik >100 mg/L, dan cairan ionik protik lebih kuat daripada cairan ionik aprotik (Oliver-Bourbiqou, *et al.*, 2010).

Ini adalah alasan utama mengapa kami percaya bahwa cairan ionik dengan sifat tidak beracun dan tidak mudah menguap yang menjadikan pelarut ini sebagai pelarut hijau potensial dapat menjadi alternatif atau pengganti pelarut organik konvensional. Sayangnya, citra hijau ini salah diartikan dan digunakan tidak sesuai tujuan awal sehingga menyebabkan menarik perhatian ahli kimia, terutama yang bekerja di bidang kimia hijau. Pham, *et al.*, 2010, telah melaporkan bahwa beberapa kation dan anion memiliki sifat toksik yang berbahaya (Pham, *et al.*, 2010). Namun, risiko bahaya dapat dikurangi dengan menggabungkan kation dan anion tertentu ke dalam pelarut cairan ionik (Landy, *et al.*, 2005). Di sisi lain, masuknya gugus fungsi lain mempersulit pengujian toksisitas karena berpotensi memiliki gugus fungsi sitotoksik. Cairan ionik dapat membantu mengurangi risiko pencemaran udara, tetapi ketika dilepaskan ke alam terutama wilayah perairan, mereka yang dapat mengakibatkan pencemaran air yang serius karena efek toksisitas dan biodegradabilitas yang tidak terkendali (Pan, *et al.*, 2003). Cairan ionik umumnya berbentuk cair dan relatif stabil, sehingga dapat terakumulasi di lingkungan perairan. ²ek lingkungan dan toksisitas terkait dirinci dalam literatur (Landry, *et al.*, 2005; Pan, *et al.*, 2003; Mandal, *et al.*, 2007). Namun, dengan sifat tidak mudah terbakar dan dapat direproduksi, sehingga pemanfaatan cairan ionik sebagai pelarut hijau menjadi lebih ekonomis dan ramah lingkungan.

4.4. Ekstraksi metabolit sekunder menggunakan cairan ionik dengan bantuan gelombang mikro

Pengembangan metode ekstraksi non-konvensional telah banyak dilakukan. Metode MAE merupakan salah satu metode nonkonvensional yang cukup mudah diterapkan untuk mengekstrak konstituen target dari bahan alam (Ballard, *et al.*, 2010; Routry dan Orsat, 2012; Xie, *et al.*, 2014; Rodriguez-Perez, *et al.*, 2016; Baki, *et al.*, 2018; Kaufmann dan Christen, 2002; Perino-Issartier, *et al.*, 2011). dasarnya, metode MAE berbeda dengan metode ekstraksi konvensional karena ekstraksi ini terjadi sebagai akibat dari perubahan. dalam struktur sel yang disebabkan oleh elektromagnetik (Rodriguez-Perez, *et al.*, 2016).



Gambar 4.1 Perbedaan mendasar antara mekanisme transfer panas pada metode ekstraksi konvensional dan non-konvensional (Perino-Issartier, *et al.*, 2011)

Kaufmann dan Christen, 2002 telah menjelaskan mekanisme proses ekstraksi metode MAE secara lebih rinci dan telah diklarifikasi oleh (Mandal, *et al.*, 2007; Routray dan Orsat, 2012; Périno-Issartier *et al.*, 2011; Zhang, *et al.*, 2011; dan Sagarika, *et al.*, 2017). Seperti dapat dilihat pada **Gambar 4.1** yang telah dijelaskan oleh (Périno-Issartier *et*

al., 2016) dalam metode MAE melibatkan tiga langkah: (1) pemisahan zat terlarut dari sisi aktif matriks sampel karena peningkatan suhu dan tekanan, (2) difusi pelarut melintasi sampel matriks, dan (3) pelepasan zat terlarut dari sampel matriks oleh pelarut. Berdasarkan mekanisme tersebut, beberapa keunggulan metode MAE seperti ekstraksi cepat, pengurangan gradien termal, dan peningkatan hasil ekstrak. Selain itu, metode MAE juga diakui sebagai teknologi hijau karena mengurangi penggunaan pelarut (Routry dan Orsat, 2012; Rodriguez-Perez, *et al.*, 2016; Sagarika, *et al.*, 2017; Pare, 1995). Metode MAE pertama kali diperkenalkan dan dipatenkan sebagai metode ekstraksi senyawa organik oleh Pare pada tahun 1995 (Pare, 1995). Namun, telah mulai diterapkan untuk mengekstrak minyak esensial dari *Cordia curassavica* oleh Gómez dan Witte pada tahun 2001 (Xiao, *et al.*, 2008).

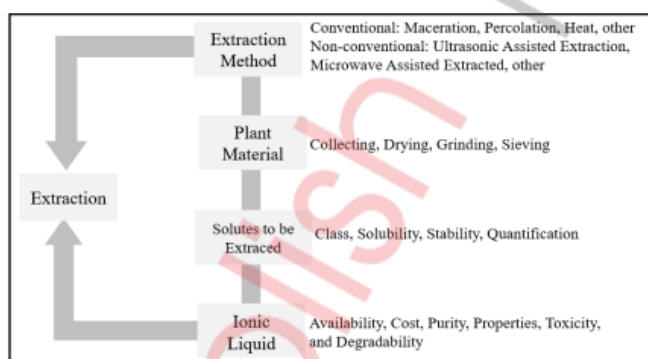
Prinsip pemanasan menggunakan energi gelombang mikro didasarkan pada efek langsung gelombang mikro pada molekul material (Zhang, *et al.*, 2011). Transformasi energi elektromagnetik terjadi melalui dua mekanisme, yaitu rotasi dipol dan konduksi ionik baik pada pelarut maupun sampel. Dalam banyak aplikasi, kedua mekanisme ini terjadi bersamaan, yang secara efektif mengubah energi gelombang mikro menjadi energi panas (Routry dan Orsat, 2012; Rodriguez-Perez, *et al.*, 2016; Zhang, *et al.*, 2011; Sagarika, *et al.*, 2017; Pare, 1995).

Penerapan metode MAE untuk mengekstrak metabolit sekunder produk alam telah berhasil dilaporkan. Beberapa penelitian telah dilaporkan termasuk ekstraksi minyak esensial dari *C. curassavica* (Gomez dan Witte, 2001), ekstraksi polifenol dan kafein dari daun teh hijau (Pan, *et al.*, 2003), flavonoid ekstraksi *Radix Astragalus mongolicus* (Xiao, *et al.*, 2008), ekstraksi senyawa fenolik dari kulit kacang (Ballard, *et al.*, 2010) dan ampas anggur (Perez-Serradilla dan Castro, 2011), ekstraksi senyawa fenolik dari *Gordonia axillaris* (Li, *et al.*, 2017), ekstraksi alkaloid bioaktif *Stephania sinica* (Xie, *et al.*, 2014) dan *N. nucifera* (Lu, *et al.*, 2008), ekstraksi senyawa fenolik dari tanaman obat terpilih yang ditanam di Turki (termasuk *Papaver fugax* Poiret var. *Platydiscus cullen*, dan *Achillea vermicularis* Trin dan

Hypericum scabrum L.) (Baki, *et al.*, 2018), optimasi ekstraksi limbah teh hijau (Handayani, *et al.*, 2014), ekstraksi senyawa aktif dari *P. pellucida* (Mun'im, *et al.*, 2017), dan lain-lain.

4.5 Aplikasi berbasis cairan ionik

Penggunaan metode IL-MAE dalam pengembangan metode ekstraksi untuk mendapatkan senyawa hasil alam yang ditargetkan secara optimum. Beberapa pertimbangan penting yang harus diperhatikan untuk mencapai kadar senyawa target yang optimal dalam proses ekstraksi dari bahan alam ditunjukkan pada Gambar 4.2. Salah satu faktor penting untuk dipikirkan dan difokuskan pada artikel ulasan ini adalah pemilihan metode ekstraksi (terutama metode MAE). Pemanfaatan metode MAE yang dikombinasikan dengan cairan ionik sebagai pelarut hijau telah berhasil dan telah dilakukan sejak tahun 2007 (Du, *et al.*, 2007), meskipun penggunaan cairan ionik sebagai larutan telah diterapkan sejak tahun 2003 (Claudio, *et al.*, 2013).



Gambar 4.2 Faktor-faktor utama yang dipertimbangkan dalam proses ekstraksi

Metode IL-MAE memiliki keunggulan²⁴ dibandingkan cara konvensional lainnya, selain memberikan hasil yang lebih tinggi dan waktu ekstraksi yang lebih singkat tetapi juga harus melihat sudut pandang ekonomi dan dampak lingkungan sebagai pelarut hijau. Misalnya, penelitian yang telah dilaporkan oleh Du, *et al.*, 2007,

menjelaskan bahwa ekstraksi resveratrol menggunakan cairan ionik lebih baik daripada menggunakan metode konvensional maupun metode MAE dengan pelarut organik konvensional (metanol) (Du, *et al.*, 2007), serta pada tanaman lain seperti Jamu biji (*Psidium guajava*) dan *Smilax china* (Du, *et al.*, 2009). Sementara itu, untuk kelompok senyawa target lainnya, senyawa yang juga berhasil diekstraksi seperti alkaloid (Sun, *et al.*, 2008; Lu, *et al.*, 2008, Ma, *et al.*, 2010; Bogdanov, *et al.*, 2013; Bogdanov, *et al.*, 2015; Liu, *et al.*, 2011), polifenol (Ahmad, *et al.*, 2017; Sixt, *et al.*, 2016), flavonoid (Zhang, *et al.*, 2015), minyak atsiri (Zhai, *et al.*, 2009), dan lainnya. Kondisi optimum IL-MAE tergantung pada matriks sampel tanaman dan jenis ILS yang dipilih, tetapi beberapa istilah yang menjadi parameter dalam proses optimasi IL-MAE (Tabel 4.2) termasuk daya gelombang mikro, konsentrasi cairan ionik, cairan-padat rasio, waktu ekstraksi, suhu, pH, ukuran partikel matriks sampel, dan sebagainya.

Tabel 4.2 Penggunaan cairan ionik untuk mengekstraksi senyawa target dari tumbuhan

Tumbuhan	Senyawa Target	Jenis Cairan Ionik	Metode IL-MAE dan Kondisi Optimum	Referensi
<i>Polygonum cuspidatum</i> Sieb.et.Zucc.	Transresveratrol	[BMIM]Br	2.5 M [BMIM]Br, temperature of 60°C, extraction time of 10 minutes, particle size of 0.3-0.4 mm, liquid-solid ratio of 20 ml/g	(Du, <i>et al.</i> , 2007)
<i>Illicium verum</i>	Essential oils	[BMIM][PF ₆]	[BMIM][PF ₆], microwave power of 440 W, temperature of 100°C, particle size <0,4 mm, liquid-solid ratio of 20:1,5 (ml/g)	(Zhai, <i>et al.</i> , 2009)

Tumbuhan	Senyawa Target	Jenis Cairan Ionik	Metode IL-MAE dan Kondisi Optimum	Referensi
<i>Cuminum cymimum</i>	Essential oils	[BMIM][PF ₆]	[BMIM][PF ₆], microwave power of 440 W, temperature of 100°C, extraction time of 20 minutes, particle size <0,4 mm, liquid-solid ratio of 20:1,5 (ml/g)	(Zhai, et al., 2009)
<i>Cinnamomum spp.</i>	Essential oils Proanthocyanidins	[BMIM]Br	0.5 M [BMIM]Br, microwave power of 230 W, extraction time of 15 minutes, and liquid-solid ratio of 10 ml/g	(Liu, et al., 2012)
<i>Rosa sinensis</i>	Quercetin Kaempferol	[OMIM]Br	2.5 M [OMIM]Br, temperature of 70°C, extraction time of 20 minutes, and liquid-solid ratio of 40 ml/g	(Liu, et al., 2013)
<i>Peperomia pellucida</i> (L) Kunth.	Total Polyphenolic content	[BMIM]BF ₄ , [BMIM]Cl, [BMIM]Br, [EMIM]Br	0.79 mol/L [BMIM]BF ₄ , extraction time of 18.5 minutes, liquid-solid ratio of 10.72 ml/g, and microwave power 270 Watts	(Ahmad, et al., 2017)
<i>Radix Puerariae</i>	Isoflavone	[BMIM]Br	0.6 mol/L [BMIM]Br, microwave power of 600 W, extraction time of 5 minutes, temperature of 80 °C, and liquid-solid ratio of 20 ml/g	(Liu, et al., 2013)
<i>Nelumbo nucifera</i>	N-nornuciferine, O-nornuciferine, Nuciferine	[HMIM]Br	1 M [HMIM]Br, microwave power of 280 W, extraction time of 2 minutes, liquid-solid ratio of 30 ml/g	(Ma, et al., 2010)

Tumbuhan	Senyawa Target	Jenis Cairan Ionik	Metode IL-MAE dan Kondisi Optimum	Referensi
<i>Nelumbo nucifera</i> Graertn.	Phenolic alkaloid (Liensinine, Iso-liensinine, and Neferine)	[BMIM][BF ₄], [HMIM][BF ₄]	1,5 M [BMIM][BF ₄] and 1 M [HMIM][BF ₄], microwave power of 280 W, extraction time of 1.5 minutes, liquid-solid ratio of 15 and 10 (ml/g), respectively	(Lu, <i>et al.</i> , 2008)
<i>Dyosma versipellis</i>	Podophyllotoxin	[BMIM][BF ₄]	0.6 g/mL [BMIM][BF ₄], temperature of 50 °C, extraction time of 10 minutes, liquid-solid ratio of 10 ml/mg	(Yuan, <i>et al.</i> , 2011)
<i>Sinopodophyllum hexandrum</i>	Podophyllotoxin	[DEMIM][BF ₄]	0.8 g/ml [DEMIM][BF ₄], temperature of 60 °C, extraction time of 10 minutes, liquid-solid ratio of 10 (ml/g)	(Yuan, <i>et al.</i> , 2011)
<i>Diphyleia sinensis</i>	Podophyllotoxin	[AMIM][BF ₄]	0.4 mg/mL [AMIM][BF ₄], temperature of 50 °C, extraction time of 15 minutes, liquid-solid ration of 10 (ml/mg)	(Yuan, <i>et al.</i> , 2011)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Carnosic acid Rosmarinic acid	[OMIM]Br	1 M [OMIM]Br, microwave power of 700 W, extraction time of 15 minutes, liquid-solid ratio of 12 (ml/g)	(Liu, <i>et al.</i> , 2011)
<i>Schisandra chinensis</i>	Essential oils Lignan	[C ₁₂ MIM]Br	0.25 M [C ₁₂ MIM]Br, presoaking for 4 hours, microwave power of 385 W, extraction time of 40 minutes, and liquid-solid ratio of 12 ml/g	(Ma, <i>et al.</i> , 2011; Cheng, <i>et al.</i> , 2015)

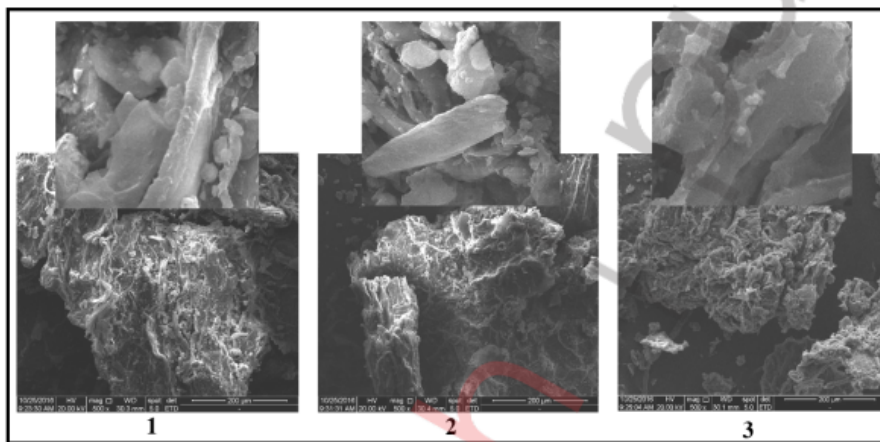
Tumbuhan	Senyawa Target	Jenis Cairan Ionik	Metode IL-MAE dan Kondisi Optimum	Referensi
<i>Myrica rubra</i>	<i>Myricetin</i> <i>Quercetin</i>	[BMIM][HSO ₄]	2.0 M [BMIM][HSO ₄], temperature of 70°C, extraction time of 10 minutes, and liquid-solid ratio of 30 ml/g	(Du, et al., 2012)
<i>Bauhinia championii</i> (Benth.)	<i>Myricetin</i> <i>Quercetin</i> <i>Kaempferol</i>	[BMIM]Br	2.0 M [BMIM]Br with 0.8 mol/l HCl, temperature of 70°C, extraction time of 10 minutes, particle size of <0,30 mm, and liquid-solid ratio of 30 ml/g	(Xu, et al., 2012)
<i>Dryopteris fragrans</i>	<i>Phloroglucinols</i>	[OMIM]Br	0.75 [OMIM]Br, temperature of 50°C, microwave power of 600W, extraction time of 7 minutes, and liquid-solid ratio of 12 ml/g	(Li, et al., 2012)
Lemon Peels	<i>Pektin</i>	[BMIM]Br	0.1 M [BMIM]Br, temperature of 60°C, extraction time of 6 minutes, and liquid-solid ratio 20 ml/g	(Liu, et al., 2012)
<i>Cajanus cajan</i>	<i>Glycosida Flavonoid</i>	[BMIM]Br	1.0 M [BMIM]Br, temperature of 60°C, extraction time of 13 minutes, and liquid-solid ratio of 20 ml/g	(Wei, et al., 2015)

Tumbuhan	Senyawa Target	Jenis Cairan Ionik	Metode IL-MAE dan Kondisi Optimum	Referensi
<i>P. calliantha</i> H. Andr.	Phenolic compound	[BMIM]BF ₄	0.5 M [BMIM]BF ₄ , microwave power of 700W, temperature of 40°C, extraction time of 15 minutes, and liquid-solid ratio 20 ml/g	(Zhang, et al., 2013)
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Flavonoid	[OMIM]Br	1.0 M [OMIM]Br, microwave power of 400 W, extraction time of 90 minutes, liquid-solid ratio of 6 ml/g	(Zhang, et al., 2015)
<i>Gnetum gnetum</i>	Transresveratrol	[BMIM]Br	2.5 mol/l [BMIM]Br, microwave power of 90 W, extraction time of 10 minutes, liquid-solid ratio of 15 ml/g	(Ayuningtyas, et al., 2017)
Rice bran (<i>Oryza sativa</i>)	Gamma-oryzanol	[BMIM]PF ₆	1 M [BMIM]PF ₆ , microwave power of 270 W, extraction time of 10 minutes, liquid-solid ratio of 10 ml/g	(Trinovita, et al., 2017)

4.6 Mekanisme Metode Ekstraksi Cairan ionik

Mekanisme metode IL-MAE pertama kali dilaporkan oleh Du, et al., dengan mengukur kinetika ekstraksi konstituen polifenol menggunakan cairan ionik sebagai pelarut hijau (Fan, et al., 2012). Mekanisme ekstraksi dilakukan dengan menggunakan spektroskopi inframerah Fourier-transform dan *scanning electron microscopy* (SEM), dengan mengamati tingkat kerusakan permukaan sel matriks sampel. Sebuah studi yang dilakukan oleh Du, et al., menunjukkan mekanisme serupa untuk ekstraksi kuersetin dan kaempferol dari *R. sinensis* dan *T. sinensis* menggunakan IL-MAE dengan [OMIM]Br dan [BMIM]Br (Fan, et al., 2012). Ahmad, et al., 2017., menunjukkan bahwa permukaan dan struktur dinding sel dari sampel *P. pellucida* tampak hancur setelah perlakuan ekstraksi IL-MAE dan maserasi seperti yang ditunjukkan

pada Gambar 4.3 (Ahmad, *et al.*, 2017). Reaksi sinergis antara penyinaran gelombang mikro dengan penetrasi kombinasi pelarut cairan ionik menyebabkan kerusakan pada permukaan dinding sel sehingga konstituen metabolit sekunder yang terkandung dalam matriks sampel dapat melewati celah sel yang rusak. Pengaruh faktor kondisi ekstraksi menggunakan metode IL-MAE secara lebih rinci pada tingkat kerusakan dinding matriks sampel dijelaskan dalam beberapa literatur (Du, *et al.*, 2009; Xu, *et al.*, 2012; Li, *et al.*, 2012; Trinovita, *et al.*, 2017; Ahmad, *et al.*, 2017).



Gambar 4.3 Hasil tangkapan gambar menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (500 kali dan 10.000 kali) dari simplisia *P. pellucida*. Di mana (1) simplisia sebelum ekstraksi, (2) setelah ekstraksi secara maserasi, dan (3) ekstraksi secara IL-MAE. Sumber (Ahmad, *et al.*, 2018)

Berdasarkan Gambar 4.3, analisis SEM mengilustrasikan berdasarkan hasil penangkapan gambar pada tingkat kerusakan dinding sel pada matriks sampel tumbuhan setelah proses ekstraksi dengan berbagai pelarut. Diperlihatkan perbedaan perubahan permukaan dinding sel pada sampel yang telah diekstraksi menggunakan metode IL-MAE dibandingkan terhadap metode maserasi dan sampel tanpa perlakuan, sedangkan rasio laju perubahan permukaan dinding sel sampel tanpa perlakuan dan setelah ekstraksi maserasi tidak

berbeda nyata. Hasil analisis SEM berkorelasi dengan nilai rendemen (kandungan polifenol total) yang dihasilkan oleh ekstraksi maserasi dan ekstraksi IL-MAE (Ayuningtyas, *et al.*, 2017). Gross, *et al.* telah melaporkan dan memaparkan alasan selulosa dapat larut dalam cairan ionik (secara normal tidak dalam air), yang diasumsikan bahwa anion dari cairan ionik dapat bereaksi dengan gugus hidroksi dari selulosa, dan pengikatan kation ke rantai samping dan pengikat oksigen yang kuat dalam kondisi pipih (Gross, *et al.*, 2011). Payal, *et al.*, juga berhipotesis bahwa semua ikatan hidrogen intermolekul dalam media cairan ionik jelas dihilangkan karena interaksi yang kuat dari ikatan hidrogen antara cairan ionik dan bagian selulosa dari matriks sampel (Payal, *et al.*, 2012). Dengan demikian, dinding sel mudah rusak oleh cairan ionik selama ekstraksi panas. Untuk alasan ini, ekstraksi termal atau metode ekstraksi cairan ionik nonkonvensional lainnya memakan waktu lebih sedikit daripada metode ekstraksi pelarut organik konvensional. Oleh karena itu, pelarut cair ionik dapat digunakan sebagai alternatif atau pelarut hijau yang terus dikembangkan untuk ekstraksi bahan aktif pada tanaman obat dengan menggunakan metode ekstraksi nonkonvensional.

Daftar Pustaka

- Ahmad I, Yanuar A, Mulia K, Mun'im A. ⁷ Application of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of the secondary metabolite from *Peperomia pellucida* (L) Kunth. *Pharmacogn J.* 2017;9(2):227-234.
- ⁵³ Ahmad I, Yanuar A, Mulia K, Mun'im A. Application of ionic liquid as a green solvent for polyphenolics content extraction of *Peperomia pellucida* (L) Kunth herb. *J Young Pharm.* 2017;9(4):S1-S4.
- Ahmad I, Yanuar A, Mulia K, Mun'im A. ⁷⁵ Optimization of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of polyphenolic content from *Peperomia pellucida* (L) Kunth using response surface methodology. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2017;7(7):660-665.

189

Ahmad I, Yanuar A, Mulia K, Mun'im A. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction: Fast and green extraction method of secondary metabolites on medicinal plants. *Pharmacognosy Review*, 12(23), 20-26, 2018.

Ayuningtyas IN, Rahmawati M, Sutriyo, Mun'im A. Optimization of ionic liquid-based microwave assisted extraction to obtain transresveratrol from *Gnetum gnemon* L. Seeds. *J Young Pharm.* 2017;9(2):168-171.

110

Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Saheha F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng.* 2013;117:426-436.

11

Baki S, Tufan AN, Altun M, Özgökçe F, Güçlü K, Özyürek M. Microwave-assisted extraction of polyphenolics from some selected medicinal herbs grown in Turkey. *Rec Nat Prod.* 2018;12(1):29-39.

117

Ballard TS, Mallikarjunan P, Zhou K, Keefe SO. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chem.* 2010;120(4):1185-1192.

143

Bogdanov MG, Kantlehner W. Simple prediction of some physical properties of ionic liquids: The residual volume approach. *Z Naturforsch.* 2009;64(a):215-222.

37

Bogdanov MG, Iliev B, Kantlehner W. The residual volume approach II: Simple prediction of ionic conductivity of ionic liquids. *Z Naturforsch B.* 2009;64(b):756-764.

Bogdanov MG, Keremedchieva R, Svinjarov I. Ionic liquid-supported solid-liquid extraction of bioactive alkaloids. III. Ionic liquid regeneration and glaucine recovery from ionic liquid-aqueous crude extract of *Glaucium flavum* Cr. (Papaveraceae). *Sep Purif Technol.* 2015;2015:13-19.

Bogdanov MG, Svinjarov I. Ionic liquid-supported solid-liquid extraction of bioactive alkaloids. II. Kinetics, modeling and mechanism of glaucine extraction from *Glaucium flavum* Cr. (Papaveraceae). *Sep Purif Technol.* 2013;103:279-288.

Bubalo MC, Radošević K, Redovniković IR, Halambek J, Srček VG. A brief overview of the potential environmental hazards of ionic liquids. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2014;99:1-12.

130 Bucar F, Wube A, Schmid M. Natural product isolation – how to get from biological material to pure compounds. *Nat Prod Rep.* 2013;30(4):525.

11 Chemat F, Vian MA, Cravotto G. Green extraction of natural products: Concept and principles. *Int J Mol Sci.* 2012;13(7):8615-8627.

Chemat F, Vian MA. *Green Chemistry and Sustainable Technology: Alternative Solvents for Natural Products Extraction.* Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer US.; 2014.

75 Chen F, Zhang Q, Mo K, Fei S, Gu H, Yang L. Optimization of ionic liquid-based homogenate extraction of orientin and vitexin from the flowers of *Trollius chinensis* and its application on a pilot scale. *Sep Purif Technol.* 2017;175:147-157.

Cláudio AFM, Marques CFC, Boal-Palheiros I, Freire MG, Coutinho JAP. Development of back-extraction and recyclability routes for ionic-liquid-based aqueous two-phase systems. *Green Chem.* 2014;16:259-268.

19 Cláudio AFM, Ferreira AM, Freire MG, Coutinho JAP. Enhanced extraction of caffeine from Guarana seeds using aqueous solutions of ionic liquids. *Green Chem.* 2013;15:2002-2010.

19 Cláudio AFM, Swift L, Hallett JP, Welton T, Coutinho JAP, Freire MG. Extended scale for the hydrogen-bond basicity of ionic liquids. *Phys Chem Chem Phys.* 2014;16:6593-6601.

25 Cragg GM, Newman DJ. Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj.* 2013;1830(6):3670-3695.

23 Du FY, Xiao XH, Li GK. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of transresveratrol from *Rhizma Polygoni Cuspidati.* *J Chromatogr A.* 2007;1140(1-2):56-62.

- 7
Du FY, Xiao XH, Luo XJ, Li GK. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds from medicinal plants. *Talanta*. 2009;78:1177-1184.
- 41
Du FY, Xiao XH, Li GK. Ionic liquid aqueous solvent-based microwave-assisted hydrolysis for the extraction and HPLC determination of myricetin and quercetin from *Myrica rubra* leaves. *Biomed Chromatogr*. 2011;25(4):472-478.
- 168
Dupont J. On the solid, liquid, and solution structural organization of imidazolium ionic liquids. *JBrazChemSoc*. 2004;15(3):341-350.
- 118
Espino M, Fernández MDLÁ, Gomez FJ V, Silva MF. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. *Trends Anal Chem*. 2015.
- Fan JP, Cao J, Zhang XH, Huang JZ, Kong T, Tong S, et al. Optimization of ionic liquid based ultrasonic assisted extraction of puerarin from *Radix Puerariae Lobatae* by response surface methodology. *Food Chem*. 2012;135:2299-2306.
- 102
Garcia H, Ferreira R, Petkovic M, Ferguson JL, Leitao MC, Gunaratne HQ, et al. Dissolution of cork biopolymers in biocompatible ionic liquids. *Green Chem*. 2010;12(3):367.
- 36
Greaves TL, Drummond CJ. Solvent nanostructure, the solvophobic effect and amphiphile self-assembly in ionic liquids. *Chem Soc Rev*. 2013;42:1096-1120.
- 27
Gross AS, Bell AT, Chu JW. Thermodynamics of cellulose solvation in water and the ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium chloride. *J Phys Chem B*. 2011;115:13433-13440.
- Gu H, Chen F, Zhang Q, Zang J. Application of ionic liquids in vacuum microwave-assisted extraction followed by macroporous resin isolation of three flavonoids rutin, hyperoside and hesperidin from *Sorbus tianschanica* leaves. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci*. 2016;1014:45-55.
- 58
Hallett JP, Welton T. Room-temperature ionic liquids: Solvents for synthesis and catalysis. 2. *Chem Rev*. 2011;111(5):3508-3576.

- Hanani E. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Keokteran, EGC; 2015.
- Handayani D, Mun'im A, Ranti AS. Optimization of green tea waste extraction using microwave-assisted extraction to yield green tea extract. *Tradit Med J*. 2014;19(1):29-35. ⁸²
- Ho TD, Zhang C, Hantao LW, Anderson JL. Ionic liquids in analytical chemistry: Fundamentals, advances, and perspectives. *Anal Chem*. 2013. ¹⁰¹
- Jacquemin J, Husson P, Padua AAH, Majer V. Density and viscosity of several pure and water-saturated ionic liquids. *Green Chem*. 2006;8(2):172-180. ⁵¹
- Jessop PG, Jessop DA, Fu D, Phan L. Solvatochromic parameters for solvents of interest in green chemistry. *Green Chem*. 2012;14(5):1245. ¹⁰⁴
- Kaufmann B, Christen P. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurized solvent extraction. *Phytochem Anal*. 2002;13:105-113. ¹⁴
- Khoddami A, Wilkes M, Roberts T. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*. 2013;18(3):2328-2375. ¹⁰⁰
- Landry TD, Brooks K, Poche D, Woolhiser M. Acute toxicity profile of 1-butyl-3-methylimidazolium chloride. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2005;74(3):559-565. ¹⁵⁸
- Liu X, Wang Y, Kong J, Nie C, Lin X. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of pectin from lemon peels. *Anal Methods*. 2012;4:1012-1018.
- Li XJ, Yu HM, Gao C, Zu YG, Wang W, Luo M, et al. Application of ionic liquid-based surfactants in the microwave-assisted extraction for the determination of four main phloroglucinols from *Dryopteris fragrans*. *J Sep Sci*. 2012;35(24):3600-3608. ⁶⁷
- Li Y, Li S, Lin S-J, Zhang J-J, Zhao C-N, Li H-B. Microwave-assisted extraction of natural antioxidants from the exotic *Gordonia axillaris* Fruit:

Optimization and identification of phenolic compounds. *Molecules*. 2017;22(9):1481.

Liu F, Wang D, Liu W, Wang X, Bai A, Huang L. Separation and purification technology ionic liquid-based ultrahigh pressure extraction of five tanshinones from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Sep Purif Technol*. 2013;110:86-92.

103 Liu T, Sui X, Zhang R, Yang L, Zu, Y, Zhang L, et al. Application of ionic liquids based microwave-assisted simultaneous extraction of carnosic acid, rosmarinic acid and essential oil from *Rosmarinus officinalis*. *J Chromatogr A*. 2011;1218(47):8480-8489.

Liu X, Huang X, Wang Y, Huang S, Lin X. Design and performance evaluation of ionic liquid-based microwave-assisted simultaneous extraction of kaempferol and quercetin from Chinese medicinal plants. *Anal Methods*. 2013;5:2591-2601.

103 Liu Y, Yang L, Zu Y, Zhao C, Zhang L, Zhang Y, et al. Development of an ionic liquid-based microwave-assisted method for simultaneous extraction and distillation for determination of proanthocyanidins and essential oil in *Cortex Cinnamomi*. *Food Chem*. 2012;135(4):2514-2521.

Lu Y, Ma W, Hu R, Dai X, Pan Y. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction of phenolic alkaloids from the medicinal plant *Nelumbo nucifera* Gaertn. *J Chromatogr A*. 2008;1208(1-2):42-46.

76 Ma CH, Liu TT, Yang L, Zu YG, Chen X, Zhang L. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction of essential oil and biphenyl cyclooctene lignans from *Schisandra chinensis* Baill fruits. *J Chromatogr A*. 2011;1218(48):8573-8580.

160 Ma W, Lu Y, Hu R, Chen J, Zhang Z, Pan Y. Application of ionic liquids based microwave-assisted extraction of three alkaloids N-nornuciferine, O-nornuciferine, and nuciferine from lotus leaf. *Talanta*. 2010;80(3):1292-1297.

11 Mandal V, Mohan Y, Hemalatha S. Microwave-assisted extraction – An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacogn Rev*. 2007;1(1): 7-18.

- 200 Mun'im A, Nurpriantia S, Setyaningsih R, Syahdi RR. Optimization of microwave-assisted extraction of active compounds, antioxidant activity and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activity from *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. *J Young Pharm.* 2017;9(2):168-171.
- 68 Olivier-Bourbigou H, Magna L, Morvan D. Ionic liquids and catalysis: Recent progress from knowledge to applications. *Appl Catal A Gen J.* 2010;373:1-56.
- 112 Opallo M, Lesniewski A. A review on electrodes modified with ionic liquids. *J Electroanal Chem.* 2011;656(1-2):2-16.
- 89 Pan X, Niu G, Liu H. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves. *Chem Eng Process.* 2003;42:129-133.
- 179 Pare J. Microwave-assisted extraction from materials containing organic matter. United State patent; Patent Number:5,458,897. 1995.
- 69 Parvilescu VI, Hardacre C. Catalysis in Ionic Liquids. *Chem Rev.* 2007;107:2615-2665.
- Payal RS, Bharath R, Periyasamy G, Balasubramanian S. Density functional theory investigations on the structure and dissolution mechanisms for cellobiose and xylan in an ionic liquid: Gas phase and cluster calculations. *J Phys Chem B.* 2012;116(2):833-840.
- 15 Pérez-Serradilla J, Castro M. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract. *Food Chem.* 2011;124:1652-1659.
- Peric B, Sierra J, Martí E, Cruanas R, Garau MA, Arning J, et al. (Eco) toxicity and biodegradability of selected protic and aprotic ionic liquids. *J Hazard Mater.* 2013;261:99-105.
- 52 Périno-Issartier S, Zill-e-Huma, Abert-Vian M, Chemat F. Solvent free microwave-assisted extraction of antioxidants from Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) food by-products. *Food Bioprocess Technol.* 2011;4(6):1020-1028.

Petigny L, Perino S, Minuti M, Visinoni F, Wajsman J, Chemat F. Simultaneous microwave extraction and separation of volatile and non-volatile organic compounds of boldo leaves. from lab to industrial scale. *Int J Mol Sci*. 2014;15(5):7183-7198.

102 Petkovic M, Ferguson JL, Gunaratne HQN, Ferreira R, Leitão, MC, Seddon KR, et al. Novel biocompatible cholinium-based ionic liquids— toxicity and biodegradability. *Green Chem*. 2010;12(4):643

33 Pham TPT, Cho CW, Yun YS. Environmental fate and toxicity of ionic liquids: A review. *Water Res*. 2010;44(2):352-372.

Poole CF, Poole SK. Ionic liquid stationary phases for gas chromatography. *J Sep Sci*. 2011;34(8):888-900.

Poole CF, Poole SK. Extraction of organic compounds with room temperature ionic liquids. *J Chromatogr A*. 2010;1217(16):2268-2286.

93 Reichardt C. Polarity of ionic liquids determined empirically by means of solvatochromic pyridinium N-phenolate betaine dyes. *Green Chem*. 2005;7(5):339-351.

210 Rodríguez-Pérez C, Gilbert-López B, Mendiola JA, Quirantes-Piné R, Segura-Carretero A, Ibáñez E. Optimization of microwave-assisted extraction and pressurized liquid extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* leaves by multiresponse surface methodology. *Electrophoresis*. 2016;37(13):1938–1946.

157 Routray W, Orsat V. Microwave-assisted extraction of flavonoids: A review. *Food Bioprocess Technol*. 2012;5(2):409-424.

Sagarika N, Prince M, Sreeja R. Review on microwave-assisted extraction technique. *Int J Pure Appl Biosci*. 2017;5(3):1065-1074.

Sarker SD, Nahar L. *Natural Products Isolation*. Third Edition. (Walker JM, ed.). New York Dordrecht Heidelberg London Library: Springer; 2012.

113 Sixt M, Koudous I, Strube J. Process design for integration of extraction, purification and formulation with alternative solvent concepts. *Comptes Rendus Chim*. 2016;19(6):733-748.

- Smiglak M, Pringle JM, Lu X, Han L, Zhang S, Gao H, et al. Ionic liquids for energy, materials, and medicine. *Chem Commun.* 2014;50:9228-9250.
- Sun C, Liu H. Application of non-ionic surfactant in the microwave-assisted extraction of alkaloids from *Rhizoma Coptidis*. *Anal Chim Acta.* 2008;612(2):160-164.
- Tan Z, Yi Y, Wang H, Zhou W, Wang C, McPhee DJ. Extraction, preconcentration, and isolation of flavonoids from *Apocynum venetum* L. leaves using ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction coupled with an aqueous biphasic system. *Molecules.* 2016;21(3):262-273.
- Trinovita E, Sutriyo, Saputri FC, Mun'im A. Enrichment of the gamma oryzanol level from Rice bran by addition of inorganic salts on ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium hexafluorophosphate ([BMIM] PF₆) extraction. *J Young Pharm.* 2017;9(4):555-558.
- Ventura SPM, Francisca A, Gonçalves AMM, Pereira JL, Gonçalves F, Coutinho JAP. Ecotoxicology and environmental safety ecotoxicity analysis of cholinium-based ionic liquids to *Vibrio fischeri* marine bacteria. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2014;102:48-54.
- Xiao W, Han L, Shi B. Microwave-assisted extraction of flavonoids from *Radix Astragali*. *Sep Purif Technol.* 2008;62(3):614-618.
- Xie DT, Wang YQ, Kang Y, Hu QF, Su NY, Huang JM, et al. Microwave-assisted extraction of bioactive alkaloids from *Stephania sinica*. *Sep Purif Technol.* 2014;130:173-181.
- Xiong W, Chen X, Lv G, Hu D, Zhao J, Li S. Optimization of microwave-assisted extraction of bioactive alkaloids from lotus plumule using response surface methodology. *J Pharm Anal.* 2016;6(6):382-388.
- Xu W, Chu K, Li H, Zhang Y, Zheng H, Chen R, et al. Ionic liquid-based microwave-Assisted extraction of flavonoids from *Bauhinia championii* (Benth.) benth. *Molecules.* 2012;17(12):14323-14335.

- Wang XH, Cai C, Li XM. Optimal extraction of gallic acid from *Suaeda glauca* Bge. leaves and enhanced efficiency by ionic liquids. *Int J Chem Eng*. 2016;2016:1-9.
- Wei W, Fu YJ, Zu YG, Wang W, Luo M, Zhao CJ, et al. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction for the determination of flavonoid glycosides in pigeon pea leaves by high-performance liquid chromatography-diode array detector with pentafluorophenyl column. *J Sep Sci*. 2012;35(21):2875-2883.
- Wei Z, Qi X, Li T, Luo M, Wang W, Zu Y, et al. Application of natural deep eutectic solvents for extraction and determination of phenolics in *Cajanus cajan* leaves by ultra performance liquid chromatography. *Sep Purif Technol*. 2015;149:237-244.
- Yansheng C, Zhida Z, Changping L, Qingshan L, Peifang Y, Welz-Biermann U. Microwave-assisted extraction of lactones from *Ligusticum chuanxiong* Hort. using protic ionic liquids. *Green Chem*. 2011;13:666-670.
- Zhang C, Wang H, Malhotra SV, Dodge CJ, Francis AJ. Biodegradation of pyridinium-based ionic liquids by an axenic culture of soil *Corynebacteria*. *Green Chem*. 2010;12(5):851-858.
- Zhang DY, Yao XH, Duan MH, Luo M, Wang W, Fu YJ, et al. An effective negative pressure cavitation-microwave assisted extraction for determination of phenolic compounds in *P. calliantha* H. Andr. *Analyst*. 2013;138(16):4631.
- Zhang HF, Yang XH, Wang Y. Microwave-assisted extraction of secondary metabolites from plants: Current status and future directions. *Trends Food Sci Technol*. 2011;22(12):672-688.
- Zhang Y, Liu Z, Li Y, Chi R. Optimization of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of isoflavones from *Radix puerariae* by response surface methodology. *Sep Purif Technol*. 2014;129:71-79.
- Zhai Y, Su, Wang Z, Cheng J, Sun Y, Wang L, et al. Microwave extraction of essential oils from dried fruits of *Illicium verum* Hook. f. and *Cuminum cyminum* L. using ionic liquid as the microwave

absorption medium. *J Sep Sci*. 2009;32(20):3544-3549.

Zhang Q, Zhao SH, Chen J, Zhang LW. Application of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of flavonoids from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *J Chromatogr B*. 2015;1002:411-417.

Zhang S, Lu X, Zhou Q, Li X, Zhang X, Li S. *Ionic Liquids Physicochemical Properties*. First Edition. Amsterdam: Elsevier B.V.; 2009.

BAB V

EKSTRAKSI POLIFENOL DARI HERBA SURUHAN MENGGUNAKAN CAIRAN IONIK

5.1 Latar Belakang

Suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth atau disebut ¹⁶³ *P. pellucida*) merupakan herba dari keluarga *Piperaceae* yang dapat dengan mudah ditemukan di tempat yang terlindung seperti di bawah tembok, di tanah pinggir jalan, dan di bawah pohon. Herba ini digunakan secara tradisional untuk pengobatan ⁵⁷ sakit kepala, sakit perut, hipertensi, dan diabetes (Heyne 2007). Secara empiris digunakan sebagai obat antihipertensi oleh masyarakat Esan di Edo State Nigeria (Mensah, *et al.*, 2009) dan masyarakat India, bahkan tercantum dalam *Ayurvedic Medicinal Plant* (Majumder, *et al.*, 2011a; 2011b). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Saputri dan kawan-kawan, ekstrak metanol herba suruhan memiliki aktivitas penghambatan ACE, ¹³² yaitu dengan nilai IC_{50} sebesar 7,17 $\mu\text{g/mL}$ (Saputri, *et al.*, 2015). Fraksi dan isolat memiliki aktivitas penghambatan ACE dengan nilai IC_{50} masing-masing yaitu 3,44 dan 7,22 $\mu\text{g/mL}$ (Kurniawan, *et al.*, 2016).

Herba suruhan (*P. pellucida*) telah diketahui memiliki berbagai jenis konstituen kimia yang bervariasi meliputi tanin, saponin, fenol,

steroid, terpenoid, asam amino, dan alkaloid (Majumder, *et al.*, 2011a; Abere, *et al.*, 2012; Gini dan Jothi 2013; new drugs have been discovered, along with new applications. The present study was aimed at investigating the phytochemical constituents of *Peperomia pellucida* (P. *Pellucida* Verma, *et al.*, 2014; Abere dan Okpalaonyagu 2015). Bahkan sebagian besar senyawa metabolit sekunder telah berhasil diisolasi misalnya senyawa *pellucidin A* (Verma, *et al.*, 2014), senyawa *peperomins* (Xu, *et al.*, 2006), *xanton patulosida A* (Khan, *et al.*, 2010), senyawa *dillapiole* (Rojas-Martínez, *et al.*, 2013), dan senyawa kromen (Susilawati, *et al.*, 2015), dan kuersetin (Kurniawan, *et al.*, 2016).

Dalam kajian kandungan dan potensi senyawa aktif dalam bahan alam, pemilihan pelarut dengan prinsip Green Chemistry terus berkembang, dalam hal ini pelarut *ionic liquids* (ILs) atau cairan ionik (Espino, *et al.*, 2016). Cairan ionik memiliki fleksibilitas dari kombinasi ion untuk menyesuaikan sifat fisikokimia senyawa target sehingga sangat potensial digunakan sebagai pelarut untuk menggantikan pelarut organik yang sifatnya mudah menguap, mudah terbakar, dan toksik, sedangkan pelarut cairan ionik memiliki sifat sebaliknya (Jessop, *et al.*, 2012). Selain cairan ionik memiliki sifat fisikokimia yang spesifik dapat meningkatkan atau menurunkan senyawa target yang terekstraksi, dampak ekonomi dan lingkungan juga harus dipertimbangkan dalam proses pemilihan pelarut terutama penggunaan cairan ionik (Chemat dan Vian, 2014).

Pelarut cairan ionik pada umumnya banyak digunakan untuk mengekstraksi senyawa golongan polifenol antara lain 1-butil-3-metilimidazolium klorida ([bmim]Cl), 1-butil-3-metilimidazolium bromida ([bmim]Br), 1-butil-3-metilimidazolium tetrafluoroborat ([bmim]BF₄), 1-butil-3-metilimidazolium dihidrogen fosfat ([bmim][H₂SO₄]), 1-butil-3-metilimidazolium hidrosulfat ([bmim][HSO₄]), 1-etil-3-metilimidazolium bromida ([emim]Br), 1-heksil-3-metilimidazolium ([hmim]Br), 1-oktil-3-metilimidazolium bromida ([omim]Br) (Fu-You, *et al.*, 2007; Fu-You, *et al.*, 2009; Jie-Ping, *et al.*, 2012; Feng, *et al.*, 2013; Xueqing, *et al.*, 2014; Qing, *et al.*, 2006; Zhijian, *et al.*, 2016; Xin-Hong, *et al.*, 2016; Fengli, *et al.*, 2017)

5.2 Klasifikasi dan Morfologi Herba Suruhan

Herba suruhan (*Peperomia pellucida* (L.) Kunth. atau disingkat *P. pellucida*) memiliki klasifikasi sebagai berikut ini (Majumder, et al., 2011; Anonim, 2015):

Kingdom	: <i>Plantae</i> ,
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> ,
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i> ,
Kelas Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> ,
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> ,
Subkelas	: <i>Magnoliidae</i> ,
Ordo	: <i>Piperales</i> ,
Famili	: <i>Piperaceae</i> ,
Genus	: <i>Peperomia</i> ,
Spesies	: <i>Peperomia pellucida</i> (L.) Kunth.



(Sumber: koleksi pribadi)

Gambar 5.1 Herba Suruhan dari habitat alam

Herba Suruhan adalah tanaman yang biasanya tumbuh di daerah yang lembap dan padat. Tanaman ini mudah ditemukan di pekarangan, pekarangan, pinggir jalan, tepi parit, dan area basah atau lembap lainnya. Tumbuhan ini merupakan tumbuhan annular karena

terus berbunga sepanjang tahu, daun gundul yang hijau muda pada permukaan atas dan hijau putih pada permukaan bawah berdaging tipis, berbentuk bulat telur atau oval, dengan luas $\pm 1,5-4$ cm, lebar $1-3,3$ cm. Akar yang berserat, batang berwarna hijau tembus pucat, tegak atau menaik, dengan tinggi $\pm 15-45$ cm (Hariana, 2006; et al., 2011; Rahman, et. al, 2014; Abere dan Okpalaonyagu, 2015).

Herba suruhan memiliki nama daerah, seperti *saladaan* (Sunda), *sladanan*, *rangu-rangu*, *suruhan* (Jawa), *gofu goroho* (Ternate), *tumpangan air* (Sumatera, Jakarta) (Hariana, 2006). Selain itu, dikenal juga dengan beberapa nama asing antara lain *ulasiman bato* (Filipina), *cao hu liao* (Cina), *bhui-amla* (Bangladesh) (Rahman, Hossain, dan Islam, 2014), *coracaojinho* atau *lingua de sapo* (Brazil), *shiny bush* atau *silver bush* (Inggris) (Arrigoni-Blank, et al., 2004).

Herba suruhan tersebar luas di Amerika Selatan dan banyak negara Asia dan tumbuh sebagai gulma di pinggir jalan pertanian, tanah lembap, dan daerah rindang di sekitar rumah pada ketinggian sekitar 400 mdpl (meter di atas permukaan laut) yang biasanya menggerombol. Sebagian besar herba ini tumbuh di daerah tropis (Majumder, et al., 2011; Rahman, et al., 2014). Herba suruhan secara luas terdistribusi di banyak negara Asia Selatan dan Amerika (Arrigoni-Blank, et al., 2004).

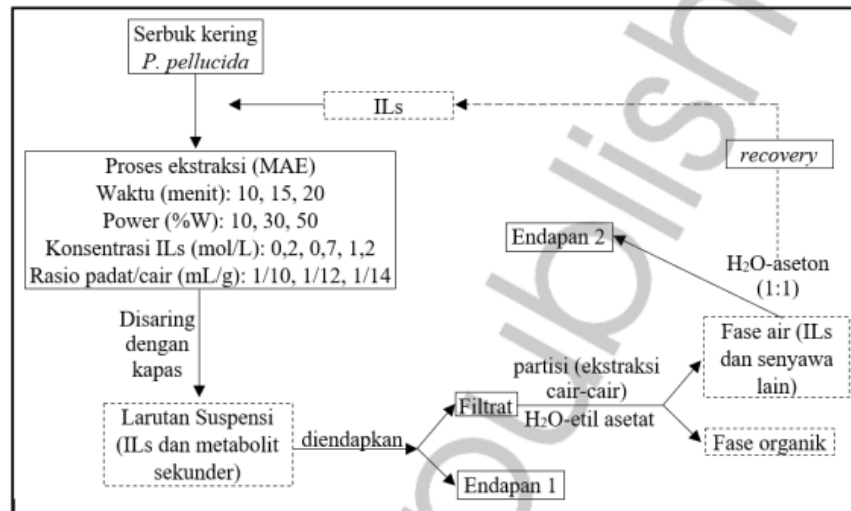
5.3 Penggunaan secara Empiris

Studi etnobotani dan etnofarmaka tentang suruhan menyatakan bahwa setiap bagian tumbuhan telah lama digunakan sebagai tanaman obat. Secara empiris, digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk mengobati sakit kepala yang disertai demam, hasil perasan daunnya digunakan untuk pengobatan sakit perut, asam urat, hipertensi, dan diabetes (Heyne, 2007). Di Bolivia, seluruh bagian tanaman ini digunakan untuk menghentikan pendarahan. Akarnya digunakan untuk mengobati demam dan luka. Di timur laut Brazil, digunakan untuk tekanan darah dan menurunkan kadar kolesterol serta digunakan dalam kegiatan-kegiatan religius (de Albuquerque, et al., 2007). Di Guyana dan Amazon, berfungsi sebagai obat batuk, emolien, diuretik, dan digunakan

untuk pengobatan proteinuria (Nwokocha dan Owu, 2012). Di Filipina, digunakan untuk menurunkan kadar asam urat dan gangguan ginjal dalam bentuk dekokta. Pada berbagai daerah di Bangladesh, daun dari tanaman ini digunakan sebagai pengobatan penyakit gangguan mental. Di Amerika Selatan digunakan sebagai pengobatan inflamasi pada mata (Majumder, *et al.*, 2011).

5.4 Aplikasi Cairan Ionik pada Proses Ekstraksi Polifenol

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode konvensional dan nonkonvensional bertujuan untuk memperoleh metode ekstraksi yang optimal agar dapat diperoleh ekstrak dengan kandungan metabolit sekunder yang ditargetkan. Pada tahapan ini senyawa target adalah senyawa yang memiliki aktivitas sebagai penghambat ACE. Berdasarkan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak/fraksi etil asetat memiliki aktivitas penghambat ACE pada IC_{50} dengan rentang 3-7 ppm (Saputri, *et al.*, 2015; Fatimah, 2015; Kurniawan, *et al.*, 2016) dan sebagai fraksi dengan kandungan polifenol total yang tertinggi. Senyawa-senyawa yang telah berhasil diisolasi pada umumnya merupakan golongan polifenol sebagai ²⁸ yang telah dilaporkan oleh beberapa penelitian sebelumnya oleh (Bayma, *et al.*, 2000; Su, *et al.*, 2006; Roj, ³⁴ Martínez, *et al.*, 2013; Pappachen dan Chacko, 2013; Sangsuwon, *et al.*, 2015; Susilawati, *et al.*, 2015; Kurniawan, *et al.*, 2016). Inilah alasan pemilihan metode ekstraksi untuk dapat mengekstraksi secara optimal serta menerapkan konsep kimia hijau dengan mengaplikasikan pelarut ILs sebagai pengganti pelarut konvensional.



Gambar 4.1 Proses ekstraksi menggunakan *Ionic Liquid-based Microwave-Assisted Extraction* (ILMAE), pemisahan ekstrak dan ionic liquid, dan kemungkinan *recovery ionic liquid* (Ahmad, et. al, 2017b).

Secara umum metode ekstraksi secara konvensional digunakan sebagai pembandingan dengan ekstraksi secara non-konvensional menggunakan pelarut ILS dengan metode ILMAE. Sementara itu, untuk proses ekstraksi dapat dilihat pada **Gambar 5.2** (Ahmad, et al., 2017b) dengan *yield* (kadar polifenol total) sebagai parameter terhadap asam galat yang dihitung berdasarkan nilai GAE.

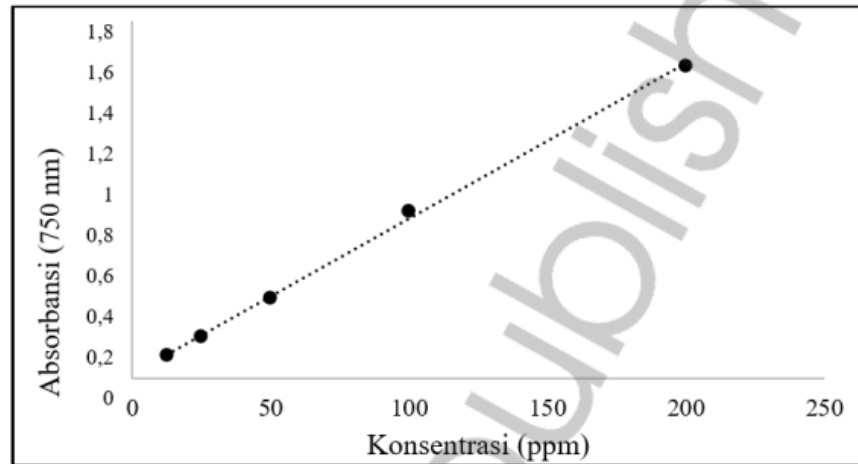
5.5 Penentuan Kadar Polifenol Total

Kurva kalibrasi standar menggunakan metode *microplate reader* yang disajikan pada **Tabel 5.1** (Ahmad, Yanuar, Mulia, dan Mun'im, 2017c). Hasil analisis dengan regresi linier diperoleh pada konsentrasi standar asam galat berturut-turut, 12,5; 25; 50; 100; dan 200 ppm berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaporkan oleh (Bobo-García, et al., 2014).

Tabel 5.1 Hasil pengukuran absorbansi standar asam gallat
(Ahmad, *et al.*, 2017c)

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (750 nm)	Absorbansi rata-rata (750 nm)	Standar Deviasi
12,5	0,112	0,116	0,004
	0,118		
	0,119		
25	0,205	0,209	0,003
	0,212		
	0,210		
50	0,415	0,405	0,009
	0,405		
	0,396		
100	0,874	0,843	0,027
	0,832		
	0,823		
200	1,559	1,57	0,045
	1,531		
	1,619		

Berdasarkan hasil analisis regresi linier yang juga diperoleh secara otomatis dari instrumen analisis *microplate reader 96 well* (VersaMax™ ELISA Microplate Reader), diperoleh persamaan $Y = 0.023 + 7.812X$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0.999 (dapat dilihat pada Gambar 5.3), di mana Y adalah *yield* (kadar polifenol total), dan X adalah absorbansi standar atau sampel (Ahmad, Yanuar, Mulia, dan Mun'im, 2017c). Persamaan tersebut digunakan untuk menghitung kadar polifenol dari sampel dari berbagai jenis pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan.



Gambar 5.3 Kurva baku dari hasil analisis regresi linier standar asam gallat (Ahmad, *et al.*, 2017c)

Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi dari sampel ⁵⁴ baik ekstrak yang diperoleh secara maserasi maupun secara ILMAE, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan kadar polifenol total dari masing-masing metode. Hasil pengukuran absorbansi dan hasil perhitungan kadar polifenol total apat dilihat pada **Tabel 5.2**, di mana sebanyak 29 ekstrak dari masing-masing jenis pelarut ILs berdasarkan hasil desain eksperimental menggunakan metode RSM.

Tabel 5.2 Hasil pengukuran absorbansi (750 nm) dan kadar polifenol total ($\mu\text{g/g}$ sampel) dari masing-masing sampel ekstrak (Ahmad, *et al.*, 2017a; 2017c; 2017d)

Ekstrak etil asetat langsung		No. SPL	Ekstrak [bmim]BF ₄		Ekstrak [bmim]Br		Ekstrak [emim]Br		Ekstrak [bmim]Cl	
ABS	GAE		ABS	GAE	ABS	GAE	ABS	GAE	ABS	GAE
1,537	16,147	1	2,056	21,69	1,006	10,48	1,048	10,93	1,492	15,67
		2	1,809	19,05	0,858	8,90	0,663	6,82	1,286	13,47
Ekstrak N-heksana		3	3,068	32,48	1,498	15,73	1,312	13,75	0,934	9,71
ABS	GAE	4	2,266	23,93	0,939	9,78	0,922	9,59	0,995	10,37
0,342	3,408	5	1,839	19,38	1,033	10,78	1,094	11,43	0,805	8,34

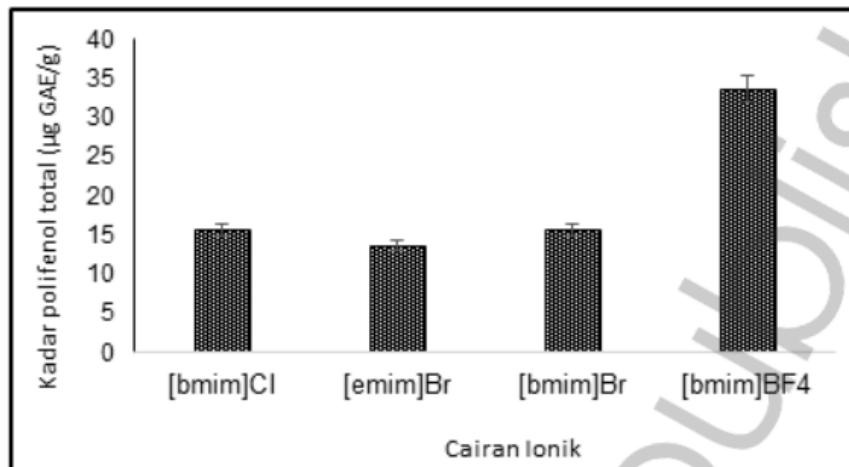
Ekstrak etil asetat langsung		No. SPL	Ekstrak [bmim]BF ₄		Ekstrak [bmim]Br		Ekstrak [emim]Br		Ekstrak [bmim][Cl]	
ABS	GAE		ABS	GAE	ABS	GAE	ABS	GAE	ABS	GAE
		6	2,795	29,57	1,183	12,37	1,061	11,08	0,618	6,35
Ekstrak Etil asetat		7	1,470	15,44	0,822	8,52	0,541	5,53	0,409	4,11
ABS	GAE	8	1,136	11,87	0,637	6,55	0,672	6,92	1,029	10,73
0,756	7,823	9	1,072	11,19	0,467	4,74	0,857	8,90	0,444	4,49
		10	2,620	27,70	0,900	9,35	1,060	11,06	0,951	9,90
		11	2,591	27,39	0,980	10,21	1,029	10,73	1,737	18,29
		12	1,074	11,22	0,807	8,36	0,983	10,24	1,026	10,70
		13	1,634	17,19	0,475	4,82	1,280	13,41	0,511	5,21
		14	2,853	30,19	1,289	13,51	0,972	10,13	0,931	9,68
		15	2,477	26,18	1,008	10,50	0,955	9,94	0,708	7,30
		16	3,078	32,59	0,973	10,13	0,922	9,59	0,871	9,04
		17	2,495	26,37	1,067	11,13	1,118	11,68	0,899	9,34
		18	3,100	32,82	1,288	13,49	1,017	10,54	0,899	9,35
		19	1,364	14,31	0,687	7,08	1,348	14,13	0,568	5,81
		20	2,341	24,73	0,818	8,48	1,125	11,76	0,940	9,78
		21	2,416	25,53	0,765	7,91	0,986	10,28	1,012	10,55
		22	2,434	25,72	0,661	6,80	0,883	9,18	0,793	8,21
		23	2,386	25,21	0,961	1,01	0,834	8,65	0,934	9,72
		24	2,067	21,80	1,226	1,83	1,017	10,60	0,997	10,39
		25	3,171	33,58	0,735	7,60	1,104	11,53	1,063	11,09
		26	3,121	33,05	0,580	5,95	0,866	8,99	1,046	10,92
		27	3,094	32,76	0,942	9,81	1,000	10,42	0,845	8,77
		28	2,125	22,42	1,287	13,48	0,591	6,06	0,858	8,90
		29	3,006	31,82	1,097	11,46	0,559	5,72	0,787	8,15

Keterangan: No. SPL adalah nomor urut standar sampel untuk ekstraksi secara non konvensional; ABS adalah absorbansi rata-rata sampel uji (750 nm); GAE adalah kadar polifenol total dalam bentuk *gallic acid equivalen* ($\mu\text{g/g}$).

Pada **Tabel 5.2**, hasil penentuan kadar polifenol total yang diperoleh berbeda-beda berdasarkan jenis pelarut yang digunakan. Kadar polifenol total dari metode ekstraksi secara non-konvensional menggunakan beberapa faktor berturut-turut dimulai dari yang tertinggi yaitu ekstrak [bmim] BF₄ dengan rentang 11,19–33,58 µg GAE/g sampel, ekstrak [bmim]Br dengan rentang 4,74–15,73 µg GAE/g sampel, ekstrak [bmim]Cl dengan rentang 4,11–15,67 µgGAE/g sampel, dan ekstrak [emim]Br dengan rentang 5,53–13,75 µg GAE/g sampel, sedangkan kadar polifenol total dari metode ekstraksi secara konvensional berturut-turut yaitu ekstrak etil asetat langsung sebesar 16,15 µg GAE/g sampel, ekstrak etil asetat sebesar 7,82 µg GAE/g sampel, dan ekstrak n-heksana sebesar 3,41 µg GAE/g sampel (Ahmad, *et al.*, 2017a; 2017c; 2017d). Berdasarkan hasil di atas, pelarut [bmim]BF₄ sangat efisien digunakan sebagai pelarut dibandingkan dengan pelarut IIs lainnya. Pelarut [bmim]BF₄ dua kali lebih tinggi kandungan kadar polifenol total dibandingkan dengan pelarut etil asetat (merupakan pelarut yang banyak digunakan pada penelitian-penelitian sebelumnya menggunakan tumbuhan ini) (Saputri, *et al.*, 2015; Fatimah, 2015; Kurniawan, *et al.*, 2016).

5.6 Dasar Pemilihan Jenis Cairan Ionik

Secara umum cairan ionik yang sering digunakan untuk mengekstraksi terutama golongan polifenol sebagai target adalah menggunakan kation 1-alkil-3-metilimidazolium dan anion Cl⁻, Br⁻, BF₄⁻, dihidro-sulfat, dan beberapa yang lain (Fu-You, *et al.*, 2007; Chunxia *et al.*, 2011; Tien, *et al.*, 2013; Yuefei, *et al.*, 2014; Qing, *et al.*, 2015; Xiao *et al.*, 2016; Xin-Hong, *et al.*, 2016; Deng-lang, *et al.*, 2016).



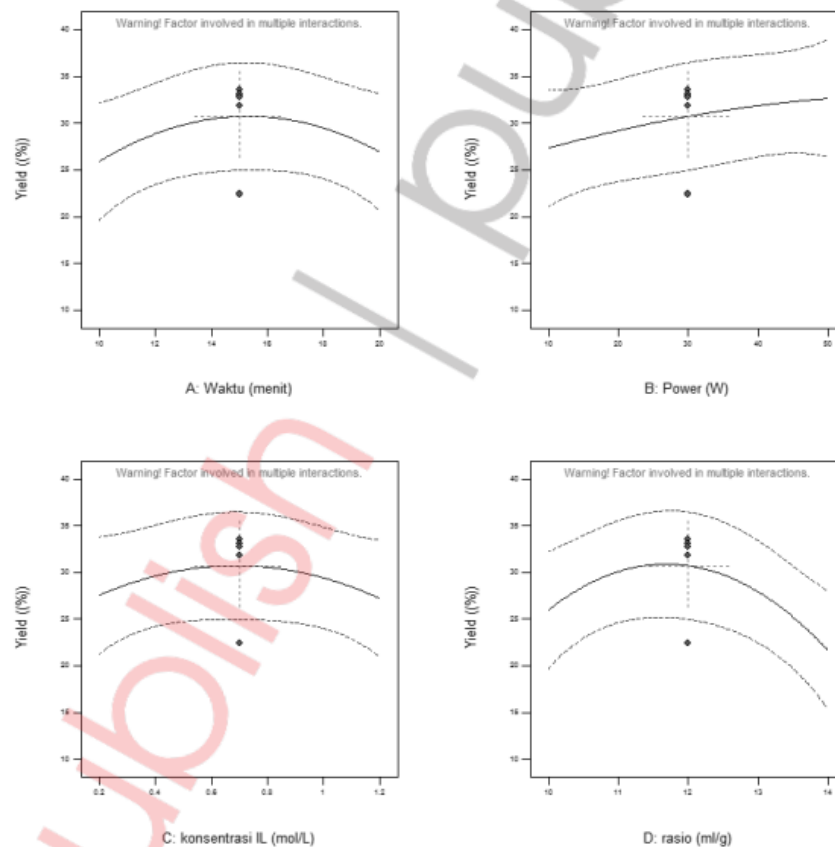
Gambar 5.4 Kadar fenol total dari Suruhan dengan metode IL-MAE menggunakan ILS yang berbeda (Ahmad, *et al.*, 2017a; 2017c; 2017d)

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.3 (Ahmad, *et al.*, 2017a; 2017c; 2017d), dapat diamati bahwa [bmim]BF₄ dapat mengekstraksi metabolit sekunder dengan kadar fenol total tertinggi dibandingkan dengan pelarut cairan ionik lainnya yang digunakan pada penelitian ini. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kemampuan ekstraksi sangat terkait dengan hidrofobisitas dari cairan ionik yang digunakan. Secara umum, peningkatan kemampuan menarik komponen kimia tertentu dapat meningkat dengan peningkatan hidrofobisitas dari pelarut yang digunakan (Chemat dan Vian 2014). Hidrofobisitas dari keempat cairan ionik yang digunakan dalam penelitian ini yaitu berturut-turut [emim]Br < [bmim]Br < [bmim]Cl < [bmim]BF₄ (Zhijian, *et al.*, 2016). Selain itu, kemampuan ikatan hidrogen dari cairan ionik juga menjadi faktor yang mempengaruhi ekstraksi dengan memperimbangkan anion (Cláudio, *et al.*, 2014) aqueous two-phase systems (ATPS.

5.7 Optimasi Metode Ekstraksi IL-MAE

5.7.1 Analisis Faktor Tunggal

Faktor-faktor yang digunakan pada penelitian ini, meliputi: waktu ekstraksi, kekuatan *microwave*, konsentrasi cairan ionik, dan rasio cair/padat yang dapat berpengaruh terhadap hasil ekstraksi. Oleh karena itu, kita harus mengoptimalkan kondisi tersebut untuk mendapatkan *yield* (kadar polifenol total) yang maksimal.



Gambar 5.5 Pengaruh masing-masing faktor terhadap yield (kadar fenol total) di mana masing-masing faktor melibatkan beberapa interaksi dengan faktor lain. Sumber: (Ahmad, 2018)

Pengaruh waktu ekstraksi pada rentang (mulai dari 10-20 menit) telah dikaji untuk mencari waktu yang optimal dalam proses ekstraksi. Berdasarkan Gambar 5.5A, waktu ekstraksi maksimal diperoleh pada ekstraksi selama 15 menit cukup untuk mengesktraksi metabolit sekunder dengan kadar fenol tinggi sedangkan penurunan kadar polifenol total terjadi setelah 15 menit. Hal ini berarti bahwa disolusi dan difusi zat terlarut dari matriks tanaman terjadi kesetimbangan konsentrasi komponen aktif dalam 15 menit (Şahin dan Şamli, 2013) ultrasound-assisted extraction (UAE).

Pengaruh kekuatan *microwave* (*power*) dalam rentang 10-50 %Watt. Pada Gambar 5.5B, memperlihatkan bahwa semakin tinggi *power* semakin tinggi nilai *yield* (kadar polifenol total) yang dihasilkan. Berdasarkan fakta tersebut sebaiknya masih dinaikkan *power*nya, tetapi hal ini tidak dilakukan karena terkendala pada kapasitas *microwave* yang masih sederhana sehingga peneliti kesulitan bahkan tidak bisa melakukan pengaturan suhu. Peningkatan suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan matriks sampel dan juga dapat menyebabkan perubahan struktur senyawa yang ditargetkan. Karena pertimbangan suhu, kestabilan cairan ionik, dan kandungan metabolit sekunder yang ditargetkan maka *power* yang digunakan yaitu 30 %Watt yang cukup dianggap mampu mengekstraksi secara maksimal.

Pengaruh konsentrasi cairan ionik pada rentang 0,2-1,2 mol/L. Gambar 5.5C, memperlihatkan bahwa konsentrasi pada kisaran 0,7 mol/L telah mampu mengekstraksi secara optimum. Pengaruh konsentrasi ILs terkait dengan tingkat kekentalan (viskositas) dari ILs sehingga sulit berpenetrasi untuk merusak dinding sel. Selain itu, berperan penting dalam mereduksi biaya operasional.

Rasio cair-padat (jumlah dalam g) serbuk kering berbanding volume pelarut ekstraksi) merupakan faktor lain yang berpengaruh terhadap proses ekstraksi. Penggunaan rasio cair-padat yang tinggi kemungkinan dapat menyebabkan penggunaan pelarut cairan ionik yang berlebihan, sedangkan jika rasio cair-padat yang rendah kemungkinan dapat menyebabkan proses ekstraksi tidak sempurna. Oleh

karena itu, penting untuk dilakukan optimasi rasio cair-padat. Untuk tujuan tersebut, pengaruh rasio cair-padat pada rentang 10:1 – 14:1 mL/g pada *yield* (kadar fenol total) telah dilakukan. Pada Gambar 5.5D, memperlihatkan bahwa ekstraksi secara maksimal terhadap *yield* (kadar fenol total) diperoleh pada rasio cair-padat yaitu 12:1 mL/g.

5.7.2 Analisis Response Surface Methodology

Untuk mempelajari pengaruh timbal balik antara faktor-faktor yang digunakan pada penelitian ini, yang meliputi waktu ekstraksi, kekuatan (*power*) *microwave*, konsentrasi ILs dan rasio cair-padat. Perangkat lunak Design-Expert 10 di aplikasikan untuk memperoleh kondisi optimum pada penelitian ini. Empat faktor dan tiga level dengan pendekatan *Box Behken Design* yang meliputi Kekuatan *microwave* (10, 30, dan 50 %Watt), waktu ekstraksi (10, 15, dan 20 menit), kosentrasi ILs (0,2; 0,7; dan 1,2 mol/L), dan rasio cair-padat (10, 12, dan 14 mL/gram) yang dikembangkan menggunakan RSM. Proses ekstraksi dilakukan berdasarkan masing-masing rancangan eksperimen yang berbeda dan *yield* (kadar polifenol total) di tunjukkan pada Tabel 5.3 (Ahmad, *et al.*, 2017d).

Tabel 5.3 Desain eksperimen berdasarkan rancangan RSM dengan *Box-Behnken Design* terhadap *yield* (kadar polifenol total)

Run	Waktu (Menit)	Power (%W)	Konsentrasi Cairan Ionik (mol/L)	Rasio Padat-cair (mL/g)	Kadar Polifenol total (µg/g) aktual	Kadar polifenol total (µg/g) prediksi
1	15	30	0,7	12	33,58	30,73
2	15	10	0,2	12	17,19	22,72
3	10	30	0,7	14	27,39	24,97
4	20	30	0,7	14	11,22	9,63
5	10	30	0,7	10	11,19	12,99
6	15	50	0,7	14	21,80	22,64
7	15	30	0,2	10	19,38	19,37

Run	Waktu (Menit)	Power (%W)	Konsentrasi Cairan Ionik (mol/L)	Rasio Padat-cair (mL/g)	Kadar Polifenol total (µg/g) aktual	Kadar polifenol total (µg/g) prediksi
8	10	30	0,2	12	26,37	23,73
9	15	50	0,2	12	30,19	31,13
10	20	30	1,2	12	24,73	24,37
11	15	30	1,2	14	11,87	14,65
12	20	50	0,7	12	23,93	27,35
13	20	30	0,2	12	32,82	22,75
14	15	30	0,7	12	32,76	30,73
15	15	30	0,7	12	33,05	30,73
16	15	50	0,7	10	25,72	28,80
17	15	10	1,2	12	26,18	25,46
18	15	50	1,2	12	32,59	27,47
19	15	30	0,2	14	15,44	21,89
20	15	30	0,7	12	32,76	30,73
21	10	50	0,7	12	32,48	29,31
22	10	30	1,2	12	14,38	21,39
23	20	30	0,7	10	27,70	30,34
24	15	10	0,7	10	25,53	21,69
25	15	10	0,7	14	25,21	19,13
26	10	10	0,7	12	21,69	21,04
27	20	10	0,7	12	19,05	25,00
28	15	30	0,7	12	31,82	30,73
29	15	30	1,2	10	29,57	25,89

Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan regresi multivariat menggunakan program Design Expert 10. Model regresi dalam bentuk faktor yang ditandai sebagai persamaan terhadap variabel independen (*yield*) diperoleh di mana koefisien korelasi (R^2) sebesar 0,82519, sebagai berikut (Ahmad, *et al.*, 2017d): $Y = 30,250 - 1,356X_1 + 2,655X_2 + 2,252X_3 - 0,565X_4 + 0,990X_1X_3 - 8,172X_1X_4 - 3,439X_3X_4 - 4,178X_1^2 - 3,210X_3^2 - 6,786X_4^2 - 7,290X_1^2X_3 + 5,575X_1X_3^2 - 4,843X_3^2X_4$, di

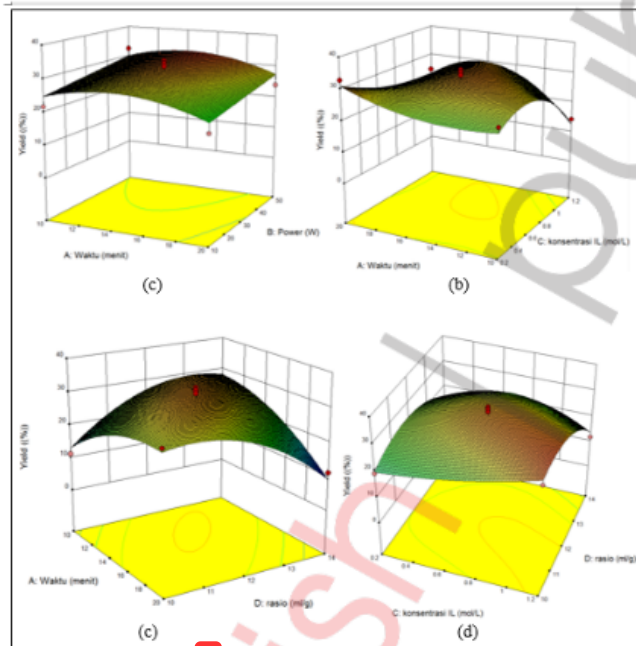
mana Y adalah yield ekstrak (kadar polifenol total), X_1 adalah faktor A (Waktu ekstraksi; menit), X_2 adalah faktor B (Kekuatan (Power) *micro-wave*; % Watt), X_3 adalah faktor C (konsentrasi IL; mol/L), dan X_4 adalah faktor D (Rasio cair-padat; mL/g).

Tabel 5.4 Analisis varians untuk respon permukaan dengan regresi kuadratik model (Ahmad, *et al.*, 2017d)

Sumber	Derajat bebas (df)	Jumlah kuadrat	Kuadrat rata-rata	Nilai F	Nilai p Prob>F
Model	13	1147,027	88,233	5,4554	0,001276
X_1	1	14,702	14,702	0,9090	0,35549
X_2	1	84,587	84,587	5,230	0,03715
X_3	1	40,561	40,561	2,5079	0,13413
X_4	1	2,553	2,553	0,1579	0,69673
X_1X_3	1	3,923	3,923	0,2425	0,62951
X_1X_4	1	267,131	267,131	16,5166	0,00102
X_3X_4	1	47,316	47,315	2,9256	0,10779
X_1^2	1	117,441	117,441	7,26133	0,01663
X_3^2	1	69,325	69,325	4,2863	0,05609
X_4^2	1	309,824	309,824	19,156	0,00054
$X_1^2X_3$	1	141,727	141,727	8,7629	0,00973
$X_1X_3^2$	1	82,869	82,869	5,12376	0,03886
$X_1^2X_4$	1	62,534	62,534	3,86642	0,06805
Residual	15	242,6025	16,1735		
Lack of Fit	11	154,74	14,0673	0,64042	0,7477
Pure Error	4	87,8625	21,9656		
Cor Total	28	1389,6292			

1 Pada **Tabel 5.4** memperlihatkan bahwa koefisien korelasi (R^2) yang diperoleh dari model perhitungan sebesar 0,82519 yang menunjukkan bahwa pada model dengan variabel tersebut memiliki korelasi yang relatif baik, dan nilai F hitung dari *lack of fit* sebesar 0.64 menyiratkan bahwa *lack of fit* tidak signifikan terhadap kesalahan murni. Nilai signifikansi dari nilai F dari *lack of fit* sebesar 0,7477 ($p > 0,05$) tidak

signifikan atau sekitar 74,77% terjadi karena faktor permukaan yang digunakan. Nilai F Model sebesar 5,45 yang mengindikasikan model signifikan, dan hanya 0,13% probabilitas untuk nilai F Model terjadi karena gangguan. Nilai Prob>F lebih kecil dari 0,05 yang juga mengindikasikan bahwa model signifikan. Semua hasil analisis di atas, menjelaskan bahwa model dapat diterima.



Gambar 5.6 Plot respons permukaan secara 3 Dimensi memperlihatkan pengaruh dari (a) waktu ekstraksi dan kekuatan *microwave*, (b) waktu ekstraksi dan konsentrasi cairan ionik, (c) waktu ekstraksi dan rasio cair-padat, dan (d) konsentrasi cairan ionik dan rasio cair/padat terhadap nilai Yield (kadar fenol total) (Ahmad, 2018)

Pada Gambar 5.6 memperlihatkan respon permukaan secara tiga dimensi untuk saling interaksi antara waktu ekstraksi, kekuatan *microwave*, rasio cair/padat, dan konsentrasi ILs. Berdasarkan Tabel 5.5, kondisi optimum terbaik yang disarankan berdasarkan hasil analisis menggunakan RSM dengan *Box Behnken Design* dengan program

Design Expert 10 adalah sebagai berikut: waktu ekstraksi adalah 18,6 menit, kekuatan *microwave* sebesar 26,47 %Watt, rasio cair-padat sebanyak 10,72 mL/g, dan konsentrasi cairan ionik sebesar 0,79 mol/L.

Tabel 5.5 Sepuluh peringkat kondisi optimum yang disarankan berdasarkan hasil analisis RSM dengan *Box Behnken Design*

Rank	Waktu (Menit)	Power (%Watt)	Konsentrasi ILS (mol/L)	Rasio cair-padat (mL/g)	Yield prediksi (µg/g)
1	18,6	26,5	0,8	10,7	30,31
2	10	50	0,7	12	30,08
3	14,7	22,4	0,73	11,6	29,25
4	19,5	36,9	0,9	11,1	28,89
5	10	30	0,7	14	28,25
6	11,8	32,8	0,9	12,5	26,38
7	18,3	25,2	0,4	12,5	25,33
8	20	30	1,2	12	23,03
9	12,9	31,2	0,7	10,1	21,37
10	14,1	13,8	0,2	10,5	18,91

Daftar Pustaka

- 3
Abere, T.A. and Okpalaonyagu, S.O. Pharmacognostic evaluation and antiscikling activity of the leaves of *Peperomia pellucida* (L.) HBK (Piperaceae). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2015; 9(11): 367-374.
- 35
Ahmad, I. Telaah senyawa aktif penghambat *angiotensin converting enzyme* dari herba Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) sebagai antihipertensi. *Disertasi*, Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Depok, 2018.
- 286
Ahmad, I., Yanuar, A., Mulia, K., Mun'im, A. Application of ionic liquid as a green solvent for polyphenolic content extraction of *Peperomia pellucida* (L) Kunth herb. *Journal of Young Pharmacist*, 2017a; 9(4): 486-490.

- Ahmad, I., Yanuar, A., Mulia, K., Mun'im, A. ⁷ Application of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of the secondary metabolite from *Peperomia pellucida* (L) Kunth. *Pharmacognosy Journal*, 2017b; 9(2): 227–234.
- Ahmad, I., Yanuar, A., Mulia, K., Mun'im, A. Extraction of polyphenolic content from *Peperomia pellucida* (L) Kunth herb with 1-ethyl-3-methylimidazolium bromide as a green solvent. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017c; 79(6): 1013-1017.
- Ahmad, I., Yanuar, A., Mulia, K., Mun'im, A. ⁷⁵ Optimization of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of polyphenolic content from *Peperomia pellucida* (L) Kunth using response surface methodology. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2017d; 7(7): 660-665.
- Anonim. *Peperomia pellucida* (L.) Kunth. *Plant Date Base. United States Department of Agriculture, Natural Resources Conservation Service*. 2015. Available at: <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=PEPE5>.
- ⁴⁷ Arrigoni-Blank, M.F., Dmitrieva, E.G., Franzotti, E.M., Antonioli, A.R., Andrade, M.R., Marchioro, M. Anti-inflammatory and analgesic activity of *Peperomia pellucida* (L.) HBK (Piperaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 2004; 91: 215–218.
- ³ Bayma, J.D.C., Arruda, M.S.P., Muller, A.H., Arruda, A.C., Canto, W.C. A dimeric ArC2 compound from *Peperomia pellucida*. *Phytochemistry*, 2000; 55(7): 779–782.
- ¹⁵ Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Verseda, P., Marin-Arroyo, M.R., Navarro, M. Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of Science Food and Agriculture*, 2014; 95(1): 204–209.
- Chemat, F. Vian, M.A. *Green Chemistry and Sustainable Technology: Alternative Solvents for Natural Products Extraction*. Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer US. 2014.

214

Chunxia, L., Hongxin, W., Wenping, L., Chaoyang, M., Pao, X, Jian, Z., Jun, X., Bo, L., Qunlan, Z. Ionic liquid-based ultrasonic/microwave-assisted extraction combined with UPLC for the determination of anthraquinones in rhubarb. *Chromatographia*, 2011; 74(1–2): 139–144.

19

Cláudio, A.F.M., Marques, C.F.C., Boal-Palheiros, I., Freire, M.G., Coutinho, J.A.P. Development of back-extraction and recyclability routes for ionic-liquid-based aqueous two-phase systems. *Green Chem.*, 2014; 16: 259–268.

Deng-lan, Z., Tao, C., Hong-mei, L., Chen, C., Jing-yang, Z. Yu-lin, L. (2016). Separation of three phenolic high-molecular-weight compounds from the crude extract of *Terminalia Chebula* Retz. by ultrasound-assisted extraction and high-speed counter-current chromatography. *Journal of Separation Science*, 39, 1278–1285.

106

Espino, M., Fernández, M.A., Gomez, F.J.V. Silva, F. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, 2016; 76: 126–136.

138

Fatimah. Uji Aktivitas Penghambatan ACE pada Fraksi yang Kaya akan Flavanoid dan Alkaloid pada Herba Suruhan (*Peperomia pellucida* [L.] Kunth). *Skripsi*. Universitas Indonesia. 2015.

Feng, L., Di, W., Wei, L., Xiao, W., Aiyang, B. Luqi, H. Ionic liquid-based ultrahigh pressure extraction of five tanshinones from *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Separation and Purification Technology*, 2013; 110: 86–92.

Fengli, C., Qiang, Z., Kailin, M., Shimin, F., Huiyan, G. Lei, Y. Optimization of ionic liquid-based homogenate extraction of orientin and vitexin from the flowers of *Trollius chinensis* and its application on a pilot scale. *Separation and Purification Technology*, 2017; 175: 147–157.

7

Fu-You, D., Xiao-Hua, X., Xue-Jun, L., Gong-Ke, L. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds from medicinal plants. *Talanta*, 2009; 78: 1177–1184.

- Fu-You, D., Xiao-Hua, X. Gong-Ke, L. ²³ Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of transresveratrol from *Rhizma Polygoni Cuspidati*. *Journal of Chromatography A*, 2007; 1140(1–2): 56–62.
- ³ Gini, T.G. Jothi, G.J. Preliminary phytochemical screening of whole plant extracts of *Peperomia pellucida* (Linn.) HBK (Piperaceae) and *Marsilea quadrifolia* Linn. (Marsileaceae). *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 2013; 5(3): 200–214.
- ¹³⁴ Hariana, A. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya* (Edisi 3). Jakarta: Penebar Swadaya. 2006.
- ⁴⁴ Heyne, K. *Tumbuhan Berguna Indonesia* (Edisi 3). Jakarta: Research and Development Agency, Ministry of Forestry, Indonesia: Jakarta. 2007.
- ⁵¹ Jessop, P.G., Jessop, D.A., Fu, D, Phan, L. Solvatochromic parameters for solvents of interest in green chemistry. *Green Chemistry*, 2012; 14: 1245–1259.
- Jie-Ping, F., Jing, C., Xue-Hong, Z., Jun-Zhong, H., Tao, K., Sheng, T., Zhe-You, T., Yan-Long, X., Rui, X., Jiang-Hang, Z. Optimization of ionic liquid based ultrasonic assisted extraction of puerin from *Radix Puerariae Lobatae* by response surface methodology. *Food Chemistry*, 2012; 135: 229-2306.
- ¹³³ Khan, A., Rahman, M. & Islam, S. Isolation and bioactivity of a xanthone glycoside from *Peperomia pellucida*. *Life Sciences and Medicine Research*, 2010; 2010: 1–10.
- ¹⁵⁴ Kurniawan, A., Saputri, F.C., Rissyelly, Ahmad, I., Mun'im, A. Isolation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity quercetin from *Peperomia pellucida*. *International Journal of PharmTech Research*, 2016; 9(7): 115–121.
- ³ Majumder, P., Abraham, P., Satya, V. Ethno-medicinal, phytochemical, and pharmacological review of an amazing medicinal herb *Peperomia pellucida* (L.) HBK. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2011; 2(4): 358–364.

- 266 Majumder, P. Majumder, S. Preparation and characterization of some Herbal ointment formulations with evaluation of antimicrobial property. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 2013; 1: 385–390.
- 10 Mensah, J.K., Okoli, R.I., Turay, A.A., Ogie-Odia, E.A. Phytochemical analysis of medicinal plants used for the management of hypertension by Esan people of Edo State, Nigeria. *Ethnobotanical Leaflets*, 2009; 13(12): 73–87.
- 155 Pappachen, L.K. Chacko, A. Preliminary phytochemical screening and In-vitro cytotoxic activity of *Peperomia pellucida* Linn. *International Journal of Comprehensive Pharmacy*, 2013; 4(8): 1–4.
- 238 Qing, Z., Junzeng, Z., Jingkai, S., Silva, A., Dennis, D.A. Barrow, C.L. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 2006; 18: 445–450.
- 7 Qing, Z., San-hu, Z., Jue, C. Li-wei, Z. Application of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of flavonoids from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Journal of Chromatography B*, 2015; 1002: 411–417.
- 21 Rahman, A.H.M.M., Hossain, M.M. Islam, A.K.M.R. Taxonomy and medicinal uses of angiosperm weeds in the wheat field of Rajshahi, Bangladesh. *Frontiers of Biological and Life Sciences*, 2014; 2(1): 1-8.
- 211 Rojas-Martínez, R., Arrieta, J., Cruz-Antonio, L., Arrieta-Baez, D., Velázquez-Méndez, A.M. Sánchez-Mendoza, M.E. Dillapiole, isolated from *Peperomia pellucida*, shows gastroprotector activity against ethanol-induced gastric lesions in wistar rats. *Molecules*, 2013; 18(9): 11327–11337.
- 87 Şahin, S., Şamli, R. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2013; 20(1): 595–602.
- 47 Sangsuwon, C., Jirujcharyakul, W., Roongruangchai, K. Chemical constituents and antiamebic of methanolic fraction from *Peperomia pellucida* (Linn.) Kunth. *Applied Mechanics and Materials*, 2015; 709: 417–421.

- 3 Saputri, F.C., Mun'im, A., Lukmanto, D., Aisyah, S.N. Rinandy, J.S. Inhibitor of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by some Indonesia edible plants. *International journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2015; 6(3): 1054–1059.
- 86 Su, X., Na, L., Meng-Meng, N., Cai-Hong, Z., Qiao-Rong, Y., Ming-Wei, W. Bioactive compounds from *Peperomia pellucida*. *Journal of Natural Products*, 2006; 69(2): 247–250.
- 82 Tien, D.H., Cheng, Z., Hantao, L.W., Anderson, J.L. Ionic liquids in analytical chemistry: fundamentals, advances, and perspectives. *Analytical Chemistry*, 2013; 86(1): 262–285.
- 44 Verma, R.S., Padalia, R.C., Goswami, P., Chauhan, A. Essential oil composition of *Peperomia pellucida* (L.) from India. *The Journal of Essential Oil Research*, 2014; 26(1): 29–33.
- 28 Yuefei, Z., Zhe, L., Yali, L., Ruan, C. Optimization of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of isoflavones from *Radix puerariae* by response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 2014; 129: 71–79.
- Xiao, P., Ming-Hui, D., Xiao-Hui, Y., Yu-Hang, Z., Chun-Jian, Z., Yuan-Gang, Z., Yuan-Gang, Z., Yu-Jie, F. Green extraction of five target phenolic acids from *Lonicerae japonicae* Flos with deep eutectic solvent. *Separation and Purification Technology*, 2016, 157: 249–257.
- 54 Zhijian, T., Yongjian, Y., Hongying, W., Wanlai, Z., Chaoyun, W. Extraction, preconcentration and isolation of flavonoids from *Apocynum venetum* L. leaves using ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction coupled with an aqueous biphasic system. *Molecules*, 2016; 21(3): 262–273.

APLIKASI CAIRAN IONIK PADA EKSTRAKSI GAMMA-ORYZANOL DARI DEDAK PADI (*Oryza sativa* L.)

88

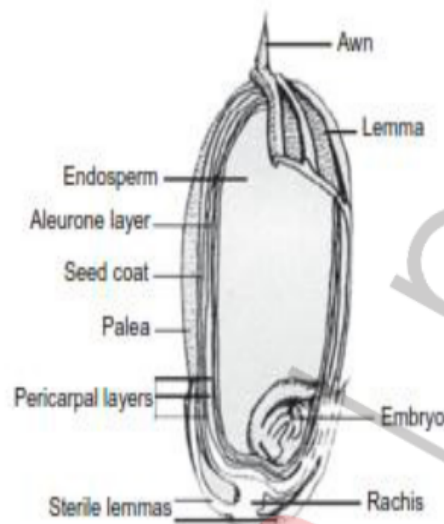
6.1 Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu produk komoditi pertanian terbesar di Indonesia. Produksi padi di Indonesia menempati posisi ketiga setelah Cina dan India (Sabir, et.al., 2017). Produksi gabah padi tahun 2015 meningkat 4,51 juta ton (6,37%) dibandingkan tahun 2014 (Badan Pusat Statistik, 2016). Semakin besar produksi beras maka semakin besar pula hasil sisa yang dihasilkan dari beras giling. Salah satu produk samping dari hasil penggilingan ini adalah dedak padi (Hapsari, et al., 2013).

Dedak padi merupakan salah satu sumber senyawa gamma-oryzanol dengan konsentrasi antara 1,5 % sampai 3 % (Patel dan Naik, 2004). Senyawa ini terdiri dari gabungan paling sedikit sepuluh komponen alkohol triterpen dan ester asam ferulat. Gamma-oryzanol terdiri dari empat komponen utama terdiri dari sikloartenil ferulat, 2,4-metilen sikloartenil ferulat, β -sitosterilferulat, dan kampesteril ferulat (Makynen, et al., 2012).

g-Oryzanol berisifat nonpolar karena itu untuk memperolehnya

dari dedak pada dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut idopropanol atau n-heksana. Pelarut ini mempunyai beberapa kelemahan antara lain, mudah terbakar, tidak ramah lingkungan dan membutuhkan ekstraksi lama. Trinovita melaporkan penggunaan ekstraksi cairan ionik untuk memperoleh senyawa tersebut (Trinovita, 2019).



Gambar 6.1 Anatomi buah padi (Esa et al, 2013)

Dedak adalah produk sampingan dari proses penggilingan biji-bijian yang diperoleh dari lapisan luar gabah, yang terdiri dari perikarp, testa, dan aleuron (Badan Standardisasi Nasional, 2013). Dedak terdiri dari lapisan dalam bulir beras, yaitu bagian kecil dari endosperm dan aleuron. Secara anatomi buah padi termasuk buah sejati tunggal kering yang hanya mengandung satu biji (Tjitrosoepomo, 2003). Pada bagian dalam kulit biji terdapat endosperm yang menutupi buah (mencakup 83% dari buah) dan mengandung pati dan protein. Lapisan terluar dari endosperma adalah lapisan sel yang mengandung alueron, yang berisi penyimpanan lipid dan protein. Lapisan aleuron mengelilingi endosperma yang berisi pati dan embrio (Hidayat, 1995). Aleuron termasuk salah satu bahan ergastik dan pemeriksaan mikroskopik aleuron terlihat

kristaloid serta globoloid (Katrin, *et al.*, 2010).

Dalam proses penggilingan beras, sekam adalah 1628%, dedak adalah 611%, dedak adalah 24%, dan endosperm sekitar 60%. Di Indonesia, proses penggilingan menghasilkan dedak pada proses penggilingan primer dan dedak pada proses penggilingan kedua (Astawan dan Leomitro, 2009).

6.2 Kandungan Kimia Dedak Padi

Ekstrak dedak padi adalah sejenis minyak dan lemak yang mengandung berbagai macam asam lemak dan senyawa biologis meliputi gamma-oryzanol, tokoferol, tokotrienol, fitosterol, polifenol, dan skualen (Goffman, *et al.*, 2003). Komposisi asam lemak dari ekstrak dedak padi, seperti yang disajikan pada Tabel 6.1 di bawah ini.

Tabel 6.1 Komposisi Asam Lemak Dari Ekstrak Dedak Padi
(Parado, *et al.*, 2006)

Asam lemak	Komposisi (%)
Asam miristat	0,21
Asam palmitat	16,4
Asam palmitoleat	0,13
Asam stearat	1,72
Asam oleat	42,4
Asam linoleat	36,4
Asam linolenat	0,8
Asam eikosanoat	0,6

6.3 Gamma-Oryzanol

Secara kimia gamma-oryzanol merupakan campuran alkohol *triterpene* dan fitosterol dengan ester asam ferulat. Gamma-oryzanol paling banyak terdapat di minyak dedak padi (Xu dan Godber, 1999). Kandungan gamma-oryzanol yang diperoleh tergantung pada metode ekstraksi, varietas padi, daerah tumbuhnya tanaman padi, dan musim (Sakunpak, *et al.*, 2014). Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa empat komponen utama dalam gamma-oryzanol meliputi

2,4 metilensikloartenilferulat (34-44%), sikloartenilferulat (19-26%), kamfesterilferulat (15-23 %) dan β -sitosterilferulat (7-17 %) (Goufo dan Trindade, 2014). Komponen gamma-oryzanol memiliki aktivitas antioksidan tertinggi adalah 24-metilen sikloartenil ferulat (Xu, *et al.*, 2001).

6.4 Mekanisme Gastroprotektif Gamma-Oryzanol

Aktivitas gastroprotektif dikaitkan dengan penurunan indeks ulkus lambung, penurunan keasaman lambung dan inflamasi yang disebabkan adanya penghambatan NF- κ B, penurunan sel neutrofil dan reduksi ROS melalui sifat antioksidannya. Selain itu, terjadinya tukak lambung juga ditandai dengan timbulnya inflamasi dengan pelepasan mediator inflamasi yang diatur oleh NF- κ B (Asmari, *et al.*, 2016). Kerusakan oksidatif lambung menyebabkan ketidakseimbangan faktor agresif dan defensif pada lambung sehingga terjadi pendarahan gastrik dan pembentukan lesi. Produksi ROS yang berlebihan merupakan salah satu faktor patogen utama yang secara langsung mengakibatkan kerusakan oksidatif, termasuk peroksidasi lipid, oksidasi protein, dan kerusakan DNA yang akhirnya menyebabkan kematian sel (Jeon, *et al.*, 2014)

Menurut penelitian sebelumnya melaporkan bahwa gamma-oryzanol memiliki aktivitas biologi berspektrum luas. Gamma-oryzanol mempunyai aktivitas sebagai antioksidan yang dapat mencegah kerusakan oksidatif karena adanya gugus hidroksi dan fenoksi dalam struktur asam ferulatnya sehingga dapat menetralkan ROS (reactive oxygen species) dengan menyumbangkan elektron (Juliano, *et al.*, 2005). Pembentukan radikal bebas dan ROS berperan penting dalam timbulnya lesi lambung. ROS diproduksi secara bertahap dalam keadaan fisiologis normal dan produksi ROS yang berlebih dapat dihambat oleh mekanisme pertahanan sebagai antioksidan. Dalam kondisi patologis, ROS diproduksi secara berlebihan, menyebabkan kerusakan oksidatif, yang menyebabkan peroksidasi lipid. Ketidakseimbangan antara ROS dan mekanisme pertahanan antioksidan menyebabkan modifikasi oksidatif membran sel atau molekul intraseluler (Kanter, *et al.*, 2005).

Stres oksidatif juga dapat menyebabkan terbentuknya peroksidasi lipid dan dilaporkan pada penelitian sebelumnya bahwa gamma-oryzanol dapat menekan peroksidasi lipid pada tikus (Minatel, et al., 2016). Oleh karena itu peran gamma-oryzanol sebagai antioksidan dapat menurunkan kerusakan mukosa lambung akibat etanol.

6.5 Penapisan Cairan Ionik dan Garam untuk Ekstraksi Gamma-Oryzanol

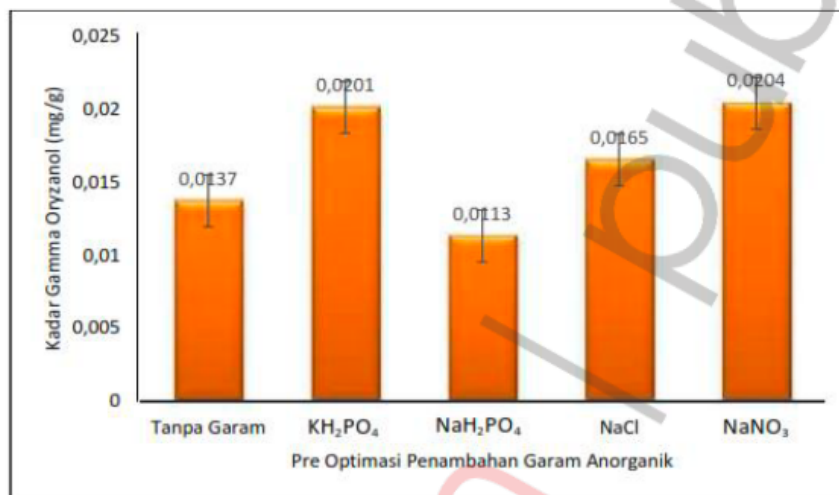
Dedak padi yang digunakan untuk bahan ekstraksi adalah varietas padi IR 64. Padi jenis ini banyak ditanaman di daerah Jawa barat. Selain itu jenis padi ini juga memperlihatkan peredaman radikal tertinggi pada DPPH dengan IC_{50} sebesar 350,64 ppm. g-oryzanol pada padi diduga bertanggung jawab terhadap efek antioksidan dalam menghambat stres oksidatif (Dede Sugiati, 2010).

Dalam upaya stabilisasi dedak padi untuk mencegah ketengikan dilakukan dalam oven 110°C selama 15 menit sebelum ekstraksi. Dedak padi mempunyai umur pendek karena kandungan asam lemak bebas. Tujuan stabilisasi adalah untuk mencegah kerja enzim peroksidase (enzim lipase) yang menyebabkan padi mudah tengik akibat terpapar udara dalam waktu lama (Thanonkaew, et al., 2012).

6.6 Optimasi Metode IL-MAE

Berdasarkan penelusuran literatur, belum ditemukan ekstraksi dedak padi dengan metode IL-MAE sehingga perlu dilakukan optimasi pada cairan ionik $[BMIM]BF_4$ dan $[BMIM]PF_6$ yang dapat menarik lebih banyak senyawa gamma-oryzanol. Hal ini juga dianalisis dengan bantuan metode RSM untuk menentukan kondisi optimum. Penambahan garam kosmotropik merupakan salah satu cara menarik senyawa target lebih banyak dari pelarut cairan ionik. $NaNO_3$, KH_2PO_4 , $NaCl$, dan NaH_2PO_4 merupakan beberapa jenis garam kosmotropik yang digunakan. Cairan ionik merupakan garam *chaotropic* (pendestruksi air). Interaksi antara garam kosmotropik dengan garam *chaotropic* akan menyebabkan terjadinya proses *salting out*. Proses *salting out* terjadi karena persaingan

antara garam dengan cairan ionik dalam mengikat air sehingga menyebabkan tertariknya molekul air untuk berikatan Hal ini bertujuan untuk memudahkan dalam proses penarikan kembali senyawa target dari cairan ionik dengan pelarut organik (Tan, *et al.*, 2011). Pada penelitian ini tidak dilakukan preoptimasi pada konsentrasi garam anorganik yang digunakan.



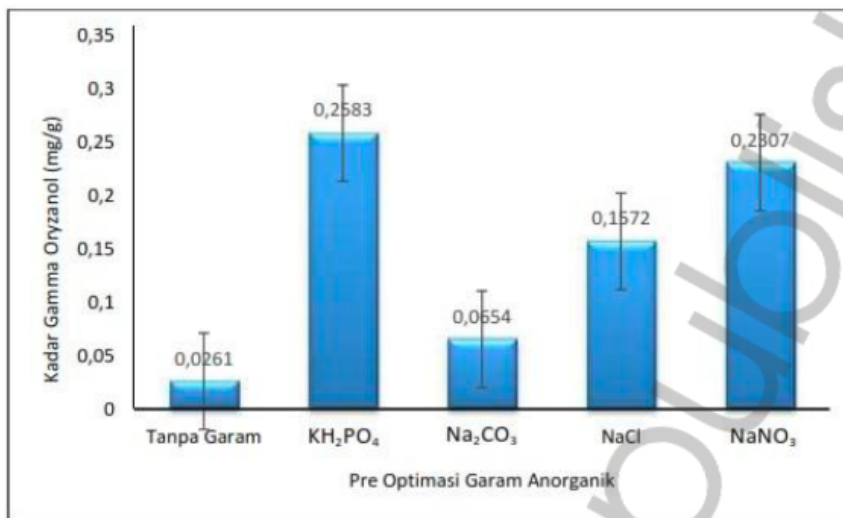
Gambar 6.2 Hasil PreOptimasi Garam Anorganik pada cairan ionik [BMIM]BF₄ (Elsa, 2019)

Pada Gambar 6.2 menunjukkan hasil pre optimasi garam anorganik cairan ionik [BMIM]BF₄ menunjukkan bahwa NaNO₃>KH₂PO₄>NaCl>NaH₂PO₄. Hal ini berarti bahwa penambahan garam NaNO₃ lebih efektif dibandingkan garam anorganik lainnya dalam memberikan kadar gamma-oryzanol tertinggi sebesar 0,0208 mg/g. Penambahan ion natrium meningkatkan viskositas sehingga menyebabkan penurunan konduktivitas ion (Chaban dan Danreeva, 2016). NaNO₃ yang ditambahkan pada cairan ionik [BMIM]BF₄ akan mengalami ionisasi di mana NO₃⁻ akan berikatan BF₄⁻ sehingga membentuk sistem ATP (*aqueous two phase*) akan meningkatkan hidrofilitas dan

meningkatkan kandungan senyawa target (Sampaio, *et al.*, 2016). Proses terbentuknya sistem *aqueous biphasic system* (ABS) atau sistem dua fase, di mana garam yang ditambahkan akan menarik cairan ionik sehingga dapat melepaskan ikatan dengan senyawa target dan memudahkan penarikan dengan pelarut organiknya (Tan, *et. al*, 2011).

Pengaruh penambahan garam menyebabkan adanya gangguan ikatan hidrogen antarmolekul. Oleh karena itu, selanjutnya akan melarutkan dinding sel dan melepaskan senyawa target. Menurut penelitian sebelumnya bahwa penambahan garam anorganik pada cairan ionik akan meningkatkan hasil ekstraksi, hal ini ditunjukkan dengan peningkatan kadar senyawa syringin dan oleuropein dengan penambahan garam litium pada cairan ionik [C₄MIM]Br dibandingkan dengan penggunaan [C₄MIM]Br saja (Zhao *et al.*, 2016).

Pada Gambar 6.3 menunjukkan hasil preoptimasi garam anorganik cairan ionik [BMIM]PF₆ bahwa KH₂PO₄>NaNO₃>NaCl>Na₂CO₃. Hal ini dapat disimpulkan bahwa penambahan garam KH₂PO₄ diperoleh kadar gamma-oryzanol tertinggi sebesar 0,26 mg/g. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan garam KH₂PO₄ dapat meningkatkan kadar gamma-oryzanol yang disebabkan oleh interaksi zat terlarut (ion garam anorganik dan cairan ionik) dan pelarut. Beberapa teori *salting out* yang paling umum melibatkan konsep garam pembentuk struktur (kosmotropik), di mana ketika garam dilarutkan dalam cairan ionik terjadi proses hidrasi ion di mana ion dikelilingi oleh lapisan molekul air, molekul air bergerak sehingga perannya sebagai pelarut untuk molekul atau ion lainnya berkurang. Penambahan garam anorganik ke cairan ionik menjadi "kompetitif" satu sama lain untuk molekul pelarut. Persaingan dimenangkan oleh ion anorganik karena ion anorganik memiliki afinitas dan migrasi molekul pelarut yang kuat untuk melepaskan diri dari ion cairan ionik dengan garam anorganik dengan mengurangi kekuatan hidrasi ion sehingga menyebabkan fase cairan ionik akan terpisah.



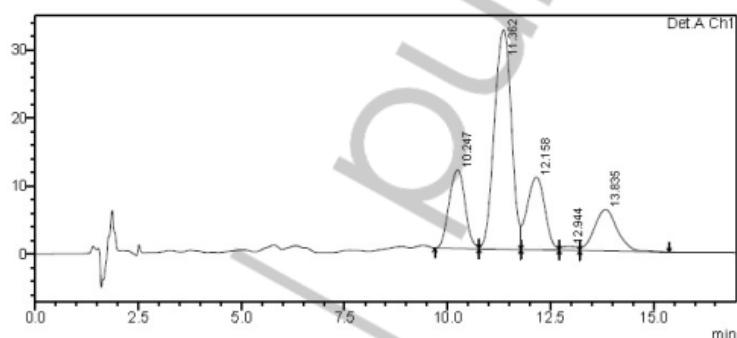
Gambar 6.3 Hasil Preoptimasi Garam Anorganik pada IL [BMIM]PF₆ (Elsa, 2019)

Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa efek *salting out* yang terkait dengan hidrasi daya ion yang berbeda dari garam anorganik (Trindade, *et al.*, 2007). Studi terbaru telah menunjukkan bahwa baik interaksi ion makromolekul langsung atau interaksi dengan molekul air di *shell* hidrasi pertama dari makromolekul yang mengatur efek Hofmeister serta pemisahan fase dalam sistem ATP (*aqueous two phase*) (Zhang dan Cremer, 2006). Metode penambahan garam anorganik dalam cairan ionik bertujuan untuk menarik senyawa target lebih banyak, tetapi kekurangannya garam anorganik yang dibutuhkan lebih banyak agar terjadi proses *salting out* dan kemungkinan masih ada senyawa gamma-oryzanol yang tertinggal.

6.7 Kondisi Optimum IL [BMIM]BF₄-MAE

Optimalisasi metode IL-MAE dilakukan oleh RSM, yang dapat memperkirakan interaksi antara faktor dan proses parameter (parameter independen) pada hasil perolehan senyawa target (parameter

dependen) (Ahmad, *et al.*, 2017). Analisis penetapan kadar gamma-oryzanol dilakukan dengan metode KCKT sesuai dengan prosedur yang telah ditentukan sebelumnya yaitu panjang gelombang 327 nm dan volume yang diinjeksikan adalah 20 μ L. Kadar tertinggi gamma-oryd zanol diperoleh sebesar 0,421 mg/g dengan kondisi ekstraksinya pada konsentrasi cairan ionik [BMIM]BF₄ 0,7 M, perbandingan rasio sampel /pelarut 1:15 (g/mL), waktu ekstraksi 10 menit dan daya MAE 10 % (Tabel 4.6).



Gambar 6.4 Kromatogram Percobaan Ekstraksi ke-1 IL [BMIM]BF₄-MAE (Elsa, 2019)

Pada Gambar 6.4 menunjukkan lima puncak gamma-oryzanol mulai dari kiri yaitu silkoartenil ferulat, 2,4-metilen sikloartenil ferulat, kamfesteril ferulat, 7-sitostenil ferulat, dan β sitosteril ferulat (Makynen, *et al.*, 2012). Berdasarkan penelusuran literatur belum ditemukannya ekstraksi dengan menggunakan pelarut cairan ionik dengan metode MAE. Menurut penelitian sebelumnya bahwa pelarut cairan ionik dapat meningkatkan kelarutan senyawa target karena adanya multi interaksi cairan ionik, terutama ionik dan ikatan hidrogen antara imidazolium sebagai kation dengan senyawa target tersebut. Cairan ionik dapat mengubah faktor disipasi larutan dan transfer energi dari gelombang energi *microwave* terhadap sampel sehingga mempengaruhi efisiensi ekstraksi dan kecepatan transfer energi sesuai pemanasan konduksi ionik (Danerson, *et al.*, 2002)

Pada percobaan ekstraksi ke-1 pada kondisi konsentrasi cairan ionik [BMIM]BF₄ 0,7 M, perbandingan rasio sampel /pelarut 1:15 (g/mL), waktu ekstraksi 10 menit dan daya MAE 10% menunjukkan perolehan gamma-oryzanol sebesar 0,421 mg/g dedak padi. Namun, pada percobaan ekstraksi ke-15 pada kondisi konsentrasi cairan ionik [BMIM]BF₄ 0,7 M, perbandingan rasio sampel/pelarut 1:15 (g/mL), waktu ekstraksi 15 menit dan daya MAE 50 % menunjukkan perolehan gamma-oryzanol sebesar 0,420 mg/g dedak padi dan menunjukkan hasil tidak terlalu signifikan dibandingkan percobaan ekstraksi ke-1. Kondisi ekstraksi yang sama antara percobaan ekstraksi ke-1 dan ke-15 terlihat pada konsentrasi IL dan rasio sampel/pelarut. Namun, perbedaan waktu ekstraksi dan daya *microwave* yang digunakan kemungkinan berperan dalam perolehan gamma-oryzanol yang tidak terlalu signifikan antar dua variasi perlakuan ekstraksi tersebut. Kombinasi antara waktu ekstraksi dan daya *microwave* merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi satu sama lain. Semakin tinggi daya gelombang mikro memberi hasil perolehan lebih tinggi. Kenaikan temperatur yang terlalu tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada matriks sampel dan juga dapat menyebabkan perubahan pada struktur senyawa yang ditargetkan (Ahmad, *et al.*, 2017). Dasar pertimbangan temperatur dan kestabilan cairan ionik serta kandungan senyawa target, maka daya gelombang sebesar 10 % pada waktu ekstraksi 15 menit dilihat cukup mampu mengekstrak dedak padi dalam perolehan gamma-oryzanol secara maksimal.

Pelarut cairan ionik [BMIM]BF₄ dengan anion BF₄⁻ bersifat hidrofilik dan mempunyai kelarutan yang baik dalam air (Xu, *et al.*, 2012). Oryzanol, di sisi lain, adalah senyawa yang tidak larut dalam air, sehingga dapat meningkatkan interaksi antara keduanya. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa cairan ionik dapat digunakan sebagai pelarut untuk ekstraksi produk alam karena adanya gugus fungsi kimia yang melekat, yang dapat meningkatkan interaksi antara analit dan pelarut (Ahmad, *et al.*, 2017). Cairan ionik yang larut air merupakan agen *chaotropic* sehingga dapat melemahkan efek

hidrofobik molekul senyawa yang ada di larutan, sehingga lebih mudah larut dan dapat mengganggu ikatan hidrogen molekul air dan akan menurunkan tegangan permukaan sehingga membran sel rusak (Tan, *et al.*, 2011). Hal ini menyebabkan pelarut menjadi lebih mudah berpenetrasi ke dalam sel untuk menarik senyawa gamma-oryzanol. Rantai alkil kation juga mempengaruhi proses ekstraksi menggunakan pelarut cairan ionik terhadap senyawa target, semakin panjang rantai alkil kemampuan mengekstraksi dapat meningkat, terutama untuk senyawa yang kelarutan di air tidak bagus atau hampir tidak terekstrak dengan air (Xu, *et al.*, 2015).

Cairan ionik dengan BF_4^- sebagai anion bersifat asam lemah (Cui, *et al.*, 2010). Menurut penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa pelarut cairan ionik $[\text{BMIM}]\text{BF}_4$ dapat menghasilkan kandungan polifenol tertinggi dibandingkan cairan ionik lainnya. Hal ini mungkin disebabkan kemampuan ekstraksi yang sangat terkait dengan hidrofobisitas cairan ionik (Tan, *et al.*, 2016).

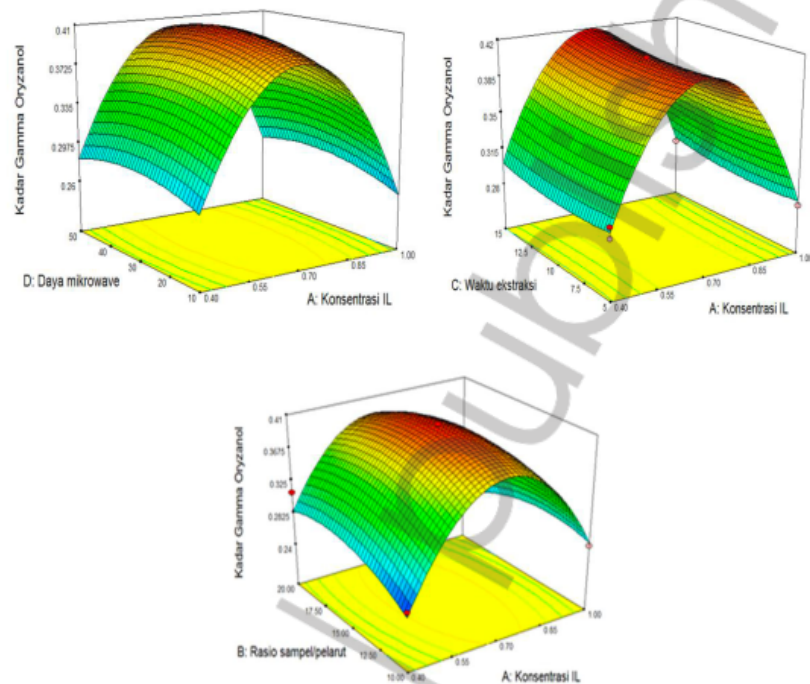
Pada penelitian tersebut dilakukan optimasi pada konsentrasi pelarut $[\text{BMIM}]\text{BF}_4$ meliputi konsentrasi 0,4 M, 0,7 M dan 1 M. Hasil yang diperoleh bahwa konsentrasi optimum pelarut $[\text{BMIM}]\text{BF}_4$ adalah 0,7 M. Konsentrasi yang semakin tinggi berhubungan dengan viskositas pelarut yang meningkat. Viskositas yang terlampau tinggi akan mempengaruhi transfer senyawa target dan menurunkan efisiensi ekstraksi (Xu, *et al.*, 2015). Efek konsentrasi cairan ionik terkait dengan tingkat viskositasnya sehingga menyebabkan sulitnya menembus kerusakan dinding sel dan juga berperan penting dalam mengurangi biaya operasional (Ahmad, *et al.*, 2017).

Rasio sampel/pelarut merupakan faktor lain yang mempengaruhi proses ekstraksi. Besarnya rasio sampel/pelarut cairan ionik dapat menyebabkan proses ekstraksi yang tidak efektif dan sedikitnya rasio sampel/pelarut cairan ionik juga dapat menyebabkan proses ekstraksi yang terjadi tidak sempurna (Ahmad, *et al.*, 2017). Rasio sampel/pelarut diperoleh 15 g/mL menunjukkan kondisi optimum dalam melarutkan simplisia dedak padi stabil dan ekstraksi maksimum untuk perolehan

gamma-oryzanol tertinggi. Volume pelarut yang digunakan untuk melarutkan seluruh matriks padat selalu terendam dalam pelarut selama 241 yinarian gelombang mikro. Semakin banyak pelarut yang digunakan, semakin banyak energi dan waktu yang dibutuhkan untuk memadatkan larutan ekstraksi dan proses pemurnian (Tatke dan Jaiswal, 2011). Pelarut harus cukup untuk merendam bahan selama proses ekstraksi untuk memaksimalkan penarikan senyawa. Jumlah pelarut yang terlalu banyak menyebabkan energi gelombang mikro tidak adekuat untuk memanaskan pelarut. Hal tersebut membuat pelarut tidak cukup panas untuk merusak dinding sel sehingga senyawa tidak dapat tertarik seluruhnya oleh pelarut keluar dari sel dan senyawa tidak terekstrak sempurna (Mandal, *et al.*, 2007).

Waktu ekstraksi yang singkat dan daya gelombang mikro yang tinggi dapat meningkatkan zat analit yang diperoleh (Camel, 2000). Waktu ekstraksi 15 menit merupakan kondisi optimum dalam mempengaruhi hasil ekstraksi. Kombinasi *output* rendah atau sedang dengan eksposur yang lebih lama akan menghasilkan hasil yang lebih baik. Waktu ekstraksi yang optimum pada penelitian ini adalah 15 menit. Semakin lama waktu ekstraksi, semakin lama waktu radiasi gelombang mikro, sehingga pelarut menyerap lebih banyak energi gelombang mikro. Namun, jika waktu pemaparan terlalu lama, analit dapat terdegradasi saat terkena panas energi gelombang mikro (Mandal, *et al.*, 2006).

Memilih daya gelombang mikro yang tepat untuk menghindari penumpukan panas yang ekstrim atau panas berlebih dapat merusak bahan yang ditargetkan (Mandal, *et al.*, 2007). Daya yang tinggi dapat menyebabkan energi yang dipancarkan juga menjadi tinggi sehingga suhu menjadi naik dan senyawa dapat terdegradasi oleh panas yang dihasilkan. Pada penelitian ini menggunakan daya gelombang mikro optimum sebesar 10%. Kemurnian ekstrak yang diperoleh pada daya yang lebih tinggi menurun. Ini karena, akibat daya listrik, suhu naik dan sel-sel lebih cepat rusak (Mandal, *at. al.*, 2007).



Gambar 6.5 Model Hubungan Respon Permukaan Tiga Dimensi IL [BMIM] BF4-MAE (Elsa, 2019)

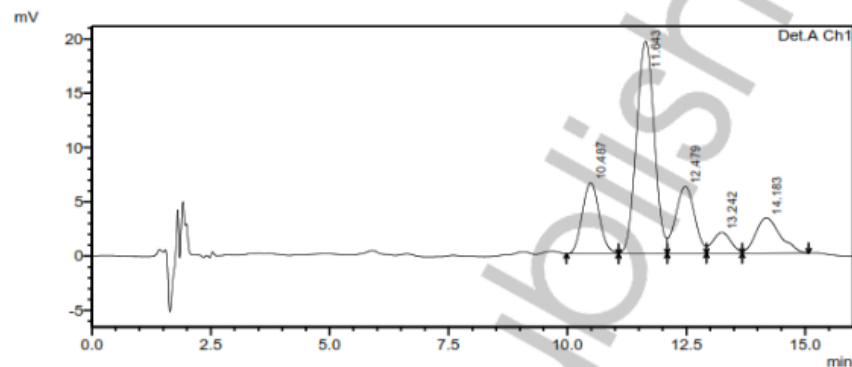
Area puncak menunjukkan kondisi optimumnya seperti yang terlihat pada Gambar 6.5, di mana saat faktor aktual waktu ekstraksi ditetapkan pada 15 menit dan daya *microwave* 10 % maka nilai respon meningkat pada konsentrasi cairan ionik 0,7 M dan rasio sampel/pelarut 15 g/mL. Nilai respons dapat menurun pada konsentrasi 0,4 M dan 1 M serta rasio sampel/pelarut 10 g/mL dan 20 g/mL. Gambar 6.5 (B) menunjukkan hubungan respon permukaan tiga dimensinya antara konsentrasi cairan ionik dan waktu ekstraksi terhadap perolehan kadar gamma-oryzanol. Respons meningkat pada konsentrasi cairan ionik 0,7 M dan mulai menurun pada konsentrasi 0,4 M dan 1 M. Gambar 6.5 (C) menunjukkan hubungan respons permukaan tiga dimensinya antara konsentrasi cairan ionik dan daya *microwave*. Konsentrasi cairan ionik juga memberikan pengaruh terhadap nilai kadar gamma-oryzanol

dengan menunjukkan kondisi optimum (ditunjukkan pada area panas pada konsentrasi 0,7 M. Daya gelembang mikro tidak menunjukkan adanya pengaruh terhadap peningkatan kadar gamma-oryzanol.

Permukaan respons tiga dimensi mempresentasikan garis-garis yang menunjukkan nilai ekspektasi y dari nilai minimum ke maksimum. Konsentrasi cairan ionik 0,7 M menunjukkan titik optimum. Faktor aktual waktu ekstraksi 10 menit dan daya *microwave* 30 % menunjukkan nilai respons yang meningkat pada konsentrasi 0,7 M dan rasio sampel/pelarut 15 g/mL. Gambar 6.5 (B) menunjukkan model permukaan tiga dimensi antara daya *microwave* dan konsentrasi cairan ionik terhadap peningkatan nilai respon (kadar gamma-oryzanol). Daya gelembang mikro 30 % dan konsentrasi cairan ionik 0,7 M menunjukkan kondisi optimum pada titik tengah kelengkungan gambar. Gambar 6.5 (C) menunjukkan permukaan respons tiga dimensi antara hubungan waktu ekstraksi dan konsentrasi cairan ionik. Semakin meningkatnya waktu ekstraksi maka semakin meningkatnya nilai respon (kadar gamma-oryzanol). Konsentrasi 0,7 M berada pada titik optimum dan semakin menurun pada konsentrasi 1 M.

6.8 Kondisi Optimum Cairan Ionik [BMIM]PF₆-MAE

Berdasarkan analisis ANOVA dengan RSM dalam menentukan optimasi cairan ionik [BMIM]PF₆-MAE disimpulkan bahwa nilai F-hitung dan nilai p-hitung masing-masing, yaitu 1,46 dan 0,27. Hal ini berarti bahwa model ini tidak signifikan dalam mempengaruhi optimisasi perolehan gamma-oryzanol dalam ekstrak dedak padi stabil. Gambar 5.6 menunjukkan kromatogram percobaan ekstraksi ke-5 yang menunjukkan kadar gamma-oryzanol tertinggi dengan kondisi ekstraksi optimum dengan konsentrasi 0,7 M, rasio sampel-pelarut 15 g/mL dengan daya *microwave* sebesar 30% selama 10 menit dan diperoleh kadar gamma-oryzanol sebesar 0,27 mg/g.



Gambar 6.6 Kromatogram Percobaan Ekstraksi ke-5 IL[BMIM]PF₆-MAE (Elsa, 2019)

Pada optimasi dengan menggunakan pelarut cairan ionik [BMIM]PF₆ diperoleh kadar gamma-oryzanol lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan pelarut cairan ionik [BMIM]BF₄. Hal ini disebabkan karena cairan ionik dengan anion PF₆⁻ mempunyai sifat hidrofobisitas dan hanya sedikit yang larut dalam air sehingga efisiensi ekstrak yang dihasilkan juga rendah (Xu, *et al.*, 2012). Cairan ionik [BMIM]PF₆ digunakan sebagai medium absorpsi gelombang mikro dari *microwave* dan diaplikasikan terhadap minyak esensial dari buah kering *Illicium verum* hook. F. dan *Cuminum cyminum* L. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa energi yang tidak bereaksi dengan senyawa dalam minyak esensial, di mana komponen utama dalam minyak esensial tersebut 1-metoksi-4-(1-propenil)-benzena dan p-alil-anisol yang mempunyai sifat sedikit larut dalam air (Zhai, *et al.*, 2009).

Daftar Pustaka

- 31 Abdulla, M.A., Ahmed, K.A., Al-bayaty, F.H., Masood, Y. Gastroprotective effect of *Phyllanthus niruri* leaf extract against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* 2010, 4, 226–230.
- 98 Bergman, C.J., Xu, Z. Genotype and environment effects on Tocopherol, Tocotrienol, and gamma oryzanol Contents of Southern U.S. *Cereal Chem.* 2003, 80, 446–449.

- Boligon, A.A., Freitas, R.B.D., Bruma, T.F.D., Waczuk, E.F., Klimaczewskic, C.V., Avilac, D.S.D., Athaydea, M.L., Bauermann, L.D.F. Antiulcerogenic activity of *Scutia buxifolia* on gastric ulcers induced by ethanol in rats. *Acta Pharm. Sin. B* 2014, 4, 358–367.
- Espino, M., Fernandez, M., Gomez, F.J.V., Silva, M.F. Natural designer solvents for greening analytical chemistry. *Trends Anal. Chem.* 2016, 76, 126–136.
- Islam, M.S., Murata, T., Fujisawa, M., Nagasaka, R., Ushio, H., Bari, A.M., Hori, M., Ozaki, H. Anti-inflammatory effects of phytosteryl ferulates in colitis induced by dextran sulphate sodium in mice. *Br. J. Pharmacol.* 2008, 154, 812–824.
- Islam, S., Nagasaka, R., Ohara, K., Hosoya, T., Ozaki, H., Ushio, H., Hori, M. Biological abilities of rice bran-derived antioxidant phytochemicals for medical therapy. *Curr. Top. Med. Chem.* 2011, 11, 1847–1853.
- Garcia, M.J.L., Martínez, J.M.H., Alfonso, E.F.S., Mendonca, C.R.B., Ramos, G.R. Composition, industrial processing, and applications of rice bran gamma-oryzanol. *Food Chem.* 2009, 115, 389–404.
- Gonzalez, F.G., Portela, T.Y., Di Stasi, L.C. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. *J. Ethnopharmacol.* 2001, 77, 41–47.
- Goufo, P., Trindade, H. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, gamma-oryzanol, and phytic acid. *Food Sci. Nutr.* 2014, 2, 75–104.
- Hoshino, T., Tsutsumi, S., Tomisato, W., Hwang, H.J., Tsuchiya, T., Mizushima, T. Prostaglandin E2 protects gastric mucosal cells from apoptosis via EP2 and EP4 receptor activation. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 12752–12758.
- Huie, C.W. A review of modern sample-preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Anal. Bioanal. Chem.* 2002, 373, 23–30.

- 60 Juliano, C., Cossu, M., Alamanni, M.C., Piu, L. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: Mechanism of action dan its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. *Int. J. Pharm.* 2005, 299, 146–154.
- 31 Kanter, M., Demir, H., Karakaya, C., Ozbek, H. Gastroprotective activity of *Nigella sativa* L. oil and its constituent, thymoquinone against acute alcohol-induced gastric mucosal injury in rats. *World J. Gastroenterol.* 2005, 11, 6662–6666.
- Katary, M.A., Salahuddin, A. Gastroprotective Effect of Punicalagin against Ethanol-Induced Gastric Ulcer: The Possible Underlying Mechanisms. *Biomarkers* 2017, 3, 1–8.
- Klein-Junior, L.C., Mota da Silva, L., Boeing, T., Bordignon, S.L., Beber, A.P., Rocha, A.R.J., Henriques, T.A., Andrade, F.S., Filho, C.V. The protective potential of *Phyllanthus niruri* and Corilagin on gastric lesions induced in rodents by different harmful agent. *Planta Med.* 2017, 83, 30–39.
- 122 Makynen, K., Chitchumroonchokchai, C., Adisakwattana, S., Failla, M.L., Tipayanate, A. Effect of gamma-oryzanol on the bioaccessibility and synthesis of cholesterol. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2012, 16, 49–56.
- Minatel, I.O., Francisqueti, F.V., Correa, C.R., Pace, G., Lima, P. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: A complex network of interactions. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17, 1107.
- 8 Nagasaka, R., Chotimarkorn, C., Shafiqul, I., Hori, M., Ozaki, H., Ushio, H. Anti-inflammatory effects of hydroxycinnamic acid derivatives. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007, 358, 615–619.
- 42 Patel, M. Naik, S.N. Gamma oryzanol from rice bran oil – A review. *J. Sci. Ind. Res.* 2004, 63, 569–578.
- 35 Price, S.A.; Wilson, L.M. Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit; Terj dari Pathophysiology: Clinical Concepts of Disease Processes, oleh Pendit Bu, Hartanto, Ed 6. 1.; EGC: Jakarta, Indonesia, 2005; pp. 377–383.

111

Raji, Y., Oguwande, I.A., Osadebe, C.A., John, G. Effect of *Azadirachta indica* extract on gastric ulceration and acid secretion in rats. *J. Ethnopharmacol.* 2004, 90, 167–170.

2

Roschek, B., Fink, R.C., Li, D., McMichael, M., Tower, C.M., Smith, R.D., Alberte, R.S. Pro-inflammatory enzymes, cyclooxygenase 1, cyclooxygenase 2, and 5-lipoxygenase, inhibited by stabilized rice bran extracts. *J. Med. Food* 2009, 12, 615–623.

Saputri, F.C., Mun'im, A., Sari, S.P. Gastroprotective activity of combination of turmeric (*Curcuma domestica* Linn.) rhizome extracts and Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Bark. *Jurnal Bahan Alam Indonesia* 2009, 7,44–46.

Spechler, S.J. Peptic ulcer disease and its complication. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. In Pathophysiology/Diagnosis/Management, 7th ed.; Feldman, M., Friedman, L.S., Sleisenger, M.H.,Eds.; Saunders: Philadelphia, PA, USA, 2002; p. 715.

137

Song, D.U., Jang, M.S., Kim, H.W., Yoon, H.J., Chay, K.O., Joo, Y.E. Gastroprotective effects of glutinous rice extract against ethanol, indomethacin and stress-induced ulcers in rats. *Chonnam Med. J.* 2014, 50, 6–14.

Sowndhararajan, K., Chin, N.L. Antioxidant and anti-ulcer effects of ethyl acetate fraction of *Merremia Tridentata* (L.) Hallier F. Root. *Agric. Agric. Sci. Procedia* 2014, 2, 406–414.

Sowndhararajan, K., Paul, S., Kwon, G.S., Hwang, C.W., Kang, S.C. Protective effect of polyamine extract of salt-stressed and sprouted soybean seeds against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Biotechnology* 2014, 23, 711–716.

34

Srikanta, B.M., Siddaraju, M.N., Dharmesh, S.M. A novel phenol-bound pectic polysaccharide from *Decalepis hamiltonii* with multi-step ulcer preventive activity. *World J. Gastroenterol.* 2007, 13, 5196–5207.

206

Suzuki, Y., Hayashi, M., Ito, M., Yamagami, I. Antiulcer effects of 40-(2-carboxyethyl) phenyl trans-4-aminomethyl cyclohexane carboxylate hydrochloride (Cetraxate) on various experimental gastric ulcers in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 1976, 26, 471–480.

203

Takeuchi, T., Miura, S., Uehara, K., Mizumori, M., Kishikawa, H., Hokari, R., Higuchi, H., Adachi, M., Nakamizo, H., Ishii, H. Nuclear factor- κ B and TNF-Mediate gastric ulceration induced by phorbol myristate acetate. *Dig. Dis. Sci.* 2002, 47, 2070–2078.

Trinovita, T. Aplikasi metode cairan ionic-microwave assisted extraction (MAE) dalam meningkatkan g-oryzanol pada ekstrak dedak padi dan evaluasi efektivitas sebagai gastroprotektif. Tesis S2 Program Studi Magister Herbal, 2018.

Trinovita, E., Sutriyo, Saputri F.C., Mun'im, A. Enrichment of the gamma oryzanol level from rice bran by addition of inorganic salts on ionic liquid 1-Butyl-3-methylimidazoliumhexafluorophosphate ([BMIM]PF₆) extraction. *J Young Pharm*, 2017;9(4):555-558.

Trinovita, E., Sigalingging, E., Saputri, F.C., Mun'im, A. Optimization of ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazoliumhexafluorophosphate ([BMIM]PF₆)-based microwave assisted extraction method for gamma oryzanol from rice bran (*Oryza sativa* L.). *J Appl Pharm Sci*, 2017;7(12):008-01

199

Trinovita, E., Saputri, F.C., Mun'im A. Potential gastroprotective activity of rice bran (*Oryza sativa* L.) extracted by ionic liquid-microwave assisted extraction against ethanol-induced acute gastric ulcers in rat mode. *Scientia Pharmaceut*, 86(3):35, 2018.

194

Vakil, N., Fennerty, M.B. Systematic review: Direct comparative trials of the efficacy of proton pump inhibitors in the management of gastro-oesophageal reflux disease and peptic ulcer disease. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2003, 18, 559–568.

75

Xu, J., Wang, W., Liang, H., Zhang, Q., Li, Q. Optimization of ionic liquid based ultrasonic assisted extraction of antioxidant compounds from *Curcuma longa* L. using response surface methodology. *Ind. Crops Prod.* 2015, 276, 487–493.

188

Xu, Z., Hua, N., Godber, J.S. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and gamma-oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 2077–2081.

Yang, Y., Yin, B., Lv, L., Wang, Z., He, J., Chen, Z., Wen, X., Zhang, Y., Sun, W., Li, Y., et al. Gastroprotective effect of aucubin against ethanol-induced gastric mucosal injury in mice. *Life Sci.* 2017, 189, 44–51.

164

Zakaria, Z.A., Balan, T., Azemi, A.K., Omar, M.H., Mohtarrudin, N., Ahmad, Z., Abdullah, M.N.H., Nasir, M., Desa, M., Teh, L.K., et al. Mechanism(s) of action underlying the gastroprotective effect of ethyl acetate fraction obtained from the crude methanolic leaves extract of *Muntingia calabura*. *BMC Complement. Altern. Med.* 2016, 16, 78.

8

Zullaikah, S., Melwita, E.; Jui, Y.H. Isolation of oryzanol from crude rice bran oil. *Bioresour. Technol.* 2009, 100, 299–302.

APLIKASI CAIRAN IONIK PADA EKSTRAKSI BRAZILIN DARI KAYU SECANG

7.1 Latar Belakang

Secang (*Caesalpinia sappan*) merupakan tanaman obat tradisional yang mudah tumbuh dan ditemukan di Indonesia. Tanaman ini telah lama digunakan sebagai agen pewarna (Arsiningtyas, 2014), untuk perawatan kulit (terutama di Pulau Sumbawa), dan kayunya dimanfaatkan sebagai pewarna dalam Bir Pletok (minuman khas kota Jakarta) (Batubara, *et al.*, 2016), serta digunakan sebagai salah satu bahan dalam jamu untuk pengobatan diabetes (Indariani, *et al.*, 2014).

Penelitian kami sebelumnya meakukan penapisan terhadap sepuluh tanaman obat tradisional yang diujikan aktivitas penghambatan DPP-IV. Ekstrak kayu secang memiliki aktivitas penghambatan DPP-IV yang terbaik dibandingkan dengan ekstrak tanaman lainnya, dan nilai aktivitas penghambatannya setara dengan sitagliptin.



Gambar 7.1 Simplisia kayu secang (kiri), Serbu kayu secang (kanan) (Erwi, 2019)

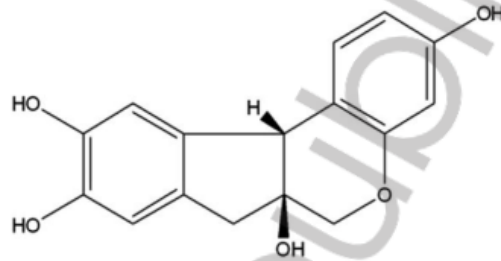
Kayu secang diketahui mengandung brazilin merupakan senyawa utama. Uji penghambatan DPPIV oleh larutan standar brazilin menunjukkan adanya aktivitas penghambatan yang signifikan. Brazilin merupakan komponen utama dalam secang (Lioe, *et al.*, 2012). Brazilin merupakan senyawa alami yang aman dan memilikipotensi untuk dikembangkan sebagai senyawa obat. Aktivitas brazilin yang telah tervalidasi di antaranya adalah antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antidiabetes, dan hepatoprotektor (Nirmal, *at. al.*, 2015).

Kayu secang diketahui memiliki berbagai kandungan senyawa kimia, antara lain fenolik, termasuk xanthon, kumarin, kalkon, flavon, homoisoflavonoid, dan brazilin (Nirmal, *et al.*, 2015). Dari kandungan kimia tersebut yang paling dominan adalah brazilin, seperti disebutkan sebelumnya. Senyawa ini yang memberikan warna merah pada kayu secang. Pigmen ini memiliki warna merah cerah yang tajam pada pH netral (pH = 6-7) dan berubah menjadi warna merah keunguan dengan meningkatnya pH. Pada pH rendah (pH = 2-5), brasilin berwarna kuning (Fardhyanti dan Riski, 2016).

7.2 Khasiat Kayu Secang

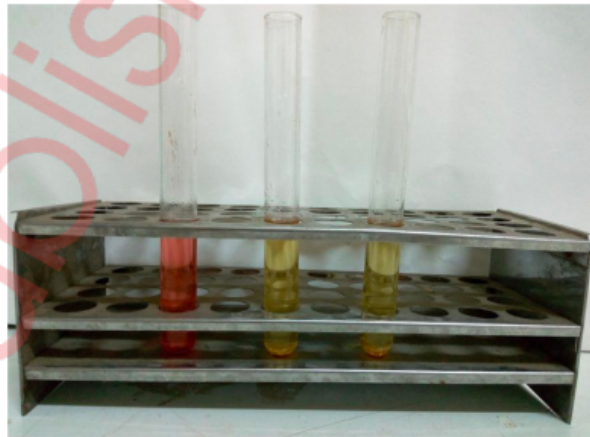
Kayu secang telah lama sebagai bahan makanan dan obat tradisional. Penggunaannya dalam bahan makanan adalah sebagai pewarna merah. Misalnya, minuman Bir Pletok. Penggunaan sebagai obat tradisional, kayu secang juga dimanfaatkan untuk mengobati

tuberkulosis, diare, disentri, infeksi kulit, dan anemia (Nirmal, *et al.*, 2015). Efek antidiabetes kayu secang dilakukan oleh Pasaribu dan Basri (2014). Pada pemberian ekstrak 30mg/kg BB tidak berbeda dengan kontrol positif, menggunakan hewan coba.



Gambar 7.2 Struktur kimia brazilline

Pada penelitian awal untuk pencarian pelarut ionik terbaik untuk ekstraksi kayu secang digunakan tiga jenis pelarut hidrofilik yaitu (BMIM)Br, (BMIM)BF₄, (BMIM)BF₆. Dari ketiga pelarut ini dipilih memilih jenis pelarut cairan ionik yang sesuai dan memiliki efisiensi yang lebih baik dalam mengekstraksi senyawa aktif secang dalam hal sebagai *biomarker* adalah brazilline. Pemilihan pelarut dilakukan secara kualitatif dengan menggunakan standar brazilline 100 ppm (Erwi, *et al.*, 2019).



Gambar 7.3 Hasil uji pelarutan brazilline dalam larutan cairan ionik (a) [BMIM] Br, (b) [BMIM]BF₄, (c) [BMIM]BF₆ (Erwi, 2019)

Penapisan awal dan sederhana dapat dilakukan secara visual dengan melarutkan senyawa brazilin dalam pelarut cairan ionik. Warna paling pekat menunjukkan bahwa pelarut tersebut dapat melarutkan secara baik (Gambar 7.3). Selain itu dapat dilakukan dengan penetapan kadar senyawa brazilin dalam larutan cairan ionik menggunakan spektrofotometer. Warna standar brazilin pada pelarut (BMIM)Br lebih pekat dibandingkan pelarut lainnya, hal ini menunjukkan bahwa brazilin yang terlarut dalam [BMIM]Br lebih tinggi. Rantai alkil pada kation pelarut cairan ionik diketahui berpengaruh terhadap polaritas pelarut dan berpengaruh pada kemampuan ekstraksi suatu senyawa, dengan perpanjangan rantai alkil, kemampuan mengekstraksi senyawa target nonpolar semakin meningkat (Xu, *et al.*, 2015)

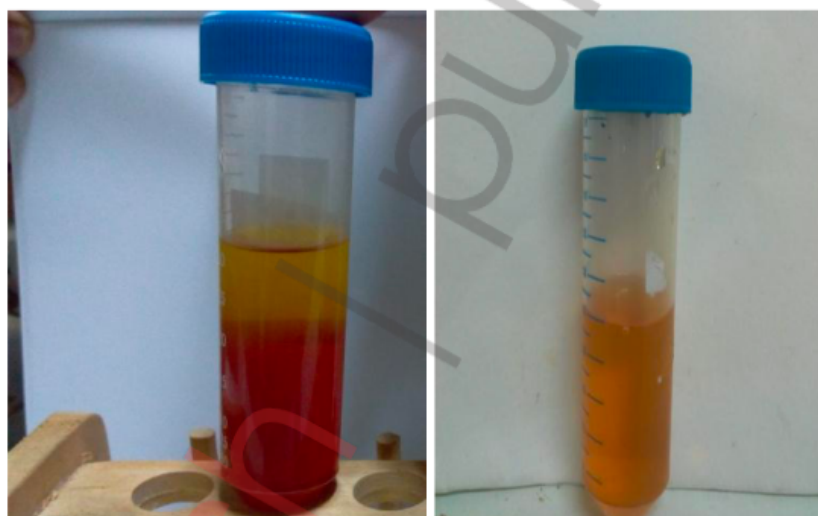
Bagian Kation dari pelarut cairan ionik (BMIM)Br, (BMIM)BF₄, (BMIM)BF₆ adalah 1-butyl-3-metimidazolium memiliki efek terhadap ekstraksi brazilin. Hal tersebut terjadi karena terbentuknya ikatan ion dan ikatan hidrogen antara kation imidazolium dengan brazilin. Terbentuknya ikatan tersebut dapat meningkatkan kelarutan brazilin pada pelarut (Xia, *et al.*, 2017).

7.3 Penarikan Senyawa Target dari Pelarut Cairan Ionik

Proses lanjutan setelah dilakukan ekstraksi cairan ionik, adalah menarik senyawa-senyawa hasil ekstraksi dari cairan ionik menggunakan metode partisi. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dari pelarut ioniknya dengan penambahan pelarut organik. Syarat pelarut harus tidak bercampur dengan cairan ionik dan harus memiliki polaritas mendekati polaritas senyawa target. Brazilin merupakan senyawa target yang bersifat hidrofobik, dengan demikian akan lebih mudah larut dalam pelarut organik hidrofilik.

Pelarut cairan ionik memiliki sifat tidak mudah menguap, dengan demikian diperlukan pelarut organik untuk menarik senyawa target yang mudah menguap, agar mempermudah proses *recovery*. Pelarut tersebut antara lain: diklorometana, kloroform, n-butanol, isoamil alkohol, dietil eter, petroleum eter, etil asetat, dan n-heksana

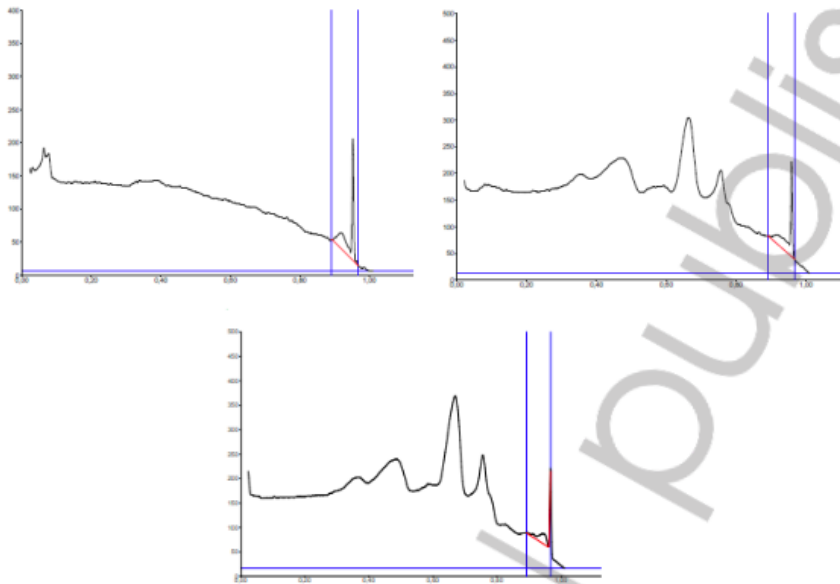
(Mai, et. al., 2014). Etil asetat dipilih untuk memisahkan pelarut cairan ionik memiliki polaritas mendekati polaritas senyawa target sehingga diharapkan memiliki efisiensi yang paling tinggi dibandingkan pelarut organik lainnya untuk mengekstraksi kembali senyawa fenolik. Etil asetat dapat berinteraksi melalui ikatan hidrogen dengan senyawa fenolik dan molekul air sehingga senyawa target akan tertarik kedalam fase pelarut organik dibandingkan cairan ionik (Tan, et al., 2016). Penarikan senyawa target dari cairan menggunakan etil asetat.



Gambar 7.4 Penarikan senyawa target ekstrak kayu secang dari cairan ionik menggunakan etil asetat (Erwi, 2019)

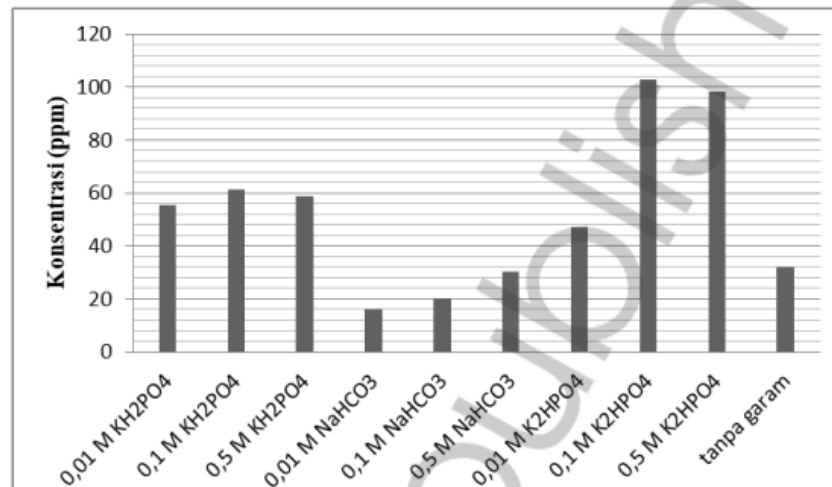
Salah satu metode untuk meningkatkan efisiensi penarikan senyawa target dari cairan ionik adalah dengan penambahan garam. Interaksi antara cairan ionik dan garam akan terjadi proses *salting out*. Proses *salting out* terjadi karena persaingan antara garam dengan *ionic liquid* untuk mengikat air. Garam yang ditambahkan menyebabkan tertariknya molekul air untuk berikatan. Selain itu, juga membantu mengendapkan senyawa lain yang tidak diinginkan. Dengan demikian proses pemisahan lebih mudah dan akan diperoleh kandungan senyawa lebih tinggi pada hasil akhir (Tan, et al., 2012). Kandungan brazilin pada

ekstrak ditetapkan kadarnya menggunakan metode KLT densitometri.



Gambar 7.5 Densitogram Spektrum standar brazilin (a), sampel (0,1 M K₂H-PO₄) (b), dan sampel tanpa penambahan garam (c)

Hasil optimasi penarikan brazilin dari cairan ionik diperoleh bahwa 0,1 M K₂HPO₄ merupakan garam terbaik berdasarkan kadar senyawa pada pengujian densitometri. Penambahan garam menyebabkan adanya gangguan ikatan hidrogen antar molekul. Keberhasilan dari partisi juga dapat dilihat dari rendemen ekstrak. Gambar di bawah ini memperlihatkan efek penambahan berbagai jenis garam terhadap kadar brazilin dalam ekstrak.



Gambar 7.6 Pengaruh penambahan beberapa jenis garam pada beberapa konsentrasi terhadap konsentrasi brazilin (Erwi, 2019)

7.4 Optimasi Ekstraksi

Proses selanjutnya setelah diperoleh jenis pelarut cairan ionik yang terbaik dan garam untuk *salting out* adalah optimasi kondisi ekstraksi. Untuk mempermudah optimasi dapat digunakan berbagai software, salah satunya adalah RSM (*Response surface methodology*). Proses ekstrak juga umumnya lebih berhasil dengan penambahan salad bantu, seperti *microwave-assisted extraction* (MAE). Parameter kondisi ekstraksi yang sering diteliti adalah rasio *solid/liquid*, konsentrasi cairan ionik, waktu ekstraksi, dan power gelombang mikro.

Kadar brazilin yang lebih besar pada ekstraksi dengan menggunakan metode IL-MAE dapat disebabkan karena cairan ionik dapat meningkatkan kelarutan senyawa target karena adanya multi interaksi cairan ionik, terutama ionik dan ikatan hidrogen antara imidazolium sebagai kation dengan senyawa target tersebut. Cairan ionik dapat mengubah faktor dispersi larutan dan transfer energi dari gelombang energi *microwave* terhadap sampel sehingga mempengaruhi efisiensi ekstraksi dan kecepatan transfer energi sesuai pemanasan konduksi ionik (Danerson, *et al.*, 2002).

1
Tabel 7.1 Desain Eksperimental menggunakan RSM dengan
Box Behnken Design

Run	Variabel Kondisi Ekstraksi			Respons		
	Konsentrasi [BMIM]Br	Rasio solid/ liquid	Waktu Ekstraksi	Rendemen	Kadar Brazilin	Aktivitas Inhibisi
	mol/L	g/mL	menit	%	Mg/g	%
1	1,0	1:10	9	0,59	848,64	95,9
2	1,5	1:10	7	0,29	889,77	94,55
3	1,0	1:15	7	0,8	809,37	95,08
4	0,5	1:10	7	0,1	866,52	92,8
5	1,5	1:20	7	0,3	805,28	93,56
6	1,0	1:15	7	0,3	810,8	95,9
7	1,0	1:15	7	0,29	814,11	96,24
8	1,0	1:10	5	0,59	944,79	96,47
9	1,0	1:15	7	0,3	817,27	95,99
10	1,0	1:20	5	0,7	906,37	95,73
11	0,5	1:20	7	0,1	814,14	95,79
12	1,5	1:15	9	0,59	809,84	96,34
13	0,5	1:15	5	0,8	047,46	97,16
14	1,0	1:20	9	0,9	948,12	98,75
15	1,5	1:15	5	0,1	807,56	93,83
16	1,0	1:15	7	0,29	825,22	96,57
17	0,5	1:15	9	0,79	893,33	96,11

239

Cairan ionik dapat digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi bahan alam karena karakteristik cairan ionik yang mempunyai gugus kimia fungsional yang unik sehingga dapat meningkatkan interaksi antara analit dan pelarut (Ahmad, *et al.*, 2017). Cairan ionik yang larut air merupakan agen *chaotropic* sehingga dapat melemahkan efek hidrofobik molekul senyawa yang ada di larutan sehingga lebih mudah larut dan dapat mengganggu ikatan hidrogen molekul air dan akan menurunkan tegangan permukaan sehingga membran sel rusak (Tan, *et al.*, 2011). Hal ini menyebabkan pelarut menjadi lebih mudah berpenetrasi ke dalam sel untuk menarik senyawa brazilin. Rantai alkil kation

juga mempengaruhi proses ekstraksi menggunakan pelarut cairan ionik terhadap senyawa target, semakin panjang rantai alkil kemampuan mengekstraksi dapat meningkat, terutama untuk senyawa yang kelarutan di air tidak bagus atau hampir tidak terekstrak dengan air (Xu, *et al.*, 2015).

Hasil optimasi dari kondisi ekstraksi cairan ionik-MAE memperlihatkan efek rasio makin besar jumlah pelarut makin tinggi jumlah senyawa tertarik. Demikian juga waktu ekstraksi makin lama jumlah brazilin makin tinggi, harus diingat brazilin tidak stabil terhadap cahaya dan panas. Kondisi optimum untuk ekstraksi brazilin dengan menggunakan metode IL-MAE adalah pada konsentrasi cairan ionik (BMIM)Br 1 mol/L, rasio solid liquid 1:20 (g/mL), dan waktu ekstraksi 9 menit.

Hasil respons rendemen ekstrak dengan metode ekstraksi IL-MAE berkisar antara 0,1–0,9%, sedangkan rendemen hasil ekstraksi dengan metode konvensional sebesar 18,29-21,7% (Nirmal, *et al.*, 2015). Perbedaan hasil rendemen antara metode ekstraksi konvensional dan metode ekstraksi IL-MAE disebabkan karena penarikan senyawa target yang belum optimal pada ekstraksi IL-MAE dan dimungkinkan masih ada senyawa yang tertinggal dalam pelarut cairan ionik.

7.5 Aktivitas Penghambatan Enzim DPP-IV

Kayu secang sudah dikenal memiliki aktivitas antidiabetes. Pada penelitian kami sebelumnya ekstrak kayu secang juga memperlihatkan efek penghambatan DPP-IV paling kuat dibandingkan ekstrak tanaman lain yang biasa digunakan untuk mengontrol kadar gula darah (Erwi, *et al.*, 2019). Hasil pengujian ekstrak IL-MAE kayu secang untuk penghambatan DPP-IV dapat dilihat pada Tabel 7.1. Dari data ini setelah dianalisis tidak terdapat hubungan kuat antar respons. Artinya, dapat pada penelitian ini tidak ada hubungan antar rendemen, kadar brazilin, dan aktivitas penghambatan DPP-IV.

Tabel 7.1 Hasil uji persentase penghambatan enzim DPP-IV dan nilai IC₅₀
(Erwi, *et al.*, 2019)

Inhibitor	Konsentrasi (ppm)	Persentase penghambatan (%)	Nilai IC ₅₀ (ug/mL)
Sitagliptin	100	90,09	9,37
	80	74,51	
	40	60,21	
	20	48,29	
	10	44,25	
	5	40,36	
Brazilin Standar	100	84,55	11,7
	50	67,68	
	25	65,23	
	12,5	50,32	
	6,25	44,45	
	3,25	26,18	
Sampel	100	93,14	16,35
	50	72,44	
	25	52,84	
	12,5	34,59	
	6,25	30,77	
	3,25	25,46	
Sampel (hasil eliminasi tanin)	100	83,26	22,15
	50	70,05	
	25	51,70	
	12,5	29,56	
	6,25	24,54	
	3,25	12,22	

Daftar Pustaka

- 12 Ahmad I, Arifianti AE, Sakti AS, Saputri FC, Mun'im A. Simultaneous natural deep eutectic solvent-based compounds of cinnamon Bark and sappan wood as a dipeptidyl peptidase IV inhibitor. *Molecules*, 2020a; 25(17): 3832-43.
- Ahmad I, Elya B, Ismail YI, Noviani A, Kuncoro H, Maryono M, Ambarwati NSS. Design of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of flavonoids from *Cyclea barbata* Miers. and its lipoxygenase inhibitory activity. *J Appl Pharm Sci*, 2020b; 10(4): 1-7.
- Ahmad, I., Setyaningsih, E.P., Arifianti, A.E., Saputri F.C., Mun'im, A. Optimization of ionic liquid-based microwave-assisted extraction on brazilin levels from sappan wood and its dipeptidyl peptidase IV inhibition activity. *J Appl Pharmaceutic Scie*, 2021; 11(07):072–079
- Ahmad I, Yanuar A, Mulia K, Mun'im A. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction: fast and green extraction method of secondary metabolites on medicinal plant. *Pharmacogn Rev*, 2018; 12(23):20–6.
- 75 Ahmad I, Yanuar A, Mulia K, Mun'im A. Optimization of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of polyphenolic content from *Peperomia pellucida* (L) Kunth using response surface methodology. *Asian Pac J Trop Biomed*, 2017; 7(7):660–5.
- 22 Anderson JL, Ding J, Welton T, Armstrong DW. Characterizing ionic liquids on the basis of multiple solvation interactions. *J Am Chem Soc*, 2002; 26:14247–54.
- Ayuningtyas I, Rahmawati M, Mun'im A. Optimization of ionic liquid-based microwave assisted extraction to obtain transresveratrol from *Gnetum gnemon*. *J Young Pharm*, 2017; 9(4):457–62.
- 252 Badami S, Geetha B, Sharma SV, Rajan S. Microwave-assisted rapid extraction of red dye from *Caesalpinia sappan* heartwood. *Nat Prod Res*, 2014; 21:37–41.

- Ballard TS, ⁵⁰ Mallikarjuna P, Zhou K, Keefe SO. Microwave- assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chem*, 2010; 120(4):1185–92.
- Chen F, Hou K, Li S, Zu Y, Yang L. Extraction and chromatographic determination of shikimic acid in Chinese conifer needles with 1-benzyl-3-methylimidazolium bromide ionic liquid aqueous solutions. *J Anal Methods Chem*, 2014; 2014:256473.
- Chen F, Zhang Q, Mo K, Fei S, Gu H, Yang L. ⁷⁵ Optimization of ionic liquid-based homogenate extraction of orientin and vitexin from the flowers of *Trollius chinensis* and its application on a pilot scale. *Sep Purif Technol*. 2017; 175:147–57.
- Du F, Xiao X, Li G. ²³ Application of ionic liquids in the microwave- assisted extraction of transresveratrol from *Rhizma Polygoni Cuspidati*. *J Chromatogr A*, 2007; 1140:56–62.
- Du F, Xiao X, Luo X, Li G. ⁷ Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds from medicinal plants. *Talanta*, 2009; 78:1177–84.
- Erwi Putri Setyaningsih, 2019. Aplikasi Metode Ekstraksi Ionic liquid – MAE untuk Meningkatkan Kadar Brazilin dari Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* Linn) dan Uji Efektivitas Antidiabetes Melalui Mekanisme Penghambatan DPP-IV. Thesis Magister Herbal, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia.
- Espino M, de los Angeles Fernandez M, Gomes FJV, Silva MF. ⁵⁹ Natural designer solvents for greening analytical chemistry. *TrAC Trends Anal Chem*, 2016; 76:126–36.
- Fadhila M, Mun'im A, Jufri M. Ionic liquid-based microwave- assisted extraction (IL-MAE) of oxyresveratrol from *Morus alba* roots. *J Appl Pharm Sci*, 2018; 8(6):8–13.
- Kim BR, Kim HY, Choi I, Kim JB, Han AR. DPP-IV inhibitory potential of flavonol glycosides isolated from the seeds of lens culinaris: *in vitro* and molecular docking analyses. *Molecules*, 2018; 23(8):1998.

- Liu X, Huang X, Wang Y, Huang S, Lin X. Design and performance evaluation of ionic liquid-based microwave-assisted simultaneous extraction of kaempferol and quercetin from Chinese medicinal plants. *Anal Methods*, 2013; 5(10):2591–601.
- Mai NL, Ahn K, Koo YM. Methods for recovery of ionic liquids-a review. *Process Biochem*, 2014; 49(5):872–81.
- 136 Nirmal NP, Rajput MS, Prasad RGSV, Ahmad M. Brazilin from *Caesalpinia sappan* heartwood and its pharmacological activities: a review. *Asian Pac J Trop Med*, 2015; 8(6):421–30.
- Putri AM, Putri NB, Rachmaday R, Dilalah I, Murwanti R, Meiyanto E. Secang heartwood ethanolic extract (*Caesalpinia sappan* L.) inhibits mesenchymal stem cells senescence. *Indones J Cancer Chemoprev*, 2017; 8(3):119–26.
- Settharaksa S, Monton C, Pathompak P, Madaka F. HPLC method validation for determination of brazilin in *Caesalpinia sappan* L. heartwood extract. *Thai J Pharm Sci*, 2017; 41:141–4.
- Setyaningsih EP, Saputri FC, Mun'im A. The antidiabetic effectivity of Indonesian plant extracts via DPP-IV inhibitory mechanism. *J Young Pharm*, 2019; 11(2):161–4.
- Svinyarov I, Keremedchieva R, Bogdanov M. Ionic liquid-supported solid-liquid extraction of bioactive alkaloids IV. New HPLC method for quantitative determination of galantamine in *Leucojum aestivum* L. (Amaryllidaceae). *J Sep Sci Tech*, 2016; 15(15–16):2691–9.
- Tan Z, Yi Y, Wang H, Zhou W, Wang C, McPhee DJ. Extraction, preconcentration and isolation of flavonoids from *Apocynum venetum* L. leaves using ionic liquid-based ultrasonic-assisted extraction coupled with an aqueous biphasic system. *Molecules*, 2016; 21(3):1–11.
- Wei W, Fu YJ, Zu YG, Wang W, Luo M, Zhao CJ, Li CY, Zang L, Wei ZF. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction for the determination of flavonoid glycosides in pigeon pea leaves by high-performance liquid chromatography-diode array detector with pentafluorophenyl column. *J Sep Sci*, 2012; 35(21):2875–83.

Xia Z, Li D, Li Q, Zhang Y, Kang W. Simultaneous determination of brazilin and protosappanin B in *Caesalpinia sappan* by ionic-liquid dispersive liquid-phase microextraction method combined with HPLC. *Chem Central J*, 2017; 11(114):1–11.

Xu W, Chu K, Li H, Zhang Y, Zheng H, Chen R, Chen L. Ionic liquid-based microwave-assisted extraction of flavonoids from *Bauhinia championii* (Benth.) Benth. *Molecules*, 2012; 17(12):14323–35.

Zhang Q, Zhao S, Chen J, Zhang L. Application of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of flavonoids from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *J Chromatogr B*, 2015; 1002:411–7

APLIKASI CAIRAN IONIK PADA PROSES EKSTRAKSI RESVERATROL DARI KULIT KACANG TANAH

8.1 Latar Belakang

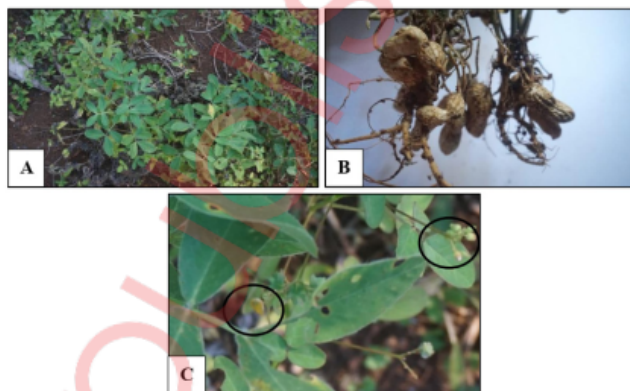
Resveratrol (3,5,4'-Trihidroksistilben) merupakan senyawa polifenol alami dengan struktur dasar stilben yang terdiri dari dua cincin fenolik terikat dengan ikatan rangkap stiren (Gambini, et al., 2015). Senyawa ini pertama kali ditemukan pada tahun 1940 dari akar *Veratrum grandiflorum* O. Loes, kemudian pada tahun 1963 dari akar *Polygonum cuspidatum* (Aggarwal, et al., 2004; Soleas, et al., 1997). Senyawa tersebut menarik perhatian untuk diteliti karena memiliki manfaat bagi kesehatan, di antaranya sebagai kardioprotektif, antioksidan, dan anti-kanker (Aggarwal, et al., 2004; Belguendouz, et al., 1998; Jang, et al., 1997). Selain itu, ditemukan pula pada buah-buahan, seperti beri (*Vaccinium spp.*), anggur (*Vitis vinifera*), pinus (*Pinus sylvestris*), kacang tanah (*Arachis hypogaea*), dan wine (Mark, et al., 2005; Pezzuto, 2008; Rimando, et al., 2004; Soleas, et al., 1997; Tokusoglu, et al., 2005).

Kulit kacang tanah (*A. hypogaea*) diketahui mengandung senyawa resveratrol, luteolin, eriodiktiol, dan dihidroksikromon (Lopes, et al., 2011; Sales dan Resurreccion, 2014). Hal ini sejalan dengan

penelitian yang telah dilaporkan oleh (Hetta, *et al.*, 2014), berhasil mengekstraksi kulit kacang tanah menggunakan pelarut methanol dan etil asetat dan mengandung resveratrol dengan kisaran 27-28%. Kulit kacang tanah diketahui mengandung 40,5% selulosa, 26,4% lignin, dan 14,7% hemiselulosa (Bharthare, *et al.*, 2014). Selulosa terdiri dari ikatan β -(1 \rightarrow 4) unit D glukosa dengan rantai panjang selulosa yang kaku serta ikatan hidrogen intermolekul dan intramolekul yang kuat, dikemas dalam bentuk mikrofibril (Jin, *et al.*, 2007). Mikrofibril tersebut dilapisi hemiselulosa dan lignin menjadikan aksesibilitas pelarut rendah (Zhang, *et al.*, 2010). Oleh karena itu, dilakukan *pretreatment* untuk membuat struktur selulosa lebih mudah diakses oleh pelarut.

8.2 Morfologi, Habitat, dan Penyebaran Kacang Tanah

Kacang tanah (Gambar 8.1) adalah herba semusim dengan akar lateral dan tunggang yang berkembang baik. Seiring dengan pertumbuhan tanaman, batang cenderung berongga, silindris, dan berbulu. Tinggi batang utama berkisar antara 12-35 cm. Kacang tanah memiliki empat daun yang disebut empat daun. Bentuk daunnya ¹⁶ runcing, lonjong agak runcing, lanset dengan daun berwarna hijau tua. Bunga terdiri dari kelopak, mahkota, benang sari, dan putik. Mahkota bunga biasanya berwarna oranye, tetapi bisa berwarna putih, kuning, dan berwarna bata.

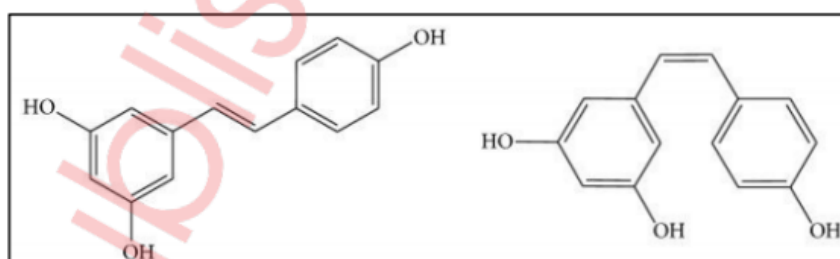


Gambar 8.1 Morfologi Kacang Tanah. (A) Bagian daun, (B) polong (biji), dan (C) bagian Bunga kacang tanah

Kacang tanah tumbuh pada daerah tropis, subtropis, serta beriklim sedang dari lintang 40°S hingga 40°U dengan suhu rata-rata tahunan 10,5-30°C dan curah hujan tahunan 500-600 mm. Sensitif terhadap suhu dingin dan pertumbuhan berhenti pada suhu di bawah 15°C. Tumbuh subur pada tempat berpasir, gembur, terkena sinar matahari, dan tanah padat pada kisaran pH 4,3-8,7 dengan pH optimum 5,5-6,5 (Tim, 2012). Pertama kali ditemukan di Peru dan keragaman varietas spesies *Arachis* terdapat di Amerika Selatan (Gregory, *et al.*, 1980; Hammons, 1994). Tanaman ini telah dibudidayakan di daerah tropis, subtropis, dan beriklim sedang (Stalker, 1997).

8.3 Khasiat Resveratrol

Resveratrol atau 3,5,4'-Trihidroksistilben (Gambar 8.2) merupakan senyawa polifenol alami dengan struktur dasar stilben yang terdiri dari dua cincin fenolik terikat dengan ikatan rangkap stiren (Gambini, *et al.*, 2015). Senyawa ini pertama kali ditemukan pada tahun 1940 dari akar *Veratrum grandiflorum* O. Loes dan kemudian pada tahun 1963 dari akar *Polygonum cuspidatum* (Aggarwal, *et al.*, 2004; Soleas, *et al.*, 1997). Senyawa tersebut disintesis oleh tanaman dari kondensasi satu molekul *p-coumaroyl* CoA dan tiga molekul *malonyl* CoA dengan bantuan enzim *stilbene synthase* (Soleas, *et al.*, 1997).



Gambar 8.2 Rumus Struktur resveratrol, (A) trans dan (B) cis-

Resveratrol diketahui memiliki aktivitas farmakologi, di antaranya sebagai kardioprotektif dengan mengurangi LDL, antioksidan dengan menghambat produksi *reactive oxygen species* (ROS), dan antikanker

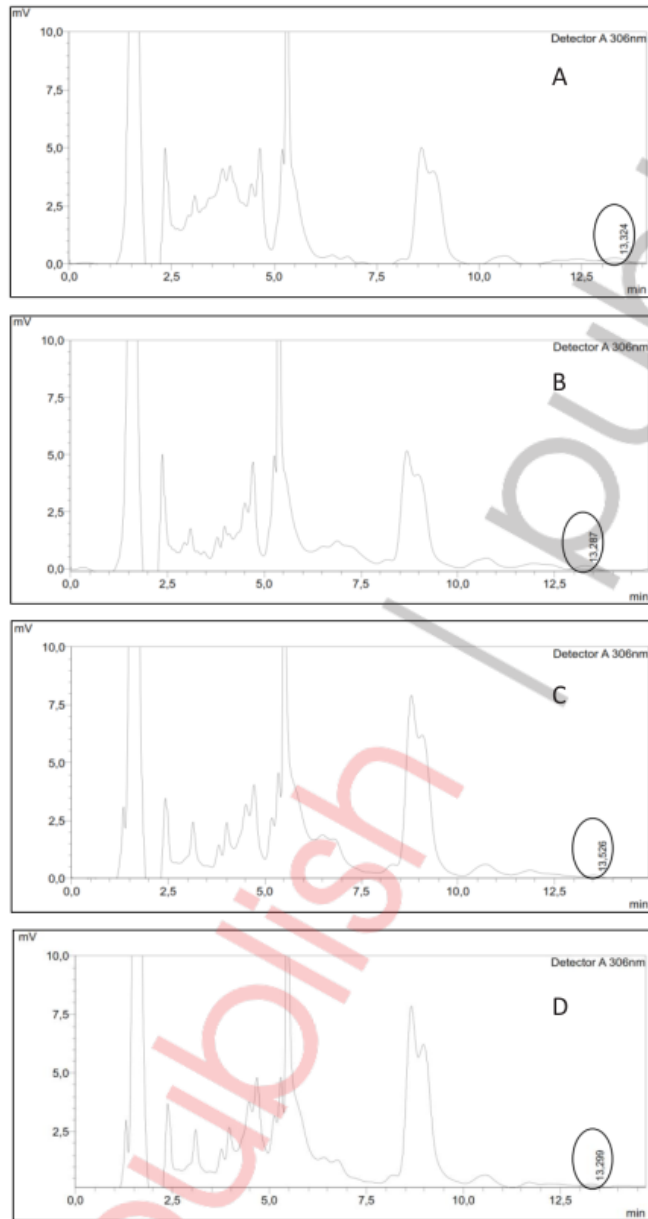
dengan menghambat tiga tahap karsinogenesis (Aggarwal, *et al.*, 2004; Belguendouz, *et al.*, 1998; Jang, *et al.*, 1997). Aktivitas lainnya, seperti antiamiloidogenik poten dapat digunakan untuk mengobati alzheimer, hipoglikemik, *antiaging*, dan dikategorikan sebagai fitoestrogen dengan struktur mirip dengan estrogen sintetis, dietilstilberol (Chi, *et al.*, 2007; De La Lastra dan Villegas, 2005; Gehm, *et al.*, 1997; Marambaud, *et al.*, 2005).

8.4 Ekstraksi Resveratrol Menggunakan Cairan Ionik

Ekstraksi serbuk kulit kacang tanah dilakukan dengan metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE). Pada metode ini, radiasi *microwave* berpenetrasi ke dalam matriks tumbuhan dan menghasilkan panas karena berinteraksi dengan molekul polar, seperti air dalam matriks. Penetrasi gelombang mikro bergantung pada konstanta dielektrik, kadar air, dan suhu (Takeuchi, *et al.*, 2009). Air yang terkandung dalam matriks bertanggung jawab dalam penyerapan gelombang mikro sehingga menyebabkan pemanasan internal dan kerusakan struktur sel. Hal tersebut menyebabkan difusi senyawa aktif keluar dari matriks tumbuhan menuju pelarut (Chan, *et al.*, 2011).

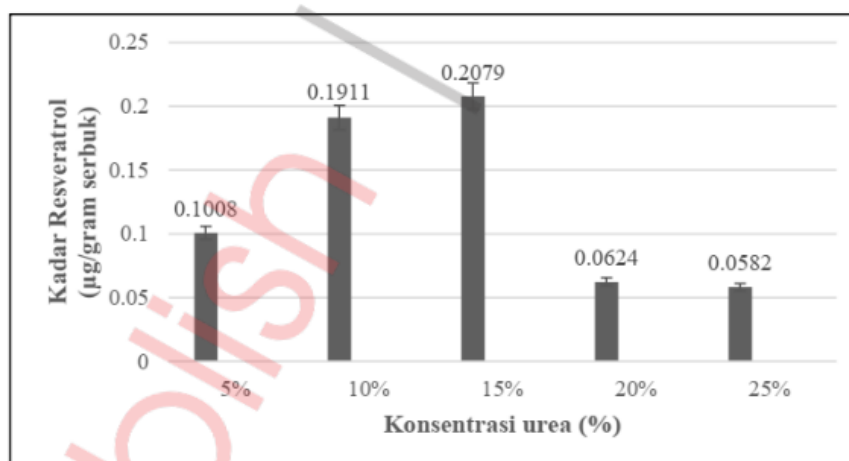
Sedangkan cairan ionik memiliki daya melarut tinggi dan secara efisien dapat menyerap gelombang mikro lebih banyak dibandingkan pelarut organik (Morais, *et al.*, 2017). Cairan ionik [bmim]Br telah berhasil digunakan untuk ekstraksi resveratrol dari rimpang *Polygonum cuspidatum* dan biji *Gnetum gnemon* (Ayuningtyas, *et al.*, 2017; Du, *et al.*, 2007). Cairan ionik, yaitu [bmim]Br diaplikasikan pada ekstraksi resveratrol dari kulit kacang tanah karena menghasilkan persentase rendemen transresveratrol paling banyak dibandingkan pelarut [bmim]Cl dan [bmim]BF₄ pada rimpang *Polygonum cuspidatum* (Du, *et al.*, 2007). Selain itu, [bmim]Br mampu melarutkan transresveratrol lebih baik karena adanya interaksi ion dan ikatan hidrogen antara kation imidazolium dengan transresveratrol, serta adanya anion Br⁻ menyebabkan larutan menjadi sedikit lebih asam dibandingkan anion Cl⁻, sehingga mampu mengekstraksi transresveratrol lebih banyak (Anderson, *et al.*, 2002).

Setelah diekstraksi, filtrat yang diperoleh ditambahkan garam untuk memisahkan senyawa aktif dari cairan ionik dengan proses *salting out*. Garam natrium karbonat digunakan untuk membantu mengendapkan cairan ionik sehingga membuat resveratrol lebih mudah untuk berpindah ke pelarut organik (Ayuningtyas, *et al.*, 2017). Kemudian, dipartisi dengan etil asetat karena dapat menarik resveratrol dari cairan ionik (Tan, *et al.*, 2016). Penambahan etil asetat diulangi sebanyak empat kali dikarenakan masih adanya senyawa resveratrol pada partisi ke-empat menggunakan KCKT seperti yang ditunjukkan pada Gambar 8.3. Hasil partisi etil asetat diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50°C dan tekanan pompa 250 mbar hingga diperoleh ekstrak pekat. Resveratrol bersifat sebagai antioksidan dan berpotensi besar untuk mengalami oksidasi. Oleh karena itu, *rotary vacuum evaporator* digunakan untuk menguapkan pelarut sekaligus mengurangi paparan dengan bahan pengoksidasi, yaitu oksigen.



Gambar 8.3 Hasil percobaan partisi etil asetat dengan KCKT. Partisi 1 (A); Partisi 2 (B), Partisi 3 (C), dan Partisi 4 (D)

Selain itu, untuk memastikan ada atau tidaknya senyawa resveratrol dalam larutan tersebut, larutan urea 10% hasil *pretreatment* dipartisi dengan etil asetat. Etil asetat memiliki interaksi ikatan hidrogen dengan resveratrol dan air sehingga dapat menarik resveratrol ke fase etil asetat (Ayuningtyas, *et al.*, 2017). Selanjutnya, larutan sampel diuji menggunakan KCKT dan menunjukkan adanya puncak pada waktu retensi yang sama dengan standar resveratrol. Kadar yang diperoleh dari hasil *pretreatment* urea 10% sebesar 0,0186 $\mu\text{g}/\text{gram}$ serbuk sehingga larutan hasil *pretreatment* kemudian diekstraksi bersamaan dengan cairan ionik. Berdasarkan penelitian sebelumnya, sebagian dari lignin dan hemiselulosa hilang oleh *pretreatment* urea (Li, *et al.*, 2010). Oleh karena itu, luas permukaan selulosa meningkat dan menjadi lebih mudah untuk penetrasi pelarut dalam melarutkan senyawa aktif (Yao, *et al.*, 2018).



Gambar 8.4 Grafik konsentrasi urea terhadap kadar resveratrol

Sebelum optimasi kondisi ekstraksi menggunakan RSM dengan *pretreatment* urea, dilakukan orientasi terhadap lima konsentrasi urea yang kemudian diekstraksi dengan pelarut [BMIM]Br-MAE. Dari lima konsentrasi tersebut, diuji secara kuantitatif menggunakan KCKT terhadap kadar resveratrol dan dipilih satu yang kemudian akan

dioptimasi dengan RSM. Hasil kadar resveratrol dari ke-5 konsentrasi tersebut, ditunjukkan pada Gambar 8.4.

Tabel 8.1 Hasil kadar resveratrol pada tiap *run* sampel

<i>Run</i> ke-	Konsentrasi [bmim]Br (M)	Rasio pelarut:sampel (ml/gram)	Waktu Ekstraksi (menit)	Kadar Resveratrol ($\mu\text{g}/\text{gram}$ serbuk)
1	2,5	20	13	0,1947
2	0,5	15	10	0,0813
3	0,5	15	16	0,0792
4	0,5	20	13	0,2900
5	1,5	10	16	0,2440
6	1,5	20	16	0,1721
7	1,5	10	10	0,1253
8	2,5	15	10	0,2005
9	1,5	15	13	0,1759
10	2,5	15	16	0,2394
11	0,5	10	13	0,1230
12	1,5	20	10	0,1125
13	2,5	10	13	0,0706

Berdasarkan grafik tersebut menunjukkan bahwa kadar resveratrol tertinggi diperoleh pada ekstraksi dengan *pretreatment* urea 15% dan mengalami penurunan pada konsentrasi 20 dan 25%. Semakin tinggi konsentrasi urea, kristalinitas selulosa semakin meningkat dan sulit mengalami peregangannya (Yao, Bergeron, & Davaritouchaee, 2018). Demikian, terjadi penurunan pada konsentrasi urea 20 dan 25%.

Konsentrasi urea 15% dengan kadar resveratrol 0,2079 µg/gram serbuk dipilih untuk optimasi ekstraksi menggunakan RSM karena menghasilkan kadar lebih tinggi dari sampel yang diekstraksi tanpa *pretreatment* urea, yaitu sebesar 0,1572 µg/gram serbuk. Sebanyak 13 larutan sampel hasil ekstraksi dengan *pretreatment* urea 15%, diinjeksikan sebanyak 20 µl dengan dilakukan dua kali pengulangan. Kadar resveratrol yang diperoleh dari tiap *run* ditunjukkan pada Tabel 8.1.

Daftar Pustaka

- 9 Aggarwal, B.B., Bhardwaj, A., Aggarwal, R. S., Seeram, N. P., Shishodia, S., Takada, Y. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: Preclinical and clinical studies. *Anticancer Research*. 2004.
- Ahmad, I., Yanuar, A., Mulia, K., Mun'im, A. Application of Ionic Liquid as a Green Solvent for Polyphenolics Content Extraction of *Peperomia pellucida* (L) Kunth Herb. *Journal of Young Pharmacists*, 2017; 9(4): 486–490.
- Ahmad, I., Yanuar, A., Mulia, K., Mun'im, A. Optimization of ionic liquid-based microwave-assisted extraction of polyphenolic content from *Peperomia pellucida* (L) kunth using response surface methodology. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2017; 7(7): 660–665.
- 73 Almeida, M., Erthal, R., Padua, E., Silveira, L., Am, L. Talanta Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. 2008; 76: 965–977.
- 22 Anderson, J.L., Ding, J., Welton, T., Armstrong, D.W. Characterization of ionic liquids on the basis of multiple solvation interactions. *Journal of the American Chemical Society*, 2002; 124(47): 14247–14254.
- 121 Araujo, P.W., Brereton, R.G. Experimental design I. Screening. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 1996; 15(1): 26–31.
- 148 Arora, M.K., Strange, R.N. Phytoalexin accumulation in groundnuts in response to wounding. *Plant Science*, 1991; 78(2): 157–163.

Ayuningtyas, I.N., Rahmawati, M., Sutriyo, Mun'im, A. Optimization of Ionic Liquid-Based Microwave Assisted Extraction to Obtain *trans*-resveratrol from *Gnetum gnemon*, *Journal of Young Pharmacist*, 2017; 9(4): 446–451.

13 Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Omar, A.K.M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering* 2013; 117(4): 426-436.

39 Azwanida, N.N. A Review on the extraction methods use in medicinal plants, principles, strength and limitation. *Medicinal Aromatic Plants*, 2015; 4(3): 1-6.

50 Ballard, T.S., Mallikarjunan, P., Zhou, K., Keefe, S.O. Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chemistry*, 2010; 120(4): 1185–1192.

141 Belguendouz, L., Frémont, L., Gozzelino, M.T. Interaction of *trans* resveratrol with plasma lipoproteins. *Biochemical Pharmacology*, 1998; 55(6): 811–816.

135 Bharthare, P., Preeti, S., Singh, P., Archana, T. Peanut shell as renewable energy source and their utility in production of ethanol. *International Journal of Advance Research*, 2014; 2(4): 1–12.

170 Chan, C.H., Yeoh, H.K., Yusoff, R., Ngoh, G.C. A first-principles model for plant cell rupture in microwave-assisted extraction of bioactive compounds. *Journal of Food Engineering*, 2016; 188: 98–107.

63 Chan, C.H., Yusoff, R., Ngoh, G.C., Kung, F.W.L. Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *Journal of Chromatography A*, 2011; 1218(37): 6213–25.

229 Chemat, F., Vian, M.A. Alternative solvents for natural products extraction. In *Green Chemistry and Sustainable Technology*. Springer USA. 2014.

- 81 Chemat, F., Vian, M.A., Cravotto, G. Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012; 13(7): 8615-8627.
- ChemSpider. (2015). Retrieved January 1, 2017, from <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.2015992.html>
- 153 Chen, R.S., 131 P.L., Chiou, R.Y.Y. Peanut roots as a source of resveratrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002; 50(6): 1665-1667.
- 38 Chen, Y., Xie, M.Y., Gong, X.F. Microwave-assisted extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*. *Journal of Food Engineering*, 2007; 81(1): 162-170.
- 96 Cheok, C.Y., Salman, H.A.K., Sulaiman, R. Extraction and quantification of saponins: A review. *Food Research International*, 2014; 59: 16-40.
- 58 Chi, T.C., Chen, W.P., Chi, T.L., Kuo, T.F., Lee, S.S., Cheng, J.T., Su, M.J. Phosphatidylinositol-3-kinase is involved in the antihyperglycemic effect induced by resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sciences*, 2007; 80(18): 1713-1720.
- 180 Chung, I.M., Park, M.R., Chun, J.C., Yun, S.J. Resveratrol accumulation and resveratrol synthase gene expression in response to abiotic stresses and hormones in peanut plants. *Plant Science*, 2003; 164(1): 103-109.
- Cullen, J. *Practical Plant Identification*. Cambridge, UK. 2006.
- 128 Cvejić, J., Atanacković, M. Effect of Wine Production Techniques on Wine Resveratrol and Total Phenolics. In *Processing and Impact on Active Components in Food*. 2014: 501-508.
- 156 Da Silva, F.C., Da Fonseca, C.R., De Alencar, S.M., Thomazini, M., Balieiro, J.C.D.C., Pittia, P., Favaro-Trindade, C.S. Assessment of production efficiency, physicochemical properties and storage stability of spray-dried propolis, a natural food additive, using gum Arabic and OSA starch-based carrier systems. *Food and Bioproducts Processing*. 2013; 91(1): 28-36.

9 De La Lastra, C.A., Villegas, I. Resveratrol as an anti-inflammatory and anti-aging agent: Mechanisms and clinical implications. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2005; 49(5): 405-30.

176 De Monte, C., Carradori, S., Granese, A., Di Pierro, G.B., Leonardo, C., De Nunzio, C. Modern extraction techniques and their impact on the pharmacological profile of *Serenoa repens* extracts for the treatment of lower urinary tract symptoms. *BMC Urology*, 2014; 14(1): p. 63.

Departemen Kesehatan RI. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat, 9–11, 16. 2000.

23 Du, F., Xiao, X., Li, G. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of *transresveratrol* from *Rhizoma Polygoni Cuspidati*, 2007; 1140: 56–62.

7 Du, F., Xiao, X., Luo, X., Li, G. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds from medicinal plants, *Talanta*, 2009; 78: 1177–1184.

55 Fan, X.H., Cheng, Y.Y., Ye, Z.L., Lin, R.C., Qian, Z.Z. Multiple chromatographic fingerprinting and its application to the quality control of herbal medicines. *Analytica Chimica Acta*, 2006; 555(2): 217–224.

90 Friedman, M., Jürgens, H.S. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000; 48(6): 2101–2110.

287 Gambini, J., Inglés, M., Olaso, G., Abdelaziz, K.M., Vina, J., Borras, C. Properties of Resveratrol: *In Vitro* and *In Vivo* Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015; 2015: 1-13.

41 Gehm, B.D., Mcandrews, J.M., Chien, P.-Y., Jameson, J.L. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. *Physiology Communicated by Ernst Knobil*, 1997; 94: 14138–14143.

- 80 Goldstein, J., Newbury, D.E., Joy, D.C., Lyman, C.E., Echlin, P., Lifshin, E., Michael, J.R. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis*. 2003.
- 49 Gregory, W., Krapovickas, A., Gregory, M. Structure, variation, evolution and classification in *Arachis*. In R. J. Summerfield & A. H. Bunting (Eds.), *Advances in Legume Sciences*. 1980: 469–481.
- Gruenwald, J., Brendler, T., Wyble, C., Hamid, M., Nathan, J., Potter, J. C., Phayre, A.M. *Physician's desk reference for herbal medicines*. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2000; 19(4): 254.
- 49 Hammons, R.O. The origin and history of the groundnut. In *The Groundnut Crop*, 1994; 24–42.
- 12 Heggset, E.B., Syverud, K., Øyaas, K. Novel pretreatment pathways for dissolution of lignocellulosic biomass based on ionic liquid and low temperature alkaline treatment. *Biomass and Bioenergy*, 2016; 93: 194–200.
- Hetta, M.H., Aly, H.F., Ali, N.W. Estimation of resveratrol content in peanut pericarp and its relation to the in vitro inhibitory activity on carbohydrate metabolizing enzymes. *Pharmazie*, 2014; 69(2): 92–95.
- 255 Hiranvarachat, B., Devahastin, S., Chiewchan, N., Vijaya Raghavan, G.S. Structural modification by different pretreatment methods to enhance microwave-assisted extraction of β -carotene from carrots. *Journal of Food Engineering*, 2013; 115(2): 190–197.
- 131 Hoffmann, J., Nüchter, M., Ondruschka, B., Wasserscheid, P. Ionic liquids and their heating behaviour during microwave irradiation – a state of the art and challenge to assessment. *Green Chem.*, 2003; 5(3): 296–299.
- Integrated Taxonomic Information System. 2018. Retrieved from <http://www.itis.gov>
- 95 Jang, M., Jang, M., Cai, L., Udeani, G.O., Slowing, K.V, Thomas, C.F., Pezzuto, J.M. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*, 1997; 275: 218–220.

- Jensen, J.S., Wertz, C.F., O'Neill, V.A. Preformulation stability of *trans*-resveratrol and *trans*-resveratrol glucoside (piceid). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010; 58(3): 1685–1690.
- 120 Jin, H., Zha, C., Gu, L. Direct dissolution of cellulose in NaOH/thiourea/urea aqueous solution. *Carbohydrate Research*, 2007; 342(6): 851–858.
- Johnson, E. L., Stevenson, R. *Dasar Kromatografi Cair*. Jakarta: Penerbit ITB. 1991.
- 36 Kaufmann, B., Christen, P. Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis*, 2002; 13(2): 105–113.
- 159 Li, M.F., Fan, Y.M., Xu, F., Sun, R.C., Zhang, X.L. Cold sodium hydroxide/urea based pretreatment of bamboo for bioethanol production: Characterization of the cellulose rich fraction. *Industrial Crops and Products*, 2010; 32(3): 551–559.
- Lindsay, S. *High Performance Liquid Chromatography* (2nd ed.). Wiley. 1992.
- 30 Liu, X., Wang, Y., Kong, J., Nie, C., Lin, X. Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of quercetin from Chinese herbal medicine. *Analytical Methods*, 2012; 4(4): 1012.
- Lopes, J.M., Agostini-costa, S., Gimenes, M.A., Ribeiro, D., Norte, A. Chemical composition and biological activities of *Arachis species*, 2011: 4321–4330.
- 17 Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nystrom, A., Pettersen, J., Bergman, R. Experimental design and optimization. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 1998; 42, 3–40.
- 83 Mandal, V., Mohan, Y., Hemalatha, S. Microwave assisted extraction - An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Review*, 2007; 1(1), 7–18.
- 17 Marambaud, P., Zhao, H., & Davies, P. Resveratrol promotes clearance of Alzheimer's disease amyloid peptides. *Journal of Biological*

Chemistry, 2005; 280(45), 37377–37382.

Mark, L., Nikfardjam, M.S.P., Avar, P., Ohmacht, R. A validated HPLC method for the quantitative analysis of *transresveratrol* and *transpiceid* in Hungarian wines. *Journal of Chromatographic Science*, 2005; 43(9), 445–449.

McMaster, M.C. *HPLC, A Practical User's Guide* (2nd ed.). John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey. 2007.

Mediani, A., Abas, F., Tan, C., Khatib, A. Effects of Different Drying Methods and Storage Time on Free Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Content of *Cosmos Caudatus*. *Antioxidants*. 2014; 3(2), 358-70

Morais, T.R., Coutinho, A.P.R., Camilo, F.F., Martins, T.S., Sartorelli, P., Massaoka, M.H., Lago, J.H.G. Application of an ionic liquid in the microwave assisted extraction of cytotoxic metabolites from fruits of *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2017; 28(3), 492-497.

Nepote, V., Grosso, N.R., Guzm, C.A. Optimization of extraction of phenolic antioxidants from peanut skins, 2005: 38, 33.

APLIKASI NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS (NADES) SEBAGAI PELARUT PADA PROSES EKSTRAKSI

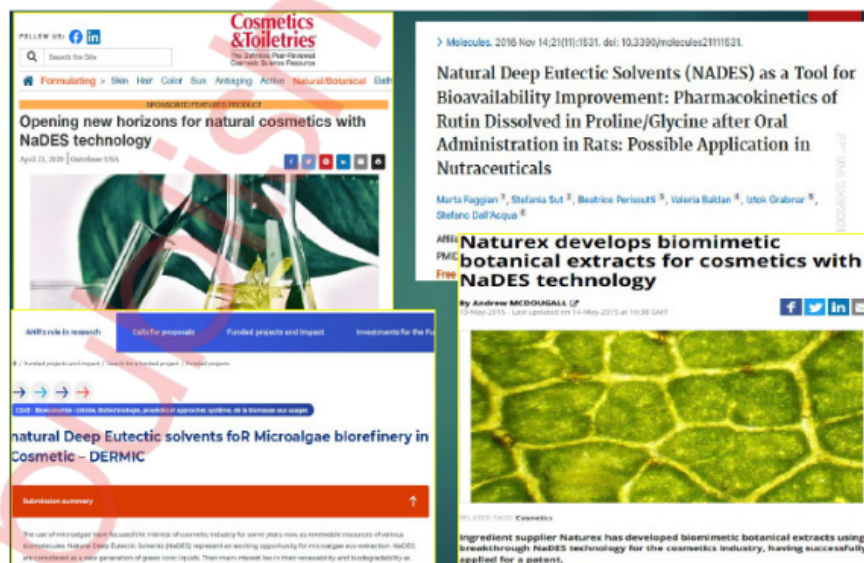
9.1 Latar Belakang

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dalam simplisia tumbuhan, seperti fenol, flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid, steroid, dan glikosida merupakan langkah awal untuk memperoleh ekstrak. Ekstraksi ini bertujuan memisahkan senyawa-senyawa metabolit yang diinginkan dari matriks atau senyawa yang tidak diinginkan karena senyawa metabolit inilah yang sudah diketahui memiliki aktivitas farmakologis. Ekstrak yang diperoleh akan menjadi bahan baku, dan selanjutnya akan dikembangkan lebih lanjut menjadi produk yang diinginkan. Pada proses ekstraksi beberapa senyawa yang tidak diinginkan akan dihilangkan.

Agar diperoleh ekstrak seperti yang diinginkan maka harus dipilih pelarut dan metode ekstraksi yang sesuai. Pelarut harus memiliki selektivitas tinggi (sesuai dengan polaritas senyawa target), aman (tidak toksik atau toksisitas rendah, tidak mudah meledak dan tidak mudah terbakar), *innert*, mudah dipisahkan dari senyawa target (biasanya mempunyai titik didih rendah), viskositas rendah (agar mudah

berpenetrasi dan difusi sehingga transfer masa lebih cepat), dan yang terakhir murah serta mudah didapat.

Selama ini hampir sebagian industri herbal Indonesia, khususnya IEBA (Industri ekstrak bahan alam) melakukan ekstraksi dengan metode konvensional menggunakan pelarut organik. Pelarut yang digunakan pada ekstraksi konvensional seperti yang disampaikan sebelumnya berupa pelarut mudah menguap dengan polaritas yang beragam dari mulai polar sampai dengan nonpolar. Pelarut tersebut antara lain: petroleum eter, n-heksana, toluena, dietil eter, kloroform, diklorometana, etil asetat, aseton, n-butanol, etanol, dan metanol. Pada proses ekstraksi dibutuhkan jumlah pelarut cukup banyak. Misalnya, pada metode maserasi atau perkolasi. Hal ini menyebabkan peningkatan biaya produksi, walaupun pada proses selanjutnya dilakukan proses pemekatan dan pengeringan bisa diperoleh kembali. Masalah lain dari penggunaan pelarut organik ini adalah keamanan. Beberapa pelarut relatif toksik dan memungkinkan adanya sisa pelarut pada produk akhir. Sifat mudah menguap berpotensi mencemari lingkungan dan beberapa dapat memberikan efek yang tidak diinginkan pada pekerja.



Gambar 9.1. Perhatian industri dan peneliti pada penggunaan NADES

Berdasarkan sifat-sifat tersebut di atas, pelarut hijau dapat menjadi alternatif sebagai pengganti pelarut konvensional. Pelarut hijau harus memenuhi kriteria hijau sehingga ramah terhadap lingkungan dan relatif aman. Keuntungan dari pelarut ini adalah mudah dibuat (disintesis dengan prosedur sederhana dan bahan ramah lingkungan), membutuhkan energi rendah, relatif aman, dapat didaur ulang, dan *biodegradable*. Di antara pelarut tersebut adalah pelarut eutektik alami (NADES: *Natural Deep Eutectic Solvents*). NADES saat ini mendapat perhatian besar dari para peneliti dan industri bahkan sudah digunakan secara komersial untuk pembuatan bahan baku kosmetik di Uni Eropa (Gambar 9.1).

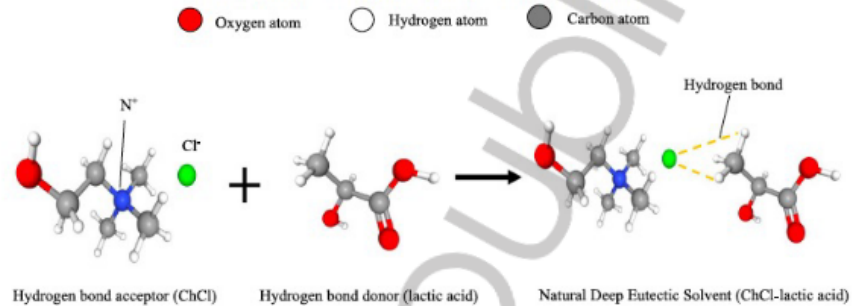
Beberapa senyawa metabolit alami dari tumbuhan, seperti piperin, kurkumin, atau baicalin (flavonoid), yang saat ini tersedia di pasaran diekstraksi dengan metode ekstraksi konvensional (Hikmawanti, et al, 2021). Namun, beberapa dari senyawa tersebut memiliki kelemahan antara lain: kelarutan yang rendah dalam air, tidak stabil, adsorpsi rendah di saluran pencernaan, dan bioavailabilitas juga rendah. Permasalahan ini dapat mempengaruhi aktivitas farmakologis senyawa tersebut. Efek farmakologis dari suatu senyawa terkait dengan parameter farmakokinetik, yaitu penyerapan (absorpsi), bioavailabilitas, distribusi, metabolisme, dan ekskresi.

Keuntungan NADES sebagai pelarut pengestraksi dilaporkan dapat meningkatkan kelarutan dan bioaktivitas senyawa. Penggunaan NADES juga dapat meningkatkan stabilitas dan umur simpan senyawa dalam ekstrak. Selain itu, bioavailabilitas senyawa yang dilarutkan dalam NADES juga dilaporkan meningkat. Perlu diingat bahwa pelarut NADES sulit dipisahkan dengan senyawa sehingga bahan baku ekstrak yang ada di pasaran dalam bentuk larutan ekstrak.

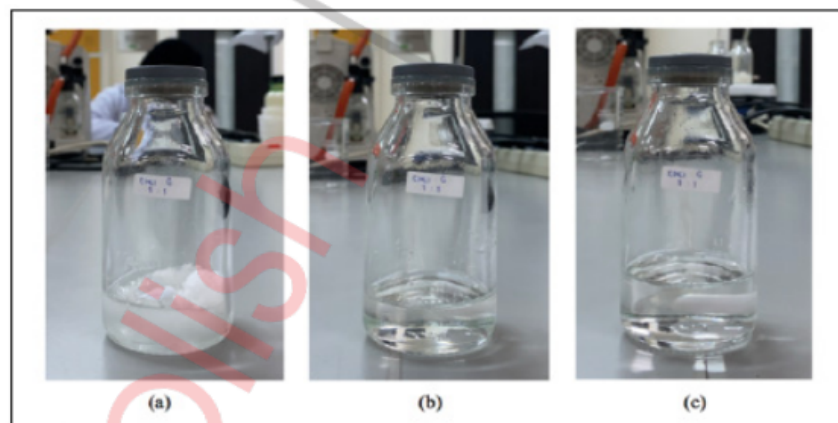
9.2 NADES sebagai Pelarut Alternatif

Pelarut eutektik (DES: *Deep Eutectic Solvents*) masuk kedalam subkelas cairan ionik (IL: *Ionic Liquid*). Pelarut ini merupakan campuran eutektik terdiri dari dua atau tiga komponen senyawa penyusun.

24 Umumnya interaksi pada DES terjadi melalui ikatan hidrogen, yang memiliki titik leleh lebih rendah daripada titik leleh masing-masing komponen. Rasio molar antara komponen harus tepat agar diperoleh cairan DES yang bening (Gambar 9.2 dan 9.3).



Gambar 9.2 Proses pembentukan ikatan hidrogen antara HBA dan HBD (Fuad, et al 2021)

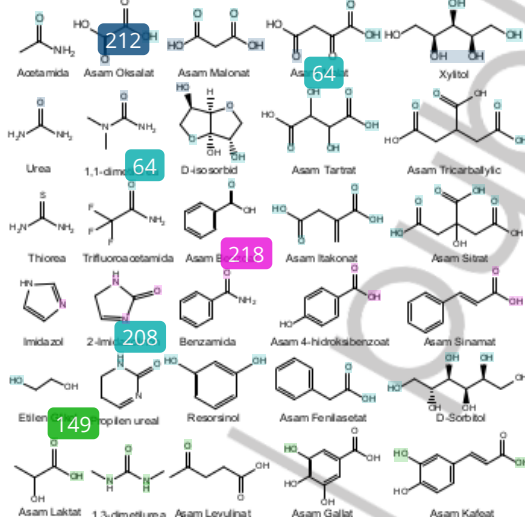
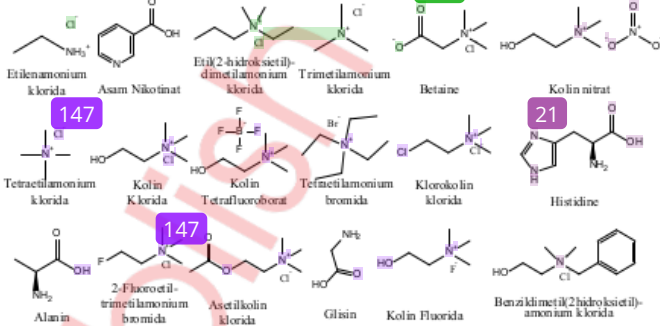


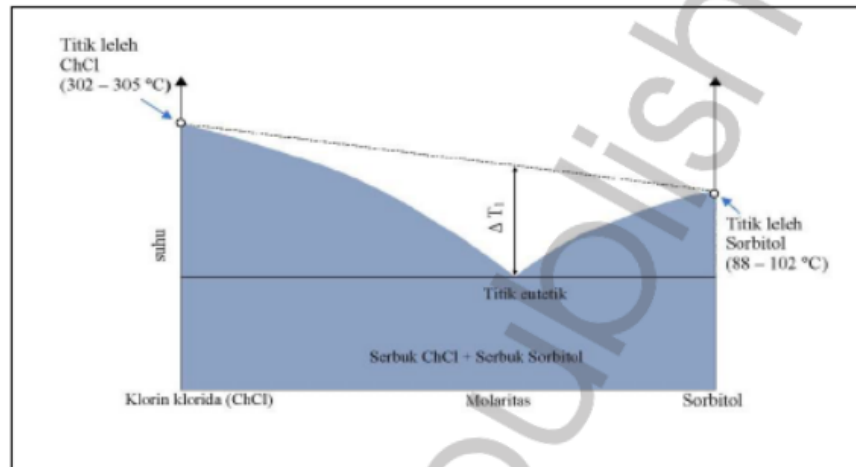
Gambar 9.3 Pembentukan DES kolin klorida-glisserol, (a) kolin klorida, (b) gliserol, dan (c) DES (Nisrina, 2021)

21 Ikatan hidrogen yang terjadi antara HBA (*hydrogen Bonding Acceptor*) dan HBD (*Hydrogen Bonding Donor*) pada DES dapat dilihat pada Gambar 9.2. Dengan demikian jumlah gugus penerima ikatan hidrogen dan pemberi ikatan sangat penting dalam pembuatan DES.

Komponen penyusun DES adalah HBA dan HBD. Tabel 9.1 memperlihatkan beberapa contoh HBA dan HBD.

Tabel 9.1 Komponen HBA dan HBD

<p>Donor Ikatan Hidrogen (HBD)</p>	
<p>Akseptor Ikatan Hidrogen (HBA)</p>	

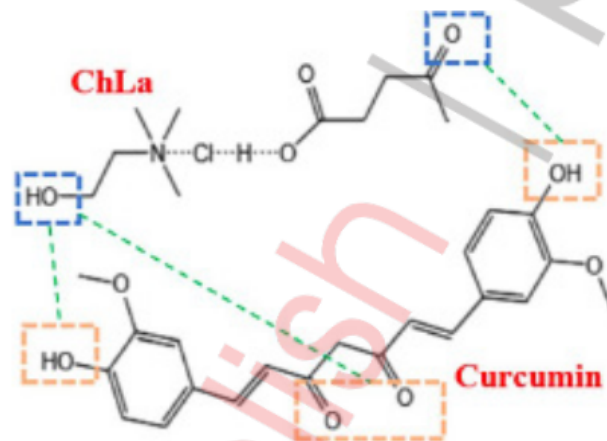


Gambar 9.4 Pembentukan eutektik dalam dua komponen diagram fasa (Smith, et. al, 2014)

Saat ini Kolin klorida merupakan HBA yang paling banyak digunakan dalam pembuatan DES. Selain kolin klorida, digunakan juga betain, yang merupakan analog dari kolin klorida. Namun, proses pembuatan DES dengan betain relative menyulitkan jika dibandingkan dengan menggunakan kolin klorida. Pelarut eutektik alami (NADES: *Natural Deep Eutectic Solvents*) adalah turunan baru dari DES. NADES dianggap lebih “alami” karena komponen penyusun campuran eutektik adalah kelompok metabolit primer. Metabolit ini secara alami digunakan diperoleh dari tanaman, seperti gula, asam, dan basa organik, serta asam amino. Dengan demikian keamanan NADES lebih baik dibandingkan dengan DES. NADES dapat dikelompokkan menjadi: (1) NADES cairan ionik (terbuat dari asam dan basa), (2) NADES netral (tersusun dari gula atau gula dan polialkohol), (3) NADES netral dengan asam (terdiri dari gula/polialkohol dan asam organik), (4) netral NADES dengan basa (terbuat dari gula/polialkohol dan basa organik), dan (5) NADES berbasis asam amino (terbuat dari asam amino dan asam organik/gula) (Choi, *et al.*, 2013).

Beberapa peneliti melaporkan bahwa NADES dapat mengekstrak senyawa fitokimia dengan berbagai polaritas dari mulai hidrofilik

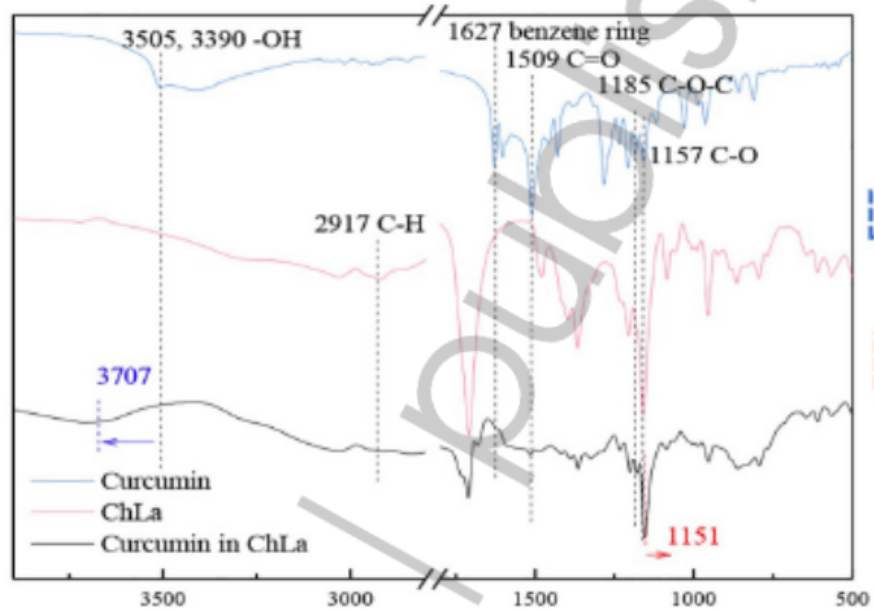
dan hidrofobik, tergantung pada komponen penyusunnya. Fenomena menarik terjadi pada NADES hidrofilik seperti golongan NADES berair, karena dapat menarik senyawa ²⁴³ofilik. Hal ini tidak terjadi pada pelarut konvensional seperti air (Liu, *et al.*, 2018). Menurut Dai, *et al.*, 2013, campuran eutektik dengan senyawa organik dengan komponen penyusun asam organik umumnya memiliki polaritas tinggi, diikuti oleh yang NADES dengan penyusun amino asam. Sedangkan, campuran NADES dengan komponen polialkohol dan gula memiliki polaritas yang lebih rendah. Mekanisme pelarutan senyawa dalam NADES dapat dilihat pada Gambar 9.5. Dari gambar tersebut terlihat terjadinya ikatan hidrogen antara kurkumin dan pelarut NADES. Dengan demikian jumlah gugus penerima dan pemberi ikatan hidrogen dari NADES sangat penting untuk ekstraksi suatu senyawa.



Gambar 9.5 Proses pelarutan kurkumin dalam NADES kolin klorida-asam laktat (Cao, *et al.*, 2020)

Ikatan hidrogen yang terbentuk dapat diamati menggunakan FT-IR. Selain itu pengamatan lebih mendalam tentang gugus yang berperan dalam proses pelarutan senyawa dalam NADES dapat diamati menggunakan NMR dua dimensi. Gambar 9.5 memperlihatkan perubahan spektrum FT-IR dari NADES, kurkumin dan larutan kurkumin dalam NADES. Dari gambar tersebut terlihat perubahan spektra pada

bilangan gelombang spesifik dari gugus fungsional yang terlibat dalam pembentukan ikatan hidrogen.



Gambar 9.6 Spektrum FT-IR dari senyawa NADES kolin klorida-asam laktat, kurkumin dan kurkumin dalam NADES (Cao et al, 2020)

Pelarut pengestraksi seperti cairan ionik, DES, dan NADES memiliki sifat fisikokimia yang mirip. Namun, NADES lebih banyak digunakan dan dapat memenuhi banyak kriteria sebagai alternatif pengestraksi lebih ramah lingkungan daripada pelarut konvensional. Hal ini karena NADES memiliki sifat-sifat berikut: (1) komponen penyusun memiliki struktur sederhana dan mudah ditemukan melimpah di pasar dan harga murah, (2) tidak mudah menguap selama proses ekstraksi sehingga NADES dapat langsung digunakan sampai produk akhir dan bisa didaur ulang (Mbous, *et al.*, 2017), (3) NADES mudah disintesis, (4) toksisitas rendah, (5) mudah terurai tanpa menghasilkan produk yang beracun untuk lingkungan, (6) NADES memiliki kemampuan ekstraksi mirip dengan pelarut organik konvensional, (7) NADES stabil pada suhu

tinggi, dan (8) tidak mudah terbakar (Vanda, *et al.*, 2018). Perbandingan antara cairan ionik, DES, dan NADES disajikan pada Tabel 9.2.

Tabel 9.2 Perbandingan sifat cairan ionik, DES dan NADES
(Ni Putu Ermi, 2021)

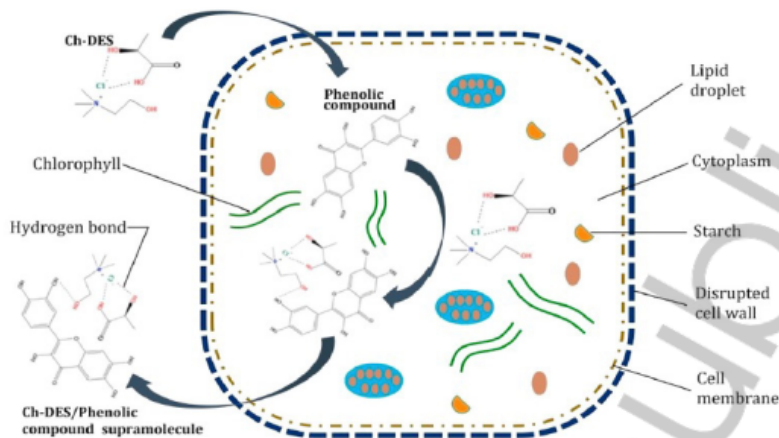
Parameter	Cairan ionik (ILs)	DES	NADES
Penyusun	Kation organik, anion organik/ anorganik	HBA-HBD	HBA-HBD (alami)
Titik leleh	<100°C	<100°C	<100°C
Polaritas	Luas	Luas	Luas
Kelarutan	Tinggi	Tinggi	Tinggi
Stabilitas	Stabil (cairan)	Kadang bisa berubah padat	Kadang bisa berubah padat
Viskositas	Tinggi	Tinggi	Tinggi
Thermolabilitas	Tahan panas	Thermolabil	Thermolabil
Pemisahan	Mudah	susah	Susah
Harga	Relatif mahal	murah	Murah
Pembuatan	Susah	mudah	Mudah
Toksistas	Tinggi	Lebih rendah dari Cairan ionik	Rendah
Biodegradabilitas	Sedang	Mudah	Mudah
Keamanan	Sedang	Aman	Aman
Daur ulang	Ya	Ya	Ya

Tabel 9.3. Metode pembuatan NADES (Ruesgas-ramon et al, 2017)

Metode	Deskripsi
Metode pemanasan dan pengadukan	Komponen NADES dimasukkan kedalam botol bertutup selanjutnya dipanaskan pada 60°C dibantu pengadukan magnetik hingga terbentuk cairan bening. Namun, harus diperhatikan, apabila digunakan asam karboksilat sebagai HBD dikombinasi dengan ChCl, sebagai HBA jangan dilakukan pemanasan untuk menghindari terbentuknya senyawa ester. Alternatifnya dapat dilakukan dengan cara penggerusan komponen NADES dalam mortar dengan alu pada suhu kamar
Metode evaporasi	Komponen NADES dilarutkan dalam air dan diuapkan pada suhu 50°C dengan <i>rotary vacuum evaporator</i> . Cairan yang diperoleh dimasukkan ke dalam desikator berisi silika gel hingga diperoleh bobot konstan.
Metode <i>freeze-drying</i>	Pada metode ini digunakan prinsip metode <i>freeze-dryer</i> untuk mengeringkan larutan berair dari campuran NADES. Metode ini jarang digunakan.

9.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Hasil

Proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut NADES mirip dengan pelarut organik. Gambar 9.7 memperlihatkan proses ekstraksi menggunakan NADES. Pada tahap awal pelarut akan berpenetrasi kedalam matris (sel). Mekanisme ini tak terjadi pada senyawa yang terdapat dil luar sel. Pada senyawa tersebut akan terjadi kontak langsung dengan NADES dan terjadi hanya proses pelarutan. Tahap selanjutnya adalah proses pelarutan senyawa dalam sel kedalam pelarut NADES. Tahap akhir dari ekstraksi dengan NADES adalah difusi, pada proses ini memerlukan waktu.



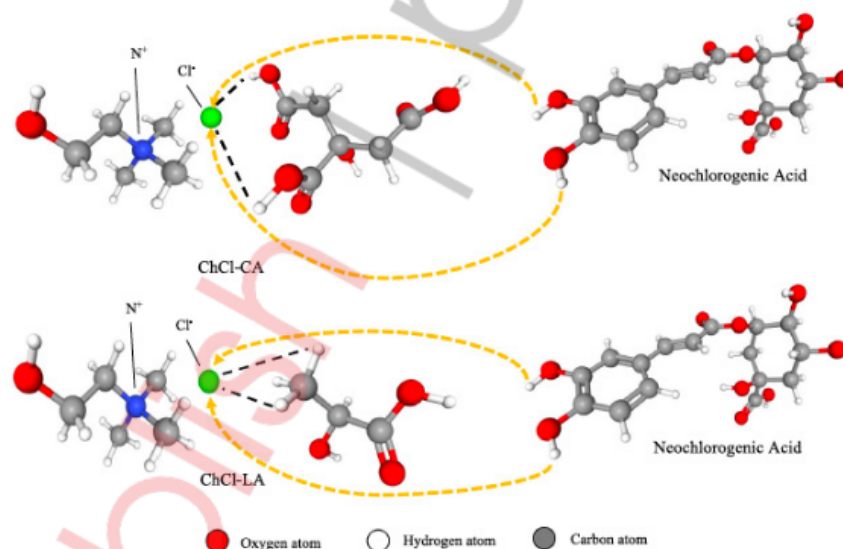
Gambar 9.7 Mekanisme ekstraksi NADES (Alam, *et al.*, 2021)

Dari penjelasan tersebut di atas maka faktor-faktor yang memengaruhi hasil ekstraksi dengan NADES beberapa sama dengan pelarut organik. Namun, karena ada perbedaan sifat fisik-kimia NADES dengan pelarut ²⁷³ ada beberapa faktor lain yang memengaruhi. Faktor-faktor yang memengaruhi hasil ekstraksi menggunakan NADES dirangkum dalam Gambar 9.8.



Gambar 9.8. Faktor-faktor yang memengaruhi hasil ekstraksi dengan NADES

Faktor yang berbeda dengan pelarut organik adalah viskositas. NADES pada umumnya agak kental. Hal ini tentunya tak sesuai dengan kriteria untuk pelarut ekstraksi. Oleh karena itu, perlu penambahan air. Namun, penambahan air harus dioptimasi karena penambahan air yang tinggi dapat mengakibatkan putus ikatan hidrogen pada NADES. Tipe HBA dan HBD juga dapat mempengaruhi hasil. Karena kombinasi keduanya menyebabkan perubahan fisikokimia, antara lain: polaritas, pH, titik leleh, dan viskositas. Polaritas sangat mempengaruhi hasil, tetapi seperti disebutkan sebelumnya ada fenomena menarik bahwa NADES dapat mengekstraksi dan melarutkan senyawa nonpolar, seperti kurkumin. Jumlah atom/gugus NADES untuk membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa target juga mempengaruhi hasil.

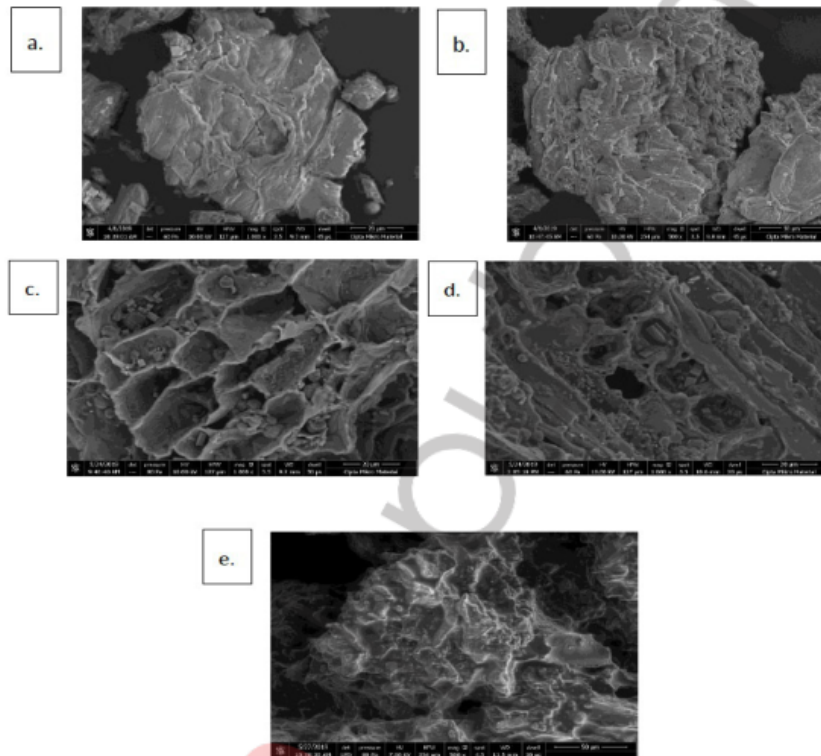


Gambar 9.9 Steric hindrance terjadi pada interaksi asam neoklorogenat dengan NADES asam organik (Fuad, *et al.*, 2021)

Mekanisme lain yang cukup berbeda adalah pelarutan dinding sel. NADES diketahui dapat membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa-senyawa penyusun dinding sel. Dengan demikian akan terjadi lisis sel tersebut dan akan memudahkan proses ekstraksi.

Tahap penetrasi dapat diminimalisir, sehingga proses ekstraksi akan lebih cepat. Gambar 9.9 memperlihatkan perusakan dinding sel akibat ekstraksi dengan NADES (Nadhira, 2019).

Perbedaan komponen penyusun NADES menyebabkan perbedaan polaritas, viskositas, dan kelarutan. Hal ini terkait dengan efisiensi ekstraksi. Menurut Cao, *et al.*, 2020, kelarutan yang tinggi terkait dengan interaksi NADES-senyawa fitokimia, seperti interaksi dipol-dipol dan ikatan hidrogen (Cao, *et al.*, 2020). Beberapa penelitian menyimpulkan bahwa ekstraksi metabolit tanaman menggunakan NADES dapat dioptimalisasi. Kondisi optimum ekstraksi tersebut akan menghasilkan ekstrak dengan senyawa target secara maksimum. Hal ini terjadi karena kelarutan senyawa target dalam NADES lebih tinggi. Salah satu contoh adalah asam klorogenat. Senyawa ini berupa termasuk dalam golongan fenol dan dilaporkan dapat diekstraksi secara optimal dari beberapa tanaman berbeda dengan NADES yang terdiri dari berbagai jenis komponen HBA-HBD yang berbeda-beda, seperti betain-trietilen glikol (1:2), prolin-asam malat (1:1), dan kolin klorida-1,3-butanediol (1:2). Adanya poliol pada penyusun NADES tersebut kemungkinan dapat meningkatkan difusi dan perpindahan masa. Hal ini terlihat dari peningkatan jumlah poliol dalam NADES dapat menyebabkan peningkatan hasil ekstraksi. Selain itu didukung penurunan viskositas dan tegangan permukaannya yang menyebabkan perpindahan masa lebih mudah (Hikmawanti, *et al.*, 2021).



Gambar 9.10 Gambaran SEM serbuk kulit kayu manis (a) sebelum ekstraksi, (b) maserasi etanol 96%, (c) kolin klorida-asam laktat, (d) kolin klorida asam malat, dan (e) Kolin klorida-asam sitrat (Nadhira, 2019)

Hasil studi ekstraksi kurkuminoid dari kunyit (*Curcuma longa*) memperlihatkan fenomena yang mirip dengan di atas. Kurkuminoid dapat diekstraksi secara optimal dengan komponen NADES yang berbeda-beda, seperti asam sitrat-glukosa (1:1), kolin klorida-gliserol (1:1), dan kolin klorida-asam laktat (1:1) (Hikmawanti et al, 2021). Asam sitrat adalah asam organik dengan satu asam hidroksil dan tiga gugus karboksilat. Dengan memiliki lebih banyak gugus -COOH daripada asam malat (satu asam hidroksil dan dua gugus karboksilat) dan asam laktat (satu asam hidroksil dan satu gugus karboksilat). NADES asam sitrat efektif untuk ekstraksi kurkumin karena asam sitrat memiliki lebih

banyak gugus karboksilat dan kesempatan untuk membentuk ikatan hidrogen (Cao, *et al.*, 2020).

Kelarutan kurkumin murni meningkat pada DES yang mengandung kolin klorida dikombinasi dengan HBA perbandingan molar 1:2, dengan urutan yaitu etilen glikol>gliserol>urea. DES ini meningkatkan kelarutan kurkumin hingga 13.000 kali lipat dibandingkan dengan dalam air pada 25°C, dan 33.000 kali lipat pada 40°C (Shakeri, *et al.*, 2021). Pada ekstraksi alkaloid boldin, Torres-Vega *et al.*, 2020 melaporkan bahwa komponen NADES dengan L-prolin dan asam oksalat (1:1) dan air 20% menghasilkan hasil terbaik dibandingkan dengan komponen lainnya. NADES tersebut 8 kali lebih efektif mengekstraksi boldin dibandingkan metanol. NADES berbasis alkohol, dengan polaritas yang sama dengan etanol, tidak menghasilkan hasil yang baik untuk ekstraksi boldin dibandingkan dengan metanol. Perbedaan antara NADES dan metanol mungkin dikaitkan dengan ketidakmampuan metanol untuk mengekstrak sebagian molekul terionisasi, di mana interaksi elektrostatik dapat memainkan peran kunci dalam ekstraksi senyawa tersebut (Torres-Vega, *et al.*, 2020)

24

Salah satu kelemahan NADES jika dibandingkan dengan pelarut konvensional adalah viskositasnya yang tinggi. Viskositas NADES dipengaruhi oleh ikatan hidrogen dan interaksi van der Waals (Gambar 7.5). Viskositas NADES yang tinggi mengakibatkan pelarut sulit berdifusi dan masuk dalam matriks sampel untuk mencapai senyawa target. Selain itu dengan tegangan permukaan tinggi proses pelarutan juga makin sulit terjadi. Hal tersebut menyebabkan perpindahan masa yang rendah dan waktu ekstraksi menjadi lama. Kondisi ini dapat mempengaruhi kelarutan senyawa target dalam NADES dan berdampak pada efektifitas ekstraksi. Namun, masalah tersebut dapat diatasi dengan dua cara, yaitu: pertama dengan menambahkan air ke dalam komponen NADES dan kedua dengan meningkatkan suhu (Shishov, *et al.*, 2020).

Tabel 9.4 Aplikasi NADES dalam meningkatkan

Sampel	Senyawa target	Kondisi optimum	Pelarut konvensional	Pustaka
Biji Kopi hijau	Kafein dan asam klorogenat	Kolin klorida-sorbitol (4:1), rasio <i>solid-liquid</i> (1:30), 60 menit, air 40%	<i>Maceration</i>	Yuniarti, <i>et al.</i> , 2019
Kayu Secang	Brazilin	Betain-asam laktat (1:1), rasio <i>solid-liquid</i> (1;20), 30 menit	Refluks	Setiawan, <i>et al.</i> , 2020.
Kulit Kayu manis	Transsinamaldehyd dan kumarin	Kolin klorida -asam sitrat (1:1), rasio <i>solid-liquid</i> (1:10), air 40%, waktu 30 menit	Refluks dan maserasi	Aryati, <i>et al.</i> , 2019
Bunga Soka Jawa	Phenol dan antosianin	Kolin klorida-propilen glikol (1:1), 5 menit, <i>temperature</i> 57°C, rasio <i>solid-liquid</i> (1:50)		Oktaviyanti, <i>et al.</i> , 2019

Pada penelitian yang dilakukan oleh Juri'c, *et al.*, 2021, di antara enam jenis kolin klorida-NADES, viskositas terendah dimiliki oleh sorbitol sebagai HBD (1:1), diikuti oleh fruktosa sebagai HBD (1:1). Namun, NADES kolin klorida-sorbitol tidak meningkatkan efisiensi ekstraksi untuk senyawa flavonoid dibandingkan dengan kolin klorida-fruktosa NADES. Beberapa melaporkan bahwa kolin klorida (HBA)-NADES yang mengandung polialkohol seperti gliserol dan gula sebagai HBD lebih efektif dalam mengekstraksi flavonoid dibandingkan dengan etanol 70%.

Oomen *et al.*, 2020 melaporkan bahwa penambahan 40 dan 50% air mampu menurunkan viskositas komponen NADES, yaitu prolin- asam sitrat (1:1, b/b) dan alanin-asam sitrat (1:1, b/b). Media NADES ini diaplikasikan pada ekstraksi *Scutellaria baicalensis*. Tanaman ini mengandung aglikon flavonoid (*baicalein*, *scutellarein*, *wogonin*, dan *oroxilin*) serta glikosida flavonoid (*baicalin*, *wogonoside*, dan

oroxylosid). Kelarutan aglikon flavonoid dan glikosidanya dalam NADES masing-masing meningkat 2-6 kali dan 1,5-1,8 kali, dibandingkan dengan menggunakan metanol hidroalkoholik (80%). Namun, pada penelitian ini juga dilaporkan bahwa terlalu banyak air (60%) dalam matriks NADES (yang bersifat hidrofilik) tidak mempengaruhi hidrofilitas NADES¹³², sehingga tidak meningkatkan jumlah glikosida flavonoid (Oomen, *et al.*, 2020).

Studi lain yang dilakukan oleh Liu, *et al.*, 2019 melaporkan bahwa kurkuminoid (bisdemetoksikurkumin, dimetoksi kurkumin, dan kurkumin), senyawa berwarna kuning dari rimpang kunyit (*Curcuma longa*), sangat larut dalam NADES dengan asam sitrat-glukosa (1:1) yang ditambahkan 15% air dibandingkan dengan pelarut konvensional, seperti etanol dan metanol. Penambahan air yang terlalu banyak (>15–35%) dapat melemahkan ikatan hidrogen antara pelarut dan senyawa target, sehingga menurunkan hasil kurkuminoid. NADES yang optimal untuk ekstraksi senyawa alam memiliki viskositas yang tidak terlalu tinggi maupun terlalu rendah (Liu, *et al.*, 2019). Hal ini menunjukkan bahwa kapasitas NADES untuk melarutkan senyawa target pada tanaman dapat dimodifikasi dengan mengatur jenis komponen NADES pada rasio campuran molar dan kadar air yang tepat dalam NADES (Cao, *et al.*, 2020).

Selain pemilihan NADES yang sesuai untuk meningkatkan kelarutan senyawa target dalam proses ekstraksi, juga perlu mempertimbangkan kondisi ekstraksi, termasuk metode ekstraksi. Beberapa metode ekstraksi dilengkapi alat penghasil energi seperti: pemanasan, energi ultrasonik, dan radiasi gelombang mikro akan menyebabkan peningkatan transfer massa molekul target dari fase sampel padat ke NADES dan mempercepat kesetimbangan (Shishov, *et al.*, 2020).

Wang, *et al.*, 2017 melakukan penelitian untuk memilih DES yang tepat untuk ekstraksi asam klorogenat yang efektif dari daun *blueberry*. Delapan jenis DES yang berbeda dibuat dan diuji. Kolin klorida-1,3-butanadiol (2:1) NADES terpilih dan digunakan dalam proses optimasi kondisi ekstraksi. Parameter optimasi pelarut yang

diuji meliputi kadar air, rasio cair-padat, suhu dan waktu. Ekstraksi daun *blueberry* dengan NADES dibantu dengan ekstraksi kavitas tekanan negatif (NPCE) memberikan efisiensi ekstraksi asam klorogenat yang baik dibandingkan dengan metode ekstraksi lain yang umum digunakan (NPCE>MAE >HRE >UAE). Pada kondisi ini, ekstraksi dilakukan pada suhu rendah (59°C) hanya dalam waktu 24 menit (Wang, *et al.*, 2017).

Studi lain oleh Peng, *et al.*, 2016 menemukan bahwa menggunakan metode MAE untuk mengekstrak lima jenis fenolat (asam klorogenat, asam kafeat, asam 3,4-dikafeoilkuinat, asam 3,5-dikafeoilkuinat, dan asam 4,5-dikafeoilkuinat) dari bunga *Lonicera japonica* dengan NADES lebih efisien daripada metode lain (MAE > UEA dan HRE). Ekstraksi MAE membutuhkan suhu 60°C dan dilakukan dalam waktu 20 menit (Peng, *et al.*, 2016). Dibandingkan dengan MAE, ekstraksi dengan UEA memakan waktu lebih lama (Missan, *et al.*, 2020). Meskipun ada banyak laporan tentang besarnya perolehan kembali senyawa target fenolik dengan MAE (Ruesgas-Ramón, *et al.*, 2017). Namun, juga sangat tergantung pada sifat fisikokimia NADES yang digunakan dan molekul kimia dari senyawa target. Dengan demikian, pemilihan kombinasi NADES dan metode ekstraksi yang tepat tentunya akan dapat meningkatkan kelarutan senyawa target dalam NADES. Efisiensi ekstraksi ini terkait dengan pengurangan volume pelarut yang digunakan untuk ekstraksi, biaya produksi, dan waktu ekstraksi (Ruesgas-Ramón, *et al.*, 2017).

9.4 Stabilitas Senyawa dalam NADES

Jenis komponen NADES berbeda menghasilkan berbagai sifat fisik yang dapat menyebabkan kemampuan ekstraksi yang berbeda (Dai, *et al.*, 2014). Di antara 100 NADES yang diuji, sebagian besar menunjukkan stabilitas pada suhu tinggi (>200°C) (Dai, *et al.*, 2013). Sifat-sifat NADES, seperti stabilitas kimia dan termal, juga terkait dengan penyimpanan senyawa alami (Mbous, *et al.*, 2017). Kemampuan stabilisasi NADES untuk senyawa target sangat penting untuk aplikasi lebih lanjut dalam makanan, kosmetik, dan formulasi sediaan farmasi (Dai, *et al.*,

2014). Salah satu kegunaan NADES adalah untuk stabilisasi pigmen alami tumbuhan (Kudlak, *et al.*, 2015).

Ringkasan aplikasi NADES untuk meningkatkan stabilitas metabolit tanaman ditunjukkan pada Tabel 7.5. Misalnya, stabilitas karthamin, zat warna merah alami utama dari *safflower* (*Carthamus tinctorius*), dilaporkan oleh Dai, *et al.*, 2014. Dalam larutan berair, senyawa ini sangat tidak stabil. Oleh karena itu, umumnya diekstraksi menggunakan larutan alkali. Para peneliti melaporkan bahwa dalam kolin klorida-xylitol pada 40°C, waktu paruh ($t_{1/2}$) karthamin adalah 5 kali lebih stabil dibandingkan dengan 60°C, tetapi 8 kali lebih stabil dalam air pada suhu yang sama. Jadi, kolin klorida-xylitol memberikan efek perlindungan pada karthamin terhadap pemanasan dibandingkan dengan air. Stabilitas karthamin terhadap cahaya dalam larutan NADES berbasis gula juga dipelajari pada suhu kamar. Selama periode 15 hari, larutan terkena cahaya selama 24 jam dibandingkan dengan gelap. Hasilnya menunjukkan bahwa kolin klorida-glukosa dan kolin klorida-sukrosa adalah pelarut yang lebih baik daripada etanol 40% atau air untuk stabilisasi karthamin. NADES ini juga membantu menjaga karthamin tetap stabil selama penyimpanan. Karthamin dapat disimpan dalam kolin klorida NADES yang mengandung sukrosa selama setidaknya 30 hari pada 4°C dan setidaknya 90 hari pada 20°C. Viskositas tinggi NADES yang mengandung gula dan interaksi molekuler antara pelarut dan karthamin kemungkinan besar bertanggung jawab atas efek perlindungan terhadap degradasi yang disebabkan oleh panas, cahaya, dan waktu sehingga meningkatkan stabilitas biokomponen (Dai, *et al.*, 2014).

Tabel 9.5 NADES untuk meningkatkan stabilitas (Hikmawanti, *et al.*, 2021)

Tanaman	Senyawa aktif	NADES optimum	Konvensional
<i>Curcuma longa</i>	Kurkuminoid	Glukosa-asam sitrat (1:1), air 15%, rasio <i>solid-liquid</i> 0,1:10 g/mL, 50°C, 30 menit, pengadukan	Etanol dan metanol
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Antosianin	Na asetat-asam format (1:2), UAE, temperatur ruang, 20 menit	Air, etanol 70%, metanol 80%
<i>Catharanthus roseus</i>	Sianidin	Glukosa-asam laktat (1:5), UAE, 30 menit	
<i>Carthamus tinctorius</i>	Karthamin	Kolin klorida-glukosa, kolin klorida-sukrosa, kolin klorida-xylosa, 40°C, pengadukan, 30 menit	Air dan etanol 40%

Jeliński, *et al.*, 2019 menguji stabilitas serbuk kurkumin dalam metanol dan kolin klorida-gliserol setelah paparan sinar matahari buatan. Setelah 120 menit, konsentrasi kurkumin dalam larutan metanol turun menjadi 5% dari kadar awalnya, sedangkan dalam larutan NADES, kurkumin stabil dan tidak ada degradasi (Jeliński, *et al.*, 2019). Liu, *et al.*, 2019 juga melaporkan kurkumin lebih stabil dalam NADES (glukosa-asam sitrat) daripada etanol dan metanol pada 80°C.

Kemampuan stabilisasi NADES yang tinggi kemungkinan disebabkan oleh interaksi antara kurkuminoid dengan molekul NADES. Atom oksigen dari gugus hidroksil membentuk ikatan hidrogen dengan dua komponen glukosa-asam sitrat, yang dapat melindungi kurkuminoid dari serangan oksigen, yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif (Liu, *et al.*, 2019). Pendapat serupa disampaikan oleh Dai, *et al.*, 2016. Dengan menggunakan sianidin sebagai marker. Peneliti menyelidiki pengaruh pelarut, suhu, dan lama penyimpanan terhadap stabilitas antosianin dalam NADES glukosa-asam laktat, dan menemukan bahwa pada 60°C, sianidin lebih stabil dalam NADES daripada dalam etanol pada pH rendah, dan stabil di kedua pelarut selama 1,5 jam dalam

kondisi tanpa cahaya pada 40°C. Sementara itu, pada 60°C, waktu paruh ($t_{1/2}$) sianidin di NADES lebih dari tiga kali lipat lebih lama dari etanol pH rendah. Dengan demikian jika ingin disimpan harus pada temperatur dingin. Interaksi antarmolekul komponen NADES dengan sianidin, terutama ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil dan karboksil dapat menurunkan mobilitas molekul zat terlarut dan kontak oksigen bebas pada permukaan NADES-udara. Dengan demikian bisa mengurangi kemungkinan kerusakan oksidatif (Dai, *et al.*, 2016).

Stabilitas senyawa pewarna nonpolar, seperti β -karoten dalam NADES dilaporkan oleh Stupar, *et al.*, 2021. Asam lemak NADES yang mengandung asam kaprilat-asam kaprat (3:1) secara optimal mengekstraksi β -karoten dari labu (96,74 g/ml). NADES ini juga meningkatkan kelarutan β -karoten hingga 200,77 g/mL, dibandingkan dengan 107 g/mL ekstraksi menggunakan n-heksana. Selain itu, ekstrak NADES juga menunjukkan stabilitas yang tinggi selama penyimpanan selama 180 hari dalam keadaan tanpa cahaya. β -Karoten dari labu kuning dalam NADES memiliki stabilitas yang baik jika disimpan pada suhu 4°C. Interaksi ikatan hidrogen antara molekul terlarut dan pelarut serta pH berhubungan dengan stabilitas karoten dalam larutan (Stupar, *et al.*, 2021).

Pengaruh lama penyimpanan pada senyawa fenolat dalam ekstrak NADES dibandingkan dengan ekstrak etanolik *rosemary* pada 25°C dan aktivitas antioksidannya dengan DPPH telah diteliti. Penelitian menggunakan model Weibull, waktu paruh ($t_{1/2}$) ekstrak DES berkisar antara 7 hingga 49 hari. Konstanta kinetik (k) dan $t_{1/2}$ ekstrak etanol secara nyata lebih rendah daripada ekstrak NADES (kolin klorida-glisserol) (Barbieri, *et al.*, 2020).

Penelitian lain melaporkan pada suhu 80°C dengan waktu berbeda-beda, empat senyawa tidak larut air, yaitu *andrografolid*, *baicalin*, kurkumin, dan asam oleanolat, menunjukkan stabilitas yang lebih baik dalam larutan NADES daripada larutan natrium klorida 0,9%, yang digunakan sebagai kontrol (Cao, *et al.*, 2020). Epigallocatechin-3-gallat (EGCG) mungkin memerlukan perubahan formulasi dan

penyimpanan karena stabilitasnya dipengaruhi oleh suhu dan waktu. Jeong, *et al.*, 2017 meneliti stabilitas EGCG dalam NADES. Mereka melaporkan bahwa terjadi penurunan kadar EGCG dalam NADES lebih kecil daripada pelarut konvensional (Jeong, *et al.*, 2017). Dari penelitian tersebut interaksi antara NADES dan senyawa dapat memperpanjang masa simpan. Hasil penelitian ini menggambarkan bahwa kemampuan stabilisasi NADES dapat ditingkatkan dengan menurunkan kadar airnya (peningkatan viskositas). Hal ini dipengaruhi oleh ikatan hidrogen yang kuat antara zat terlarut dan NADES (Cao, *et al.*, 2020).

9.5 Bioaktivitas Senyawa dari Ekstrak NADES

Kelarutan dan stabilitas senyawa bioaktif tanaman adalah salah satu kriteria penting untuk memastikan tingkat bioaktivitas untuk efek kesehatan (Ling, *et al.*, 2020). Banyak penelitian yang mengidentifikasi parameter tersebut sebagai kunci keberhasilan uji bioaktivitas ekstrak NADES dari tanaman. Namun, hasilnya tidak selalu berkorelasi dan tidak mudah diinterpretasikan sehingga diperlukan penyelidikan lebih lanjut. Sebagian besar uji bioaktivitas yang dilakukan pada ekstrak NADES adalah uji *in vitro*, seperti uji aktivitas antioksidan, penghambatan enzim, dan uji kultur sel. Sebagian besar pengujian ekstrak NADES ini memberikan hasil yang memuaskan dibandingkan dengan ekstrak pelarut konvensional (Pal, *et al.*, 2019). Tabel 9.6 merangkum beberapa studi tentang uji bioaktivitas ekstrak NADES yang dibahas dalam ulasan ini.

Tabel 9.6 DES/ NADES meningkatkan aktivitas senyawa
(Hikmawanti, *et al.*, 2021)

Tanaman	Senyawa aktif	Metode Non-konvensional dengan NADES	Metode konvensional
<i>Curcuma longa</i>	Kurkuminoid	Glukosa-asam sitrat (1:1), 15% air, rasio <i>solid-liquid</i> 0,1:10 g/mL, 50°C, 30 mnt, pengadukan	Etanol dan metanol

Tanaman	Senyawa aktif	Metode Non-konvensional dengan NADES	Metode konvensional
<i>Ixora javanica</i>	Flavonoid dan antosianin	Kolin klorida-propilen glikol (1:1), 5 mnt, 57°C, rasio <i>solid-liquid</i> 0,2/10 mL, UAE	Etanol
<i>Allium cepa</i>	Fenolik	Kolin klorida-urea-air (1:2:4), MAE 100 W, rasio <i>liquid-solid</i> 0,5497 mL/g, 15.03 mnt	Sokhlet metanol 70%
<i>Caesalpinia sappan</i>	Brazilin	Kolin klorida-gliserol (1:2), 47,6% air, rasio <i>solid-liquid</i> 2:1, UAE, 50 mnt	Etanol 96%

Senyawa antioksidan, seperti polifenol, flavonoid, dan karotenoid, dapat diekstraksi secara efektif menggunakan NADES. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak NADES dapat dilakukan dalam bentuk kit atau kultur sel (Murador et al, 2019). Penelitian Mansinhos, *et al.*, 2021, aktivitas antioksidan terhadap 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan 2,2'-azinobis-(3-etilbenzothiazolin-6-sulfonat) (ABTS+) radikal NADES (kolin ekstrak klorida-urea) menunjukkan hasil yang lebih baik daripada ekstrak dalam pelarut konvensional (air, etanol 80% dan metanol). Namun, di antara variasi NADES yang diuji dalam penelitian ini, ekstrak NADES ini (total fenolik=11.968 g/g ekstrak) tidak mengandung total kandungan fenolik tertinggi. Kandungan total fenolik tertinggi terdapat pada ekstrak prolin asam laktat (total fenolik = 12.709 g/g ekstrak). Ekstrak ini menunjukkan aktivitas yang baik dalam uji kapasitas penyerapan radikal oksigen (ORAC) dan daya antioksidan pereduksi besi (FRAP). Ini mungkin terkait dengan jumlah komponen fenolik individu dalam ekstrak NADES.

Ekstrak kolin klorida-urea efektif dalam mengekstraksi asam ferulat dan asam rosmarinat dari *Lavandula pedunculata* subsp. *lulsitanica* (Chaytor) Franco (Mansinhos, *et al.*, 2021). Ekstrak antioksidan dari limbah buah *Mangifera pajang* jauh lebih larut dalam kolin klorida-asam askorbat (2:1) NADES dengan kadar air 10% dibandingkan dalam

air. Hal ini terjadi mungkin karena interaksi ikatan hidrogen antara gugus hidroksil asam askorbat dan kolin klorida. Interaksi antara komponen NADES ini membantu meningkatkan kapasitas pelarutan, yang dapat diamati dengan analisis resonansi magnetik inti ($^1\text{H-NMR}$).

Sebagai fase cair, NADES sangat penting untuk melarutkan bahan kimia bioaktif bersifat hidrofilik. Ekstrak yang dihasilkan dari NADES juga meningkatkan kapasitas antioksidannya dibandingkan dengan penggunaan air sebagai pelarut ekstraksi (Ling, *et al.*, 2020). Selanjutnya, bila dibandingkan dengan air menunjukkan peningkatan kapasitas untuk melindungi komponen antioksidan terhadap suhu tinggi dan pH, dengan waktu paruh diperpanjang 4,17-25% (Ling, *et al.*, 2021). Namun, Gullón *et al.*, 2019 melaporkan bahwa ekstraksi menggunakan DES dengan kolin klorida dan etilen glikol (1:2) dari *Eucalyptus globulus* tidak meningkatkan aktivitas antioksidan senyawa fenolik terhadap radikal DPPH dibandingkan dengan ekstraksi dengan etanol berair. Peneliti menyatakan bahwa diperlukan evaluasi menyeluruh dengan menggunakan jenis NADES lainnya, yang tentunya dapat digunakan untuk meningkatkan efisiensi DES. Kekuatan antioksidan ekstrak NADES berkaitan dengan interaksi antarmolekul, terutama ikatan hidrogen yang menstabilkan senyawa target.

Jurić *et al.*, 2021 berpendapat bahwa sangat penting untuk mengevaluasi sistem NADES murni yang diuji²⁴⁹ untuk menentukan apakah NADES menyumbangkan atom hidrogen ke radikal DPPH, yang ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna pada larutan DPPH (Doldova, *et al.*, 2021). Misalnya, NADES dengan kandungan gula dapat mempengaruhi hasil uji antioksidan terhadap DPPH. Studi ini juga membuktikan bahwa sistem NADES murni yang diuji tidak memiliki kemampuan untuk mereduksi ion besi. Dengan demikian, disimpulkan bahwa senyawa bioaktif dalam ekstrak *peppermint* dalam NADES yang diuji mengindikasikan aktivitas antioksidan terhadap radikal DPPH dan kemampuan mereduksi ion besi (Jurić, *et al.*, 2021).

Selain itu, menurut Doldolova, *et al.*, 2021, kapasitas antioksidan ekstrak yang diperoleh dengan NADES dapat diuji dengan tepat

menggunakan metode uji daya antioksidan pereduksi ion kupri (Cu^{2+}), yang secara selektif mengoksidasi senyawa antioksidan saja. Dengan demikian, penggunaan komponen gula, asam sitrat, atau asam amino yang rentan terhadap gangguan selama tahap analisis dapat diselesaikan. Hal ini tentunya membuktikan bahwa untuk memperoleh peningkatan aktivitas antioksidan yang optimal perlu dilakukan optimasi pemilihan jenis campuran eutektik untuk melarutkan senyawa target dan tentunya optimasi ekstraksi.

Efek biologis ekstrak NADES pada penghambatan enzim tertentu juga dipelajari oleh banyak peneliti. Dalam pengujian penghambatan enzim (asetilkolinesterase, butirilkolinesterase, dan tirosinase) yang terlibat dalam penyakit neurodegeneratif, ditunjukkan bahwa kecuali asam prolin-laktat terhadap butirilkolinesterase, semua ekstrak NADES berbasis asam organik (pH asam kuat) menunjukkan potensi terbesar untuk menghambat asetilkolinesterase dan butirilkolinesterase. Namun, ekstrak *L. pedunculata* dalam penelitian tersebut tidak memberikan aktivitas penghambatan yang kuat terhadap tirosinase (Mansinhos, *et al.*, 2021). Sebagai perbandingan, menurut Oktaviyanti, *et al.*, 2019, pada konsentrasi 50 mg/mL, senyawa bioaktif yang diekstraksi dari bunga *Ixora javanica* dengan kolin klorida NADES yang mengandung asam organik sebagai HBD (seperti asam laktat 1:2) dan asam malat (1:1)) menghambat enzim tirosinase masing-masing sebesar 65% dan 72% (Oktaviyanti, *et al.*, 2019). Uji aktivitas penghambatan enzim lainnya, yaitu, dipeptidyl peptidase IV (DPP IV), dilakukan pada ekstrak NADES oleh Ahmad, *et al.*, 2020. Penelitian ini melaporkan bahwa kayu manis dan kayu secang diekstraksi, masing-masing dengan kolin klorida-glisol dengan rasio molar berbeda. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak NADES dari masing-masing sampel tidak lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol refluks (82,0 g/mL). Namun, ekstrak NADES dari kombinasi dua sampel tanaman (36,5 g/mL) memiliki nilai IC_{50} yang lebih baik daripada ekstrak etanol (Ahmad *et al.*, 2020). Menurut Sakti, *et al.*, 2019, kolin klorida-glisol merupakan NADES yang hidrofilik, dan polaritasnya lebih besar

daripada air. Perbedaan rasio molar komponen HBA dan HBD sangat berkontribusi terhadap kapasitas ekstraksi senyawa target (brazilin dalam kayu secang dan *transcinnamaldehyde* dan kumarin dari kayu manis) (Sakti, *et al.*, 2019).

Grozdanova, *et al.*, 2020 melaporkan bahwa ekstraksi herba *Sideritis scardica* dan *Plantago major* menggunakan kolin klorida-glisserol (1:2) dengan 30% air dan asam sitrat-1,2-propanadiol (1:4) menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi dan genotoksisitas dan sitotoksisitas yang minimal. Menurut penelitian ini penggunaan asam organik, seperti asam sitrat, dalam media NADES merupakan salah satu faktor yang berkontribusi terhadap peningkatan aktivitas antimikroba. NADES yang mengandung asam sitrat memiliki polaritas mendekati etanol 70%. Penulis melaporkan bahwa kandungan fenolik yang diperoleh lebih baik diekstraksi dengan kolin klorida-glukosa (5:2) dengan 30% air daripada jenis NADES dan etanol 70% yang diuji lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak NADES ini tidak aktif terhadap semua mikroorganisme yang diuji (Grodzanova, *et al.*, 2020).

Penelitian dengan hasil serupa dilaporkan oleh Jurić, *et al.*, 2021. Pada penelitian ini menguji kemampuan ekstrak *peppermint* di NADES untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan mengetahui toksisitas NADES saja. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, ekstrak *peppermint* dalam NADES yang mengandung komponen asam organik, seperti asam malat dan asam sitrat, menunjukkan aktivitas antimikroba yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak lainnya terhadap bakteri Gram-negatif (yaitu, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella enterica*) dan Gram-positif, bakteri (*Staphylococcus aureus*). Demikian juga, NADES murni yang mengandung kedua jenis asam menunjukkan aktivitas antimikroba yang tinggi terhadap bakteri uji. Hal ini diduga karena sifat asam NADES (pH rendah) yang mempengaruhi pH optimal untuk pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, NADES murni yang mengandung gula dan alkohol sebagai HBD tidak menghasilkan efek antimikroba terhadap *E. coli* dan *S. aureus* (Jurić, *et al.*, 2021).

Beberapa NADES (tanpa senyawa aktif dari tumbuhan) telah

dilaporkan memiliki sitotoksitas rendah pada sel HeLa dan MCF-7 ($EC_{50} > 2000$ mg/L) termasuk kolin klorida-glukosa (2:1), kolin klorida-fruktosa (1.9:1), kolin klorida-xilosa (2:1), kolin klorid-gliserol (1:2), dan kolin klorida-asam malat (1:1). Lima ekstrak kulit anggur yang diperoleh dengan menggunakan NADES ini menunjukkan sitotoksitas yang lebih tinggi terhadap sel kanker daripada ekstrak methanol. Kolin klorida-asam malat memiliki aktivitas penghambatan terbesar (Radošević, et al., 2016).

Panić, et al., 2019 menguji aktivitas antiproliferatif ekstrak NADES dari pomace anggur dan pomace zaitun dalam dua jenis sel tumor manusia. Kolin klorida-asam sitrat (2:1) digunakan dalam NADES yang mengandung 30% air. Mereka melaporkan bahwa ekstrak NADES dari kedua pomace lebih sitotoksik dibandingkan ekstrak etanol. Hasil ini terkait dengan tingginya kandungan fenolik ekstrak NADES dan rendahnya nilai pH kolin klorida-asam sitrat yang digunakan sebagai komponen NADES dalam ekstraksi (Panić, et al., 2019).

Cao, et al., 2020 meneliti aktivitas anti-proliferasi dari empat senyawa kimia tanaman, yaitu, *baicalin* (flavonoid), kurkumin (polifenol), *andrografolid* (diterpen lakton), dan asam oleanolat (pentasiklik triterpenoid), yang dilarutkan dalam NADES terhadap sel HepG2 (sel hati manusia) dan MCF-7 (sel kanker payudara manusia). Kolin klorida-asam levulinat (1:2) diidentifikasi sebagai NADES terbaik untuk melarutkan *baicalin* dan kurkumin, sedangkan asetamid-1-propanol (1:8) paling baik untuk pelarutan asam oleanolat, dan asam laktat-1-propanol (2:1) paling baik untuk pelarutan *andrografolid*. Sifat fisikokimia polaritas dan viskositas perlu dipertimbangkan dalam pemilihan NADES. Penggunaan komponen cair lebih menguntungkan karena menghasilkan campuran dengan viskositas rendah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antiproliferatif senyawa yang dilarutkan dalam NADES 1,22-4,19 kali lebih kuat dibandingkan ketika dilarutkan dalam DMSO yang digunakan sebagai kontrol. Para peneliti juga melaporkan peningkatan kelarutan dan stabilitas metabolit tanaman dalam NADES. Peningkatan ini terkait erat dengan ikatan hidrogen dan interaksi dipol-dipol antara

NADES dan fitokimia tersebut (Cao, *et al.*, 2020).

Dalam ekstraksi tanaman, NADES berbasis asam organik sering menghasilkan hasil yang baik dari senyawa hidrofilik, termasuk senyawa fenolik. Hal ini menarik karena berkaitan dengan peningkatan aktivitas biologis dari ekstrak tumbuhan yang diuji. Namun, keasaman tinggi dari asam organik perlu mendapat perhatian khusus karena terkadang dapat menjadi masalah untuk pengujian aktivitas *in vitro*, baik dalam uji enzimatis maupun dalam pengujian pada kultur sel. Penting untuk digarisbawahi bahwa penilaian efek biologis memerlukan kontrol sebagai pembanding sehingga dapat ditentukan apakah efek tersebut disebabkan oleh senyawa aktif, NADES murni, atau interaksi keduanya. Tidak kalah pentingnya untuk menguji toksisitas ekstrak NADES. Jika terbukti toksik, efek biologis dari senyawa bioaktif tersebut dapat terganggu (Murador, *et al.*, 2019).

9.6 Bioavailabilitas Senyawa dalam NADES

Seperti telah disampaikan sebelumnya, beberapa metabolit tanaman memiliki kelarutan air yang rendah. Hal ini berisiko menjadi kendala dalam pengembangan metabolit aktif tumbuhan sebagai obat karena bioavailabilitasnya yang rendah. Bioavailabilitas obat adalah faktor utama dalam keberhasilan sistem penghantaran obat (Kalepu, *et al.*, 2019). Bioavailabilitas yang rendah dapat mengakibatkan dosis yang terlalu tinggi dan kemungkinan efek samping yang merugikan (Cao, *et al.*, 2020). NADES memiliki potensi untuk digunakan sebagai pembawa untuk sediaan farmasi (Sut, *et al.*, 2017). Beberapa penelitian meneliti efek penggunaan NADES sebagai pelarut senyawa tertentu. Peningkatan kelarutan dapat meningkatkan bioavailabilitas oral senyawa (Zao, *et al.*, 2020). Rangkuman kajian bioavailabilitas senyawa bioaktif pada NADES disajikan pada Tabel 9.7.

Tabel 9.7 NADES meningkatkan bioavailabilitas senyawa metabolit
(Hikmawanti, *et al.*, 2021)

Senyawa	NADES	Rute	Hasil
Kurkumin	Kolin klorida-gliserol (1:1)	-	Kelarutan dalam media lambung dan usus meningkat
Rutin	Prolin-asam glutamat	Oral	Memperbaiki farmakokinetika dengan peningkatan kadar obat dalam darah
Berberin	Prolin-asam malat-asam laktat- air (1:0,2:0,3:0,5)	Oral	Memperbaiki farmakokinetika dengan peningkatan kadar obat dalam darah
Kafein	Kolin klorida- glutamin dan kolin klorida – fenil alanin	Topikal	Cocok untuk penggunaan topikal ketika diformulaikan sebagai emulsi minyak dalam air dan gel Meningkatkan <i>loading</i> obat dan stabilitas

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelarutan kurkumin dalam NADES sekitar 3,5 kali lebih banyak dalam cairan lambung buatan dan sekitar 2 kali lebih cairan usus buatan besar daripada bubuk kurkumin dalam dan cairan usus buatan. Hasil ini menunjukkan bahwa NADES dapat digunakan sebagai bahan untuk meningkatkan kelarutan kurkumin untuk pemberian oral (Jeli, *et al.*, 2019). Dalam studi farmakokinetik *in vivo* alkaloid berberin dalam NADES menunjukkan bahwa kadar berberin dalam darah meningkat dari 2-20 kali pada tikus setelah 6 jam pemberian larutan NADES yang mengandung berberin dengan dosis 50 mg/kg dibandingkan dengan suspensi air berberin hidroklorida. Kelarutan berberin terbaik dalam NADES pada suhu 22°C diperoleh pada campuran prolin-urea (2:1) (12,3 mg/mL) dan prolin-asam malat-laktat-air-asam (1:0.2:0.3:0.5) (25,0 mg/mL). Dengan demikian, ada hubungan antara peningkatan bioavailabilitas dan sifat kelarutan dari berbagai campuran eutektik. Studi farmakokinetik lain juga dilakukan oleh Faggian, *et al.*, 2016 menggunakan rutin yang dilarutkan dalam NADES. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar rutin dalam plasma darah meningkat lebih lama pada tikus Balb/c yang diberikan

rutin dalam NADES yang mengandung asam prolin-glutamat (2:1) dibandingkan dengan dosis oral suspensi air (Faggian, *et al.*, 2016).

Funari, *et al.*, 2019 melaporkan bahwa madu dan NADES yang terbuat dari kolin klorida-propilen glikol atau asam laktat dapat menggantikan etanol dan air untuk ekstraksi propolis hijau (Funari, *et al.*, 2019). Dai, *et al.*, 2020 melaporkan efek peningkatan kualitas madu pada Astragali Radix dibandingkan dengan NADES. Hasil mereka menunjukkan bahwa karakteristik fisikokimia madu dan NADES serupa. Keduanya dapat meningkatkan konsentrasi pelarutan senyawa aktif, seperti total flavonoid dan saponin. Konsentrasi plasma kalikossin-7-O-D-glukosida (isoflavonoid) pada tikus meningkat 12 jam setelah pemberian senyawa ini dalam madu dan NADES. Tong, *et al.*, 2021 menemukan bahwa L-proline-acetamid memiliki efisiensi ekstraksi yang lebih tinggi pada hidroksisafflor yellow A (HSYA) (32,43 mg/g) dan anhidrosafflor yellow B (ASYB) (8,44 mg/g). Senyawa ini merupakan senyawa bioaktif utama dari bunga kering *Carthamus tinctorius*, yaitu 21,3% dan 46,6% lebih tinggi dari air. Kadar plasma senyawa pada tikus jantan Sprague-Dawley meningkat setelah pemberian oral dengan dosis 2 g ekstrak/kg dibandingkan dengan suspensi ekstrak berair. Hal ini menunjukkan bahwa HSYA dan ASYB segera diserap dan kemudian dieliminasi dalam 12 jam (Tong, *et al.*, 2021).

9.7 Aplikasi NADES dalam Farmasi dan Nutrasetikal

Kemampuan NADES untuk meningkatkan kelarutan, stabilitas, bioaktivitas, dan bioavailabilitas senyawa target telah dibahas sebelumnya. NADES mampu mengekstrak berbagai senyawa target bioaktif, baik hidrofilik maupun hidrofobik. Keuntungan lain dari NADES adalah bahwa mereka aman (toksisitas rendah, tidak mudah menguap, dan tidak mudah meledak). Sifat-sifat tersebut membuat NADES berpotensi berguna dalam industri makanan, formulasi farmasi dan nutrasetikal, serta kosmetik (Choi, *et al.*, 2019). Sistem pengantaran obat transdermal adalah penggunaan obat DES/NADES yang menarik dan menjanjikan (Kudlak, *et al.*, 2015).

Cynaropicrin merupakan senyawa dari ekstrak daun *Cynara cardunculus* yang berpotensi sebagai sumber nutrasetikal. Senyawa ini berhasil diperoleh dengan kadar tinggi menggunakan NADES asam dekanoat-tetrabutylamonium klorida dan 70% air, pada 25°C, selama 60 menit, dan rasio padat-cair 1:30. Aplikasi NADES dalam formulasi farmasi dilakukan oleh Liu, *et al.*, 2018. Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil bahwa NADES dapat membantu formulasi kurkumin (molekul hidrofilik) dalam bentuk hidrogel yang kemudian digunakan sebagai model untuk mengembangkan ekstrak kasar *Schisandra chinensis*. Komponen NADES yang dipilih adalah mannosidimetilurea-air (2:5:5). NADES ini memiliki daya larut yang baik untuk kurkumin. Proses pembuatan hidrogel dilakukan dengan memasukkan kurkumin ke dalam kitosan-alginat (Liu, *et al.*, 2018).

Selain itu, Basar, *et al.*, 2020 melaporkan bahwa melalui penggunaan emulsi dan 10% DES kolin klorida-butadienol, β -karoten secara efektif dienkapsulasi dalam kapsul konsentrat protein whey. Jika dibandingkan dengan β -karoten bebas (larutan n-heksana). Metode enkapsulasi ini memberikan kapasitas karotenoid tertinggi dan *stability* terhadap foto-oksidasi setelah 180 menit paparan cahaya (Basar, *et al.*, 2020). Hasil ini memberikan nilai dasar-dasar dalam enkapsulasi bioaktif.

Sifatnya yang tidak mudah menguap dan kesulitan menghilangkannya secara langsung setelah ekstraksi membuat NADES pelarut alternatif yang dapat diterapkan, dengan potensi untuk menjadi bagian alami dari produk farmasi (Chemat, *et al.*, 2019) dan formulasi nutrasetikal (Fanali, *et al.*, 2020; Faggian, *et al.*, 2016). Dengan demikian, dapat mengurangi tahapan produksi dari serangkaian proses panjang yang terlibat dalam pembuatan obat-obatan dari alam bahan. Untuk masa depan, aplikasi NADES dalam makanan, farmasi, dan nutrasetikal formulasinya masih perlu diteliti dan dikembangkan.

Dari paparan di atas dapat diperoleh gambaran pemanfaatan NADES dalam pengembangan obat bahan alam. Secara ringkas pemanfaatan tersebut dapat dilihat pada Gambar 9.11.



Gambar 9.11 Pemanfaatan NADES dalam pengembangan obat herbal

Daftar Pustaka

- 12 Ahmad, I.; Arifianti, A.E.; Sakti, A.S.; Saputri, F.C.; Mun'im, A. Simultaneous Natural Deep Eutectic Solvent-Based Ultrasonic-Assisted Extraction of Bioactive Compounds of Cinnamon Bark and Sappan Wood as a Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitor. *Molecules* 2020, 25, 3832.
- 198 Aryati WD, Nadhira A, Febianli D, Fransisca F, Mun'im A. Natural deep eutectic solvents ultrasound-assisted extraction (NADES-UAE) of trans cinnamaldehyde and coumarin from cinnamon bark [*Cinnamomum burmannii* (Nees & T. Nees) Blume]. *J Res Pharm*, 24(3):389-398.
- Alam MA, Gul Muhammad, M. Nuruzzaman K, M. Mofijur, Yongkun L, Wenlong X, Jingliang X. Choline chloride-based deep eutectic solvents as green extractants for the isolation of phenolic compounds from biomass. *J Cleaner Prod*, 309:127445,2021.

Barbieri, J.B.; Goltz, C.; Cavalheiro, F.B.; Toci, A.T.; Igarashi-Mafra, L.; Mafra, M.R. Deep eutectic solvents applied in the extraction and stabilization of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) phenolic compounds. *Ind. Crops Prod.* 2020, 144, 112049.

Basar, A.O.; Prieto, C.; Durand, E.; Villeneuve, P.; Sasmazel, H.T.; Lagaron, J. Encapsulation of β -carotene by emulsion electrospraying using deep eutectic solvents. *Molecules* 2020, 25, 981.

Bi, Y.; Chi, X.; Zhang, R.; Lu, Y.; Wang, Z.; Dong, Q.; Ding, C.; Yang, R.; Jiang, L. Highly efficient extraction of mulberry anthocyanins in deep eutectic solvents: Insights of degradation kinetics and stability evaluation. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2020, 66, 102512.

Cao, J.; Cao, J.; Wang, H.; Chen, L.; Cao, F.; Su, E. Solubility improvement of phytochemicals using (natural) deep eutectic solvents and their bioactivity evaluation. *J. Mol. Liq.* 2020, 318, 113997.

5 Chemat, F.; Abert-Vian, M.; Fabiano-Tixier, A.S.; Strube, J.; Uhlenbrock, L.; Gunjevic, V.; Cravotto, G. Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges. *TrAC Trends Anal. Chem.* 2019, 118, 248–263.

38 Choi, Y.H.; Verpoorte, R. Green solvents for the extraction of bioactive compounds from natural products using ionic liquids and deep eutectic solvents. *Curr. Opin. Food Sci.* 2019, 26, 87–93.

Dai, Y.; Jin, R.; Verpoorte, R.; Lam, W.; Cheng, Y.-C.; Xiao, Y.; Xu, J.; Zhang, L.; Qin, X.-M.; Chen, S. Natural deep eutectic characteristics of honey improve the bioactivity and safety of traditional medicines. *J. Ethnopharmacol.* 2020, 250, 112460.

43 Dai, Y.; Rozema, E.; Verpoorte, R.; Choi, Y.H. Application of natural deep eutectic solvents to the extraction of anthocyanins from *Catharanthus roseus* with high extractability and stability replacing conventional organic solvents. *J. Chromatogr. A* 2016, 1434, 50–56.

105 Dai, Y.; Verpoorte, R.; Choi, Y.H. Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*). *Food Chem.* 2014, 159, 116–121.

18

Dai, Y.; van Spronsen, J.; Witkamp, G.J.; Verpoorte, R.; Choi, Y.H. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Anal. Chim. Acta* 2013, 766, 61–68.

Doldolova, K.; Bener, M.; Lalikoğlu, M.; Aşçı, Y.S.; Arat, R.; Apak, R. Optimization and modeling of microwave-assisted extraction of curcumin and antioxidant compounds from turmeric by using natural deep eutectic solvents. *Food Chem.* 2021, 353, 129337.

Faggian, M.; Sut, S.; Perissutti, B.; Baldan, V.; Grabnar, I.; Dall'Acqua, S. Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) as a tool for bioavailability improvement: Pharmacokinetics of rutin dissolved in proline/glycine after oral administration in rats: Possible application in nutraceuticals. *Molecules* 2016, 21, 1531.

Fanali, C.; Posta, S.D.; Dugo, L.; Gentili, A.; Mondello, L.; de Gara, L. Choline-chloride and betaine-based deep eutectic solvents for green extraction of nutraceutical compounds from spent coffee ground. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2020, 189, 113421.

126

Fuad FM, Masrina Nadzir M, Azlina Harun Kamaruddin. Hydrophilic natural deep eutectic solvent: A review on physicochemical properties and extractability of bioactive compounds. *J Mol Liq*, 339:116923, 2021.

Funari, C.S.; Sutton, A.; Carneiro, R.L.; Fraige, K.; Cavalheiro, A.J.; Bolzani, V.D.S.; Hilder, E.F.; Arrua, R.D. Natural deep eutectic solvents and aqueous solutions as an alternative extraction media for propolis. *Food Res. Int.* 2019, 125, 108559.

161

Grozdanova, T.; Trusheva, B.; Alipieva, K.; Popova, M.; Dimitrova, L.; Najdenski, H.; Zaharieva, M.M.; Ilieva, Y.; Vasileva, B.; Miloshev, G.; et al. Extracts of medicinal plants with natural deep eutectic solvents: Enhanced antimicrobial activity and low genotoxicity. *BMC Chem.* 2020, 14, 73.

182

Gullón, B.; Muñiz-Mouro, A.; Lú-Chau, T.A.; Moreira, M.T.; Lema, J.M.; Eibes, G. Green approaches for the extraction of antioxidants from eucalyptus leaves. *Ind. Crops Prod.* 2019, 138, 111473.

228

Hikmawanti NPE, Ramadon D, Jantan I, Mun'im A. Natural Deep Eutectic Solvents (NADES): Phytochemical Extraction Performance Enhancer for Pharmaceutical and Nutraceutical Product Development. *Plants*, 10(10):2091, 2020.

Jeliński, T.; Przybyłek, M.; Cysewski, P. Natural Deep Eutectic Solvents as Agents for Improving Solubility, Stability and Delivery of Curcumin. *Pharm. Res.* 2019, 36, 116.

Jurić, T.; Mičić, N.; Potkonjak, A.; Milanov, D.; Dodić, J.; Trivunović, Z.; Popović, B.M. The evaluation of phenolic content, in vitro antioxidant and antibacterial activity of *Mentha piperita* extracts obtained by natural deep eutectic solvents. *Food Chem.* 2021, 362, 130226.

116

Kalepu, S.; Nekkanti, V. Insoluble drug delivery strategies: Review of recent advances and business prospects. *Acta Pharm. Sin.* B2015, 5, 442–453.

65

Kudlak, B.; Owczarek, K.; Namieśnik, J. Selected issues related to the toxicity of ionic liquids and deep eutectic solvents-A review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2015, 22, 11975–11992.

Ling, J.K.U.; Chan, Y.S.; Nandong, J.; Chin, S.F.; Ho, B.K. Formulation of choline chloride/ascorbic acid natural deep eutectic solvent: Characterization, solubilization capacity and antioxidant property. *Lwt-Food Sci. Technol.* 2020, 133, 1100961.

Ling, J.K.U.; Chan, Y.S.; Nandong, J. Degradation kinetics modeling of antioxidant compounds from the wastes of *Mangifera pajang* fruit in aqueous and choline chloride/ascorbic acid natural deep eutectic solvent. *J. Food Eng.* 2021, 294, 110401.

Liu, Y.; Zhang, Y.; Chen, S.-N.; Friesen, J.B.; Nikolić, D.; Choules, M.P.; McAlpine, J.B.; Lankin, D.C.; Gemeinhart, R.A.; Pauli, G.F. The influence of natural deep eutectic solvents on bioactive natural products: Studying interactions between a hydrogel model and *Schisandra chinensis* metabolites. *Fitoterapia* 2018, 127, 212–219.

- 56
Liu, Y.; Li, J.; Fu, R.; Zhang, L.; Wang, D.; Wang, S. Enhanced extraction of natural pigments from *Curcuma longa* L. using natural deep eutectic solvents. *Ind. Crop. Prod.* 2019, 140, 111620.
- 5
Liu, Y.; Friesen, J.B.; McAlpine, J.B.; Lankin, D.C.; Chen, S.-H.; Pauli, G.F. Natural Deep Eutectic Solvents: Properties, Applications, and Perspectives. *J. Nat. Prod.* 2018, 81, 679–690.
- Mansinhos, I.; Gonçalves, S.; Rodríguez-Solana, R.; Ordóñez-Díaz, J.L.; Moreno-Rojas, J.M.; Romano, A. Ultrasonic-assisted extraction and natural deep eutectic solvents combination: A green strategy to improve the recovery of phenolic compounds from *Lavandula pedunculata* subsp. *lusitanica* (Chaytor) Franco. *Antioxidants* 2021, 10, 582.
- Mbous, Y.P.; Hayyan, M.; Hayyan, A.; Wong, W.F.; Hashim, M.A.; Looi, C.Y. Applications of deep eutectic solvents in biotechnology and bioengineering-Promises and challenges. *Biotechnol. Adv.* 2017, 35, 105–134.
- 18
Misan, A.; Nadpal, J.; Stupar, A.; Pojic, M.; Mandic, A.; Verpoorte, R.; Choi, Y.H. The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2020, 60, 2564–2592.
- 196
Nadhira, A. Ekstraksi kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Blume) dengan natural deep eutectic solvents berbasis kolin klorida secara ultrasound-assisted extraction. Skripsi, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, 2021.
- Nisrina, N. Optimasi ekstraksi biji *Leucaena leucocephala* dengan natural deep eutectic solvents berbasis kolin klorida-gula alkohol secara ultrasound-assisted extraction terhadap senyawa sulfidril dan mimosin. Skripsi, Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, 2021.
- 5
Murador, D.C.; de Mesquita, L.M.; Vannuchi, N.; Braga, A.R.C.; de Rosso, V.V. Bioavailability and biological effects of bioactive compounds extracted with natural deep eutectic solvents and ionic liquids: Advantages over conventional organic solvents. *Curr. Opin. Food Sci.* 2019, 26, 25–34.

- Oktaviyanti, N.D.; Kartini; Mun'im, A. Application and optimization of ultrasound-assisted deep eutectic solvent for the extraction of new skin-lightening cosmetic materials from *Ixora javanica* flower. *Heliyon* 2019, 5, e02950.
- Oomen, W.W.; Begines, P.; Mustafa, N.R.; Wilson, E.G.; Verpoorte, R.; Choi, Y.H. Natural Deep Eutectic Solvent Extraction of Flavonoids of *Scutellaria baicalensis* as a Replacement for Conventional Organic Solvents. *Molecules* 2020, 25, 617.
- Pal, C.B.T.; Jadeja, G.C. Microwave-assisted deep eutectic solvent extraction of phenolic antioxidants from onion (*Allium cepa* L.) peel: A Box–Behnken design approach for optimization. *J. Food Sci. Technol.* 2019, 56, 4211–4223.
- Panić, M.; Stojković, M.R.; Kraljić, K.; Škevin, D.; Redovniković, I.R.; Srček, V.G.; Radošević, K. Ready-to-use green polyphenol-extracts from food by-products. *Food Chem.* 2019, 283, 628–636.
- Peng, X.; Duan, M.-H.; Yao, X.-H.; Zhang, Y.-H.; Zhao, C.-J.; Zu, Y.-G.; Fu, Y.-J. Green extraction of five target phenolic acids from *Lonicerae japonicae* Flos with deep eutectic solvent. *Sep. Purif. Technol.* 2016, 157, 249–257.
- Radošević, K.; C'urko, N.; Srček, V.G.; Bubalo, M.C.; Tomašević, M.; Ganić, K.K.; Redovniković, I.R. Natural deep eutectic solvents as beneficial extractants for enhancement of plant extracts bioactivity. *LWT-Food Sci. Technol.* 2016, 73, 45–51.
- Ruesgas-Ramón, M.; Figueroa-Espinoza, M.C.; Durand, E. Application of Deep Eutectic Solvents (DES) for Phenolic Compounds Extraction: Overview, Challenges, and Opportunities. *J. Agric. Food Chem.* 2017, 65, 3591–3601.
- Sakti, A.S.; Saputri, F.C.; Mun'im, A. Optimization of choline chloride-glycerol based natural deep eutectic solvent for extraction bioactive substances from *Cinnamomum burmannii* barks and *Caesalpinia sappan* heartwoods. *Heliyon* 2019, 5, e02915.

- Setiawan H, Angela IL, Rohmah N, ⁴Wijaya O, Abdul Mun'im A. Application of Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) for Sappan Wood (*Caesalpinia sappan* L.) extraction to test for inhibition of DPP IV activity. *J Res Pharm*, 24(3):380-388, 2020.
- Shekaari, H.; Mokhtarpour, M.; Faraji, S.; Zafarani-Moattar, M.T. Enhancement of curcumin solubility by some choline chloride-based deep eutectic solvents at different temperatures. *Fluid Phase Equilibria* 2021, 532, 112917.
- Shishov, A.; Pochivalov, A.; Nugbienyo, L.; Andruch, V.; Bulatov, A. Deep eutectic solvents are not only effective extractants. *Trends Anal. Chem.* 2020, 129, 115956.
- ²⁵ Smith, E. L., Abbott, A. P., & Ryder, K. S. (2014). Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. *Chemical Reviews*, 114(21), 11060–11082.
- ²⁷⁸ Stupar, A.; Šeregelj, V.; Ribeiro, B.D.; Pezo, L.; Cvetanović, A.; Mišan, A.; Marrucho, I. Recovery of β -carotene from pumpkin using switchable natural deep eutectic solvents. *Ultrason. Sonochem.* 2021, 76, 105638.
- Sut, S.; Faggian, M.; Baldan, V.; Poloniato, G.; Castagliuolo, I.; Grabnar, I.; Perissutti, B.; Brun, P.; Maggi, F.; Voinovich, D.; et al. Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) to enhance berberine absorption: An in vivo pharmacokinetic study. *Molecules* 2017, 22, 1921.
- Tong, X.; Yang, J.; Zhao, Y.; Wan, H.; He, Y.; Zhang, L.; Wan, H.; Li, C. Greener extraction process and enhanced in vivo bioavailability of bioactive components from *Carthamus tinctorius* L. by natural deep eutectic solvents. *Food Chem.* 2021, 348, 129090.
- Torres-Vega, J.; Gomez-Alonso, S.; Perez-Navarro, J.; Pastene-Navarrete, E. Green Extraction of Alkaloids and Polyphenols from *Peumus boldus* Leaves with Natural Deep Eutectic. *Plants* 2020, 9, 242.
- ⁴³ Vanda, H.; Dai, Y.; Wilson, E.G.; Verpoorte, R.; Choi, Y.H. Green solvents from ionic liquids and deep eutectic solvents to natural deep eutectic solvents. *Comptes Rendus Chim.* 2018, 21, 628–638.

18

Wang, T.; Xu, W.-J.; Wang, S.-X.; Kou, P.; Wang, P.; Wang, X.-Q.; Fu, Y.-J. Integrated and sustainable separation of chlorogenic acid from blueberry leaves by deep eutectic solvents coupled with aqueous two-phase system. *Food Bioprod. Process.* 2017, 105, 205–214.

12

Yuniarti E, Saputri FC, Mun'im A. Natural Deep Eutectic Solvent Extraction and Evaluation of Caffeine and Chlorogenic Acid from Green Coffee Beans of *Coffea canephora*. *Indian J Pharm Sci*, 81(6):1062-1069, 2019.

74

Zhao, Q.; Luan, X.; Zheng, M.; Tian, X.-H.; Zhao, J.; Zhang, W.-D.; Ma, B.-L. Synergistic mechanisms of constituents in herbal extracts during intestinal absorption: Focus on natural occurring nanoparticles. *Pharmaceutics* 2020, 12, 128.

74

APLIKASI NADES PADA EKSTRAKSI SENYAWA TARGET DARI KULIT KAYU MANIS DAN BATANG SECANG

10.1 Latar belakang

Kayu secang (*Cesalpinia sappan*) dan kayu kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Blume) banyak digunakan di Indonesia dalam pangan dan obat tradisional. Penggunaan bisa dalam bentuk tunggal atau kombinasi.

10.2 Kayu manis

Bagian kayu manis yang paling banyak digunakan adalah kulit kayu. Kulit kayu manis berasal dari tanaman yang mudah tumbuh dan ditemukan di Indonesia. Indonesia diketahui sebagai negara penghasil terbesar kulit kayu manis di dunia. Tanaman obat kayu manis ini telah dibuktikan oleh penelitian sebagai sumber potensial senyawa bioaktif yang digunakan untuk mengobati banyak penyakit. Kayu manis adalah salah satu tanaman obat yang saat ini mendapat banyak perhatian. Daun dan kulit batang kayu manis biasanya digunakan sebagai rempah-rempah dan minyak esensial (Ahmad, *et al.*, 2013). Selain sebagai bahan rempah untuk makanan dan minuman, kulit manis juga banyak digunakan sebagai tanaman obat tradisional. Salah satu penggunaan dari kulit kayu manis adalah untuk mengatasi diabetes.

10.2.1 Deskripsi Tanaman

Kayu manis merupakan pohon dengan tinggi 10-15 m. Akar tunggang dan berwarna coklat, batangnya tumbuh tegak, tipe percabangan monopodial dan berwarna abu¹⁰⁷ kecokelatan. Daun tunggal, duduk daun tersebar (*folia sparsa*), bentuk lanset, ujung dan pangkal runcing, tepi daun rata, panjang 4-14 cm, lebar 1½-6 cm, pertulangan melengkung, daun muda berwarna merah keunguan, dan setelah tua berubah menjadi hijau tua pada permukaan atas dan hijau pucat pada permukaan bawah, tekstur permukaan atas halus dan kasar pada bagian bawah (Wahyuni, *et al.*, 2016).

Bunga majemuk, berbentuk malai, terletak di ketiak daun (bunga terminal), berambut halus, panjang tangkai 4-12 mm. Kelopak berjumlah 6, warna putih kekuningan. Mahkota berjumlah 5, warna putih kekuningan. Benang sari berjumlah 12, tersusun dalam 3-4 lingkaran, mempunyai kelenjar di tengah tangkai sari, panjang kepala sari 1-5 mm dan berwarna kuning. Buah buni, bentuk bulat telur, panjang ± 1 mm, buah muda berwarna hijau, dan setelah buah tua berwarna hitam. Biji kecil, bentuk bulat telur dan berwarna hijau saat biji masih muda, dan berwarna hitam ketika biji menua (Wahyuni, *et al.*, 2016). Daun, batang, dan bunga kayu manis tertera pada **Gambar 10.1**.



Sumber: Wahyuni, *et al.*, 2016

Gambar 10.1. Daun Kayu Manis (a), Batang Kayu Manis (b), dan Bunga Kayu Manis (c)

Tanaman *Cinnamomum burmannii* (Nees & T. Nees) Blume memiliki beberapa sinonim, di Bulgaria disebut *Indonezijska kanela*; Cina: *xiang jiao ye, shan rou gui, yin xiang*; Denmark: *indonesisk kanel*; Belanda: *indonesische kaneel, korintje-cassia*; Finlandia: *jaavankaneli*; Prancis: *canelle de padang, cannelle de malaise, cenelle de java*; Jerman: *birmazimt, birmazimtbaum, indonesisches zimt, padangzimt*; Hungaria: *indonéz fahéj, jávai kasszia*; Indonesia: kayu manis, kayu manis Padang, *ki amis*; Jepang: *jawa Nikkei, kinamomumu burumanii*; Korea: *chyaba gyepi, jyaba gyepi*; Polandia: *cynamonowiec burmánski*; Portugal: *falsa-canforeira*; Romania: *scorțoară indoneziană*; Russia: *indoneziiskaya koritsa, korichnik burmana, korichinik iavanskaia*; Spanyol: *canela de java*; Thailand: *op choei chawa, op choei thai, suramarit*; Vietnam: *quê rành, quê trèn* (Ravidan, 2017). Sementara itu, sumber-sumber tanaman kulit kayu manis disajikan pada Tabel 10.1.

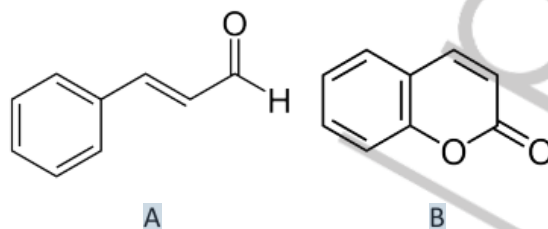
Tabel 10.1 Sumber tanaman kulit kayu manis

Nama Latin	Nama Umum
<i>Cinnamomum verum Presl</i> (Sinonim: <i>C. zeylanicum Nees</i>)	True cinnamon atau ceylon cinnamon
<i>C. cassia Presl</i>	Cassia, Chinese cinnamon, "Cassia lignea"
<i>C. burmannii Blume</i>	Indonesian cassia
<i>C. loureii Nees</i>	Vietnamese cassia
<i>C. tamala (Buch.-Ham.) Nees & Eberm</i>	Indian cassia

10.2.2 Kandungan kimia

Kulit kayu manis mengandung beberapa senyawa kimia antara lain: minyak atsiri. Dalam minyak atsiri tersebut terkandung: transsinamaldehyd, sinamilasetat, eugenol, *L-borneol, caryophyllene* oksida, *b-caryophyllene, L-bornyl acetate, E-nerolidol, α -cubebene, α -terpineol, terpinolene, dan α -thujene* (Rao dan Gan, 2014). Selain itu juga mengandung minyak atsiri dengan kandungan tertinggi transsinamaldehyd. Dengan kandungan ini maka kulit kayu manis lazim diunakan sebagai

perisa pada industri makanan. Transsinamaldehyd ini juga digunakan sebagai marker dari kulit kayu manis. Kandungan kumarin dalam kulit manis perlu menjadi perhatian karena dalam jumlahnya yang tinggi dapat memberikan efek yang tidak diinginkan (Sakti, *et al.*, 2019). Selain itu kulit kayu manis juga mengandung burmanol, β -sitosterol, β -sitosteone, kumarin, scopoletin, pheophytin-b, pheophytin-a, ficaprenol-10, asam p-hidroksibenzoat, vanillin, asam vanilat, asam protocatekuat, kobusinol B, 4-acetonil-3,5-dimetoksi-p-quinol, (+)-syringaresinol, (+)-yangambin dan (+)-sesamin. Sebagai senyawa marker dari kulit kayu manis adalah transsinamaldehyd dan kumarin (Ahmad, *et al.*, 2013). Struktur kimia keduanya dapat dilihat pada gambar 10.2.



Gambar 10.2 Struktur kimia A) Transsinamaldehyd dan B) Kumarin

10.2.3 Farmakologi Kulit Kayu Manis

Kayu manis sudah dikenal sebagai pengontrol kadar gula darah. Aktivitas penurunan kadar gula darah ini sudah teruji baik klinis maupun preklinis. Ekstrak air dengan kandungan senyawa polifenolnya dilaporkan dapat meningkatkan produksi protein-protein yang terkait dengan persinyalan insulin dan peningkatan aktivitas transpor GLUT-4 (Cao, *et al.*, 2007). Pemberian ekstrak kayu manis 200 mg/kg selama 6 minggu pada tikus diabetes tipe 2 dapat menurunkan kadar gula darah dan meningkatkan kadar insulin serum serta kadar HDL-kolesterol. Selain itu, dapat menurunkan kadar trigliserida, kolesterol total, dan menghambat aktivitas α -glukosidase usus. Dengan hasil tersebut terlihat bahwa ekstrak kulit kayu manis berperan penting dalam pengaturan kadar gula darah dan lipid (Kim, *et al.*, 2006).

Pengujian secara klinik dengan desain *double-blind randomized*

control trials pemberian ekstrak air kayu manis terstandar dengan dosis 250 mg/kapsul dua kali/hari selama satu bulan pada sukarelawan 137 pasien diabetes dengan kadar gula darah puasa >6,1 mmol/L atau postprandial 2 jam setelah makan >7,8 mmol/L terjadi penurunan kadar gula darah yang lebih baik dibandingkan placebo. Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian suplementasi ekstrak kayu manis 500 mg selama satu bulan mampu kadar gula darah, kolesterol total, dan kolesterol LDL dan mampu meningkatkan sensitivitas insulin (Anderson, *et al.*, 2016).

10.3 Kayu Secang

Tanaman secang sudah lama dikenal di Indonesia sebagai pewarna merah. Bagian penting dari tanaman ini ada kayunya. Kayu secang diperoleh dari tanaman *Caesalpinia sappan*. Bagian penting dari tanaman ini adalah bagian batangnya mengandung bahan pewarna merah yang larut dalam air, seperti brazilin, protosappanin, sappan kalkon dan *haematoxylum*. Karena itu pewarna merah ini digunakan untuk mewarnai kulit tekstil. Selain itu, juga digunakan untuk pewarna makanan dan juga obat tradisional. Salah satu khasiat dari kayu secang adalah juga untuk mengontrol kadar gula darah. Karena memiliki mekanisme kerja yang berbeda, kedua simplisia ini sering dikombinasi. Salah satu bahan minuman yang cukup terkenal ada Bir Pletok dan Wedang Uwuh.

10.3.1 Deskripsi, Taksonomi, dan Morfologi

Secang adalah tanaman berbatang berupa pohon kecil berduri, dengan pertumbuhan yang cepat dan tingginya dapat mencapai 10 m. Diameter kayunya berkisar antara 15-30 cm. Dalam waktu satu tahun secang dapat mencapai ketinggian 3-5 m, bunganya mulai mekar pada bulan April, dan berlanjut hingga Desember. Secang dibudidayakan sebagai tanaman hortikultura. Dapat tumbuh dengan baik di semua jenis tanah dan tumbuh subur di tanah yang berwarna merah (*red soil*) di sejumlah negara, seperti Sri Lanka, India, Myanmar, Thailand, Kamboja, Laos, Cina Selatan, dan Vietnam. Bagian penting dari tanaman

ini adalah *heartwood* (hati kayu atau kayu teras), yang mengandung zat pewarna yang larut dalam air seperti brazilin, protosappanin, *sappan chalcone* dan *haematoxylum*. Zat pewarna diekstraksi dengan merebus potongan kayu dalam air. Brazilin adalah pewarna merah yang digunakan untuk mewarnai kulit, sutra, katun, wol, berbagai jenis serat, batik, pencetakan belacu, furnitur, lantai, dan bulu. Tawas atau besi sulfat dapat digunakan untuk meningkatkan pengikatan pewarna ke material yang akan diwarnai (Bechtold, 2009; Al-Dhubiad, 2012).

Kerajaan	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Angiosperma</i>
Bangsa	: <i>Fabales</i>
Suku	: <i>Fabaceae</i>
Marga	: <i>Caesalpinia</i>
Jenis	: <i>Caesalpinia sappan</i> L.

Secang merupakan pohon belukar berukuran kecil hingga sedang dengan tinggi 4,8 hingga 10 m, diameter dapat mencapai 14 cm, kulit batangnya berduri berwarna cokelat keabu-abuan, ranting dan tunas muda berbulu, dan berwarna kecokelatan (Gambar 10.3). Akar berwarna putih hingga kemerahan, tidak berbau. Daun berbentuk *stimulate*, *bipinnate* dengan panjang 20–45 cm, lebar 10–20 cm. Daun terdiri dari 8–16 pasang *pinnae*, masing-masing *pinnae* terdiri dari 10–20 pasang oblong dengan ukuran panjang 10–20 mm dan lebar 6–10 mm. Lembaran subsesil daun sangat miring pada bagian pangkal dan membulat pada bagian *apex* daun. *Penducle* primer bunga antara 30–40 cm, dengan bagian berbunga berukuran 9–15 cm. Bunganya harum, berukuran 2–3 cm, mahkota bunga berwarna kuning dengan benang sari berjumlah 10 helai. Buah berbentuk polong dengan permukaan yang halus, berbentuk pipih tebal, miring lonjong, ketika kering berwarna cokelat, seperti kayu, memiliki panjang 7–10 cm dan lebar 3–4 cm. Biji secang berbentuk *ellipsoid pipid* dengan ukuran 18–20 mm x 10–12 mm, dan berwarna coklat ketika masak (Mariappan, et al., 2014).



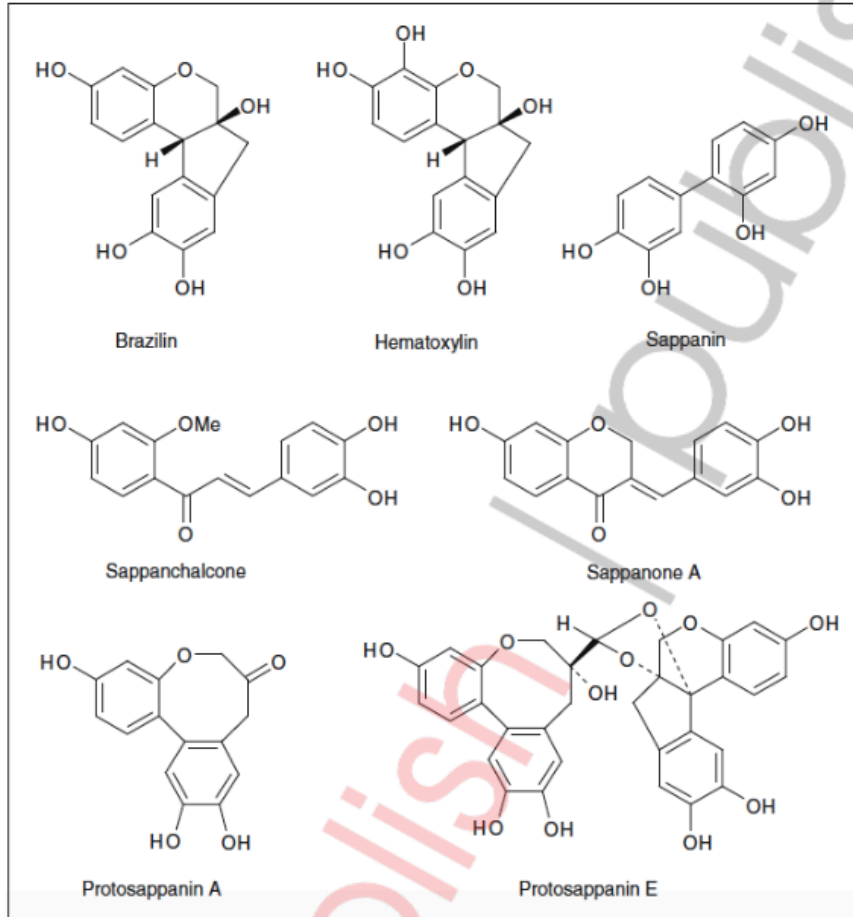
Sumber: (A) Badami, et.al., 2004; (B) Sari dan Suhartati, 2016; (C), Koleksi pribadi
Gambar 10.3. (A) Bagian bunga dan daun, (B) Kulit Batang, dan (C) simplisa kayu secang

10.3.2 Kandungan Kimia Kayu Secang

Kandungan utama dari kayu secang adalah senyawa homio-soflavonoid atau senyawa fenolik, seperti brazilin, brazilein, brazilane, tetraasetilbrazilin, 3'-Ometilbrazilin, 4'-O-metilbrazilin, hematoksilin, sappankalkon, 3- deoksisappankalkon, sappanone A dan B, 3-hidroksisappanone B, 3- deoksisappanone B, 3'-deoksisappanone B, sappanol, episappanol, 3'-deoksi-4-O-metil sappanol, 3'-deoxy-4-O metilepisappanol, 3'-O-methyl sappanol, 3'-O-metilisappanol, 3', 4-O metilsappanol, 4-di-O-metilepisappanol, caesalpin J dan P; 7,3',4'-trihidroksi- 3-benzil-2H-chromene, caesalpiniafenol G dan H, quercetin-3,7-di-O- metil eter. Selain itu, kayu secang juga mengandung senyawa *derivate protosappanin* atau dibenzoxin seperti Protosappanin A-D, E1 dan E2, isoprotosappanin B, protosappanin A dimetil asetal, protosappanin C dimetil asetal, caesappin A dan B, 10-O-metilprotosappanin B, 10-O-metil-iso-protosappanin B, neoprotosappanin (Wagner, *et al.*, 2016).

Senyawa yang dikandung selain brazilin adalah protosappanin, sappan kalkon, dan *hematoxylin*. Kayu secang diketahui memiliki aktivitas antidiabetes. Ekstrak kayu secang menghambat beberapa enzim yang berperan pada pengaturan kadar gula darah, seperti α -glukosidase dan dipeptidyl peptidase IV (Sakti, *et al.*, 2019) Beberapa struktur kimia

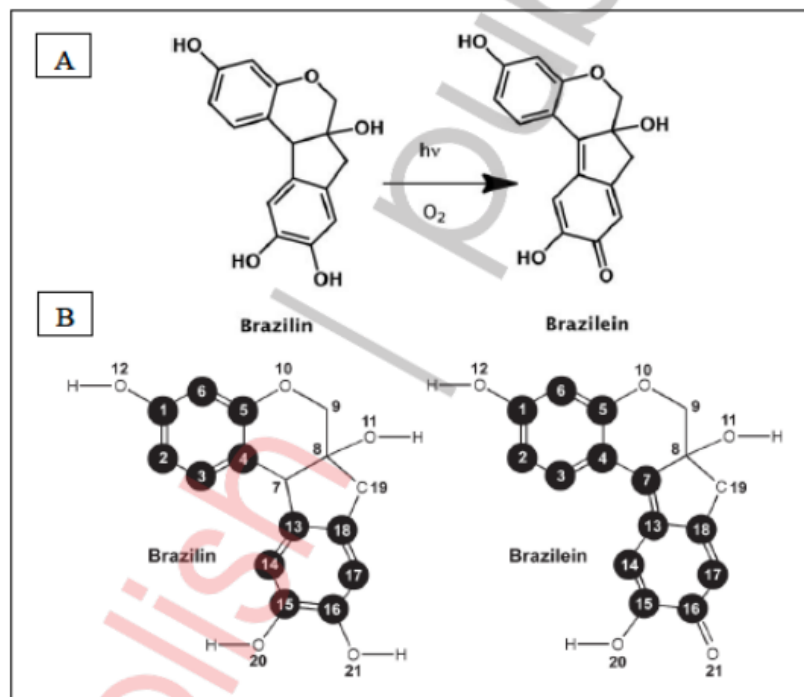
dari senyawa yang dikandung pada kayu secang dapat dilihat pada gambar 10.4.



Gambar 10.4. Struktur senyawa utama pada kayu secang (Wagner, *et al.*, 2016)

Senyawa utama pada kayu secang adalah brazilin. Senyawa ini merupakan golongan isoflavonoid, yang memberi warna merah, tetapi senyawa ini dilaporkan mudah teroksidasi jika terpapar oksigen. Reaksi akan lebih cepat dengan adanya paparan cahaya. Reaksi perubahan degradasi brazilin dapat dilihat pada Gambar 10.5. Strukturnya mirip

dengan *hematoxylin*. Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi, saat ini brazilin dan dapat disintesis (Sakti, 2019). Pada tahun 2010, Yen *et al.*, bisa menyintesis dan mengisolasi enantiomer brazilin yang terdapat dalam bahan alam yaitu (+)-brazilin yang kemudian dikonversi menjadi (+)-brazilien (Yen, *et al.*, 2010). Senyawa ini dapat dilarutkan dalam pelarut polar, dengan demikian ekstraksi kayu secang dapat dilakukan dengan metanol dan etanol.



[Sumber : (A) Albini, et.al., 2018; (B) Dapson dan Bain, 2015]

Gambar 10.5 Perubahan struktur kimia brazilin karena proses oksidasi

Pada Tabel 10.2 berikut ini diperlihatkan sebaran brazilin dalam berbagai tanaman. Brazilin ini ternyata tidak hanya terdapat pada genus *Caesalpinia*, tetapi juga dari tanaman lain. Masing-masing genus juga spesifik hanya ditemukan di negara-negara tertentu (Dapson dan Bain, 2015).

Tabel 10.2 Sebaran brazilin dalam berbagai tanaman

Nama Latin	Negara
<i>Caesalpinia echinata</i>	Brazil
<i>Caesalpinia sappan</i>	Asia Tenggara
<i>Caesalpinia violacea</i> (Sinonim: <i>C. brasiliensis</i>)	Kepulauan Karibia
<i>Hematoxylum brasiletto</i>	Amerika tengah, Utara, dan Selatan

Sumber: Dapson dan Bain, 2015

10.3.3 Farmakologi Kayu Secang

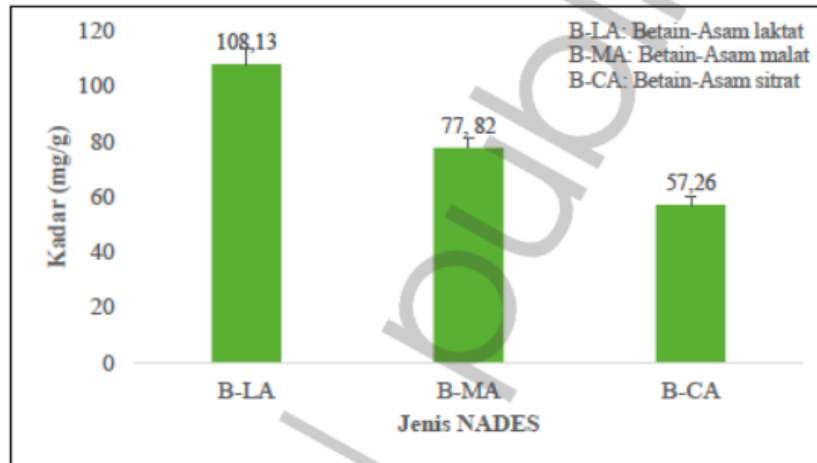
Kayu secang secara tradisional dipercaya untuk antidiabetes dan komplikasinya. Senyawa utama pada kayu secang dilaporkan dapat menghambat gluconeogenesis hepatic melalui peningkatan fruktosa-2-6-bisfosfat. Senyawa ini merupakan intermediet yang berperan penting pada produksi glukosa hepatic (You, *et al.*, 2005). Selain itu secang juga dapat menghambat beberapa enzim yang berperan penting dalam pengaturan kadar glukosa dalam darah, seperti α -glukosidase dan DPP-IV. Kayu secang juga dikenal dengan beberapa aktivitas farmakologi lain, seperti antimikroba, antiinflamasi, mengatasi penyakit kardiovaskular, antioksidan, dan antitrombotik.

Kayu secang dilaporkan cukup aman. Pada uji toksisitas akut dan subakut ekstrak air kayu secang pada dosis 5000 mg/kg BB tidak menimbulkan gejala toksik pada tikus. Juga pada dosis 1000 mg/kg BB selama 30 hari tidak menimbulkan abnormalitas pada subjek uji. Ekstrak etanol kayu secang dengan dosis 50 mg/kg BB pada tikus dapat menurunkan kadar glukosa darah lebih baik dibandingkan kontrol.

10.4 Ekstraksi Kayu Secang Menggunakan NADES

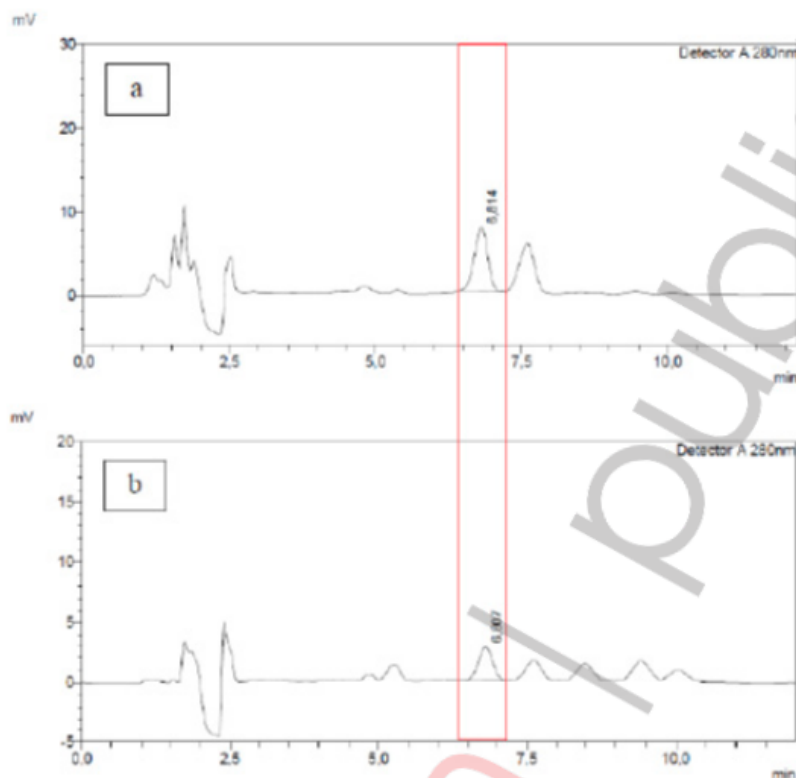
Ekstrak kayu secang dengan NADES telah dilakukan oleh Angela, 2019. Pada penelitian tersebut dilakukan penapisan NADES terbaik untuk ekstraksi. NADES yang digunakan betain sebagai HBA, sedangkan pasangannya sebagai HBD digunakan asam laktat, asam

malat dan asam sitrat. Penambahan air sebanyak 30% memberikan kondisi terbaik untuk menurunkan viskositas dan mempercepat transfer masa. Hasil penapisan larutan NADES untuk kayu secang dapat dilihat pada Gambar 10.6.



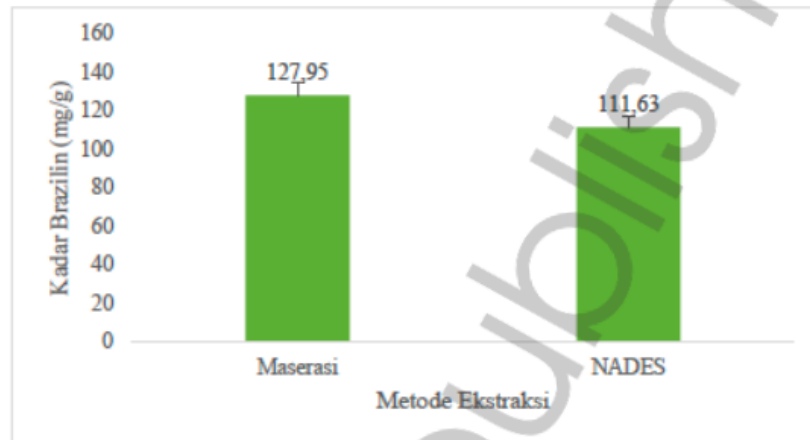
Gambar 10.6 Pengaruh NADES terhadap kadar brazilin (Angela, 2019)

Pada penapisan ini diketahui bahwa NADES betain-asam laktat memberikan hasil terbaik dibandingkan dua asam organik lainnya. Sebagai *marker* ekstrak kayu secang digunakan brazilin. Kadar brazilin dalam ekstrak NADES ditetapkan menggunakan HPLC. Kromatogram HPLC hasil penapisan ekstrak NADES kayu secang dapat dilihat pada Gambar 10.7.



Gambar 10.7 Profil HPLC kromatogram standar brazilin dan ekstrak NADES kayu secang (Angela, 2020)

Pada optimasi kondisi ekstraksi NADES kayu secang dihasilkan kondisi optimum betain asam-laktat (1:1), waktu ekstraksi 30 menit dan penambahan air 50%. Pada kondisi optimum tersebut diperoleh kadar brazilin cukup tinggi yaitu 111,63 mg/g. Namun, hasil ini sedikit lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil ekstraksi konvensional, menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Pada maserasi diperoleh kadar brazilin 127,95 mg/g serbuk kayu secang. Perbandingan jumlah brazilin terekstraksi antara NADES dan maserasi dapat dilihat pada Gambar 10.8.



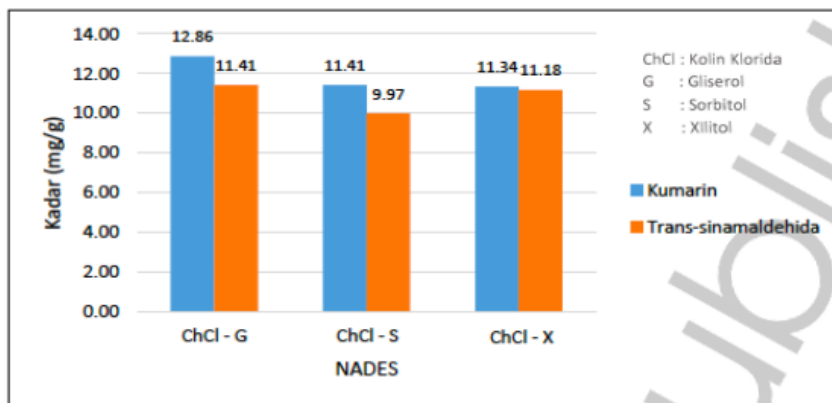
Gambar 10.8 Perbandingan kadar brazilin hasil ekstraksi NADES dan Maserasi

10.5 Ekstraksi Kulit kayu Manis Menggunakan NADES

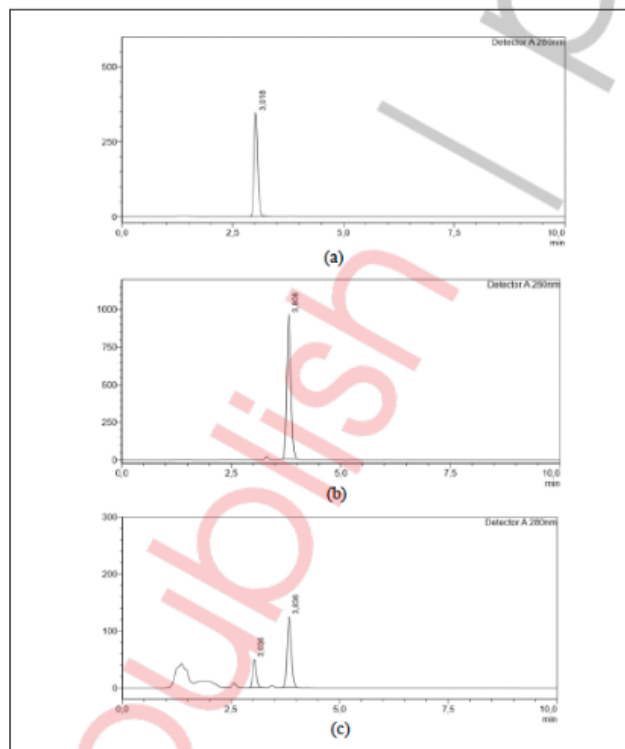
Nadhira, 2019 melakukan ekstrak NADES-UAE kayu manis dengan basis kolin klorida sebagai HBA dan HBD polialkohol, yaitu gliserol, sorbitol, dan xylitol. Sebagai *marker* untuk ekstrak kayu manis adalah transsinamaldehyd dan kumarin.

Pada penapisan awal pelarut kadar senyawa maker tertinggi pada NADES-UAE dengan kombinasi kolin klorida-gliserol. Kadar transsinamaldehyd sedikit lebih rendah dibandingkan dengan kadar kumarin (Gambar 10.9). Kadar kumarin tidak begitu diharapkan karena sudah diketahui bahwa kumarin memiliki efek yang tidak diinginkan pada jumlah besar.

Validasi metode HPLC dilakukan sebelum digunakan untuk penetapan kadar transsinamaldehyd dan kumarin pada ekstrak NADES. Hasil validasi diperoleh bahwa metode HPLC yang dilakukan valid. Hasil HPLC untuk transsinamaldehyd, kumarin dan ekstrak dapat dilihat pada Gambar 10.10.

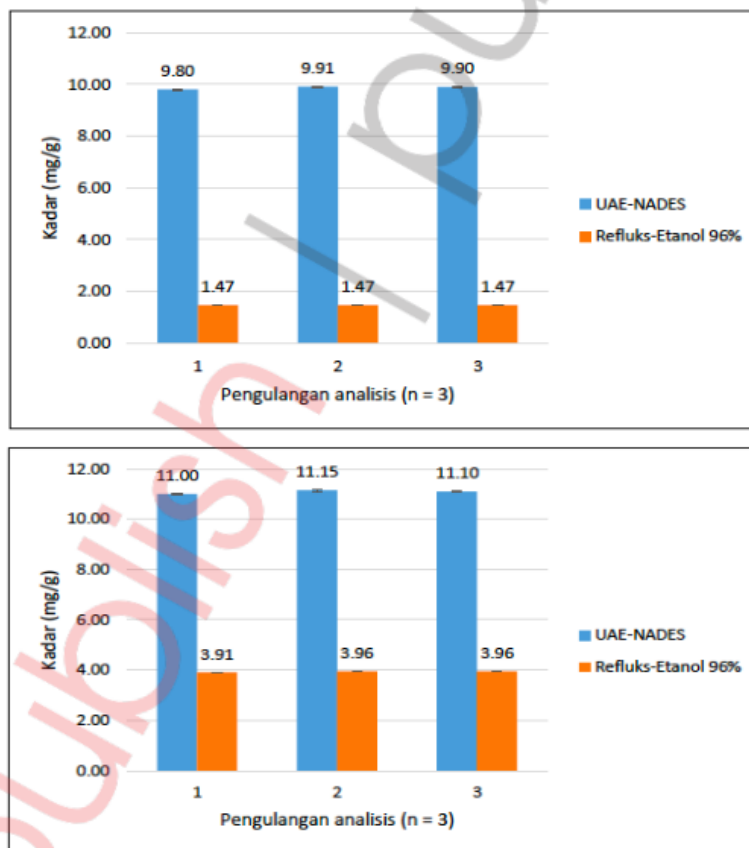


Gambar 10.9 Pengaruh NADES terhadap kadar transsinamaldehyd dan kumarin



Gambar 10.10 HPLC kromatogram (a) standar kumarin, (B) standar transsinamaldehyd, dan (c) ekstrak kulit batang kayu manis (Nadhira, 2019)

Pada optimalisasi kondisi ekstraksi NADES-UAE diperoleh dengan parameter kolin klorida-gliserol (1:1), dengan waktu ekstraksi 40 menit dan penambahan air 50%. Hasil optimalisasi memperlihatkan bahwa ekstrak kulit batang kayu manis menggunakan NADES kolin klorida-gliserol jauh lebih tinggi daripada hasil ekstraksi menggunakan refluks dan etanol 96% sebagai pelarut. Kedua kadar *biomarker*, yaitu transsinamaldehyd dan kumarin, kondisi optimum dengan perolehan kadar tertinggi didapatkan dari hasil analisis RSM, yaitu 9,8707 mg/g untuk transsinamaldehyda dan 11,0938 mg/g untuk kumarin.

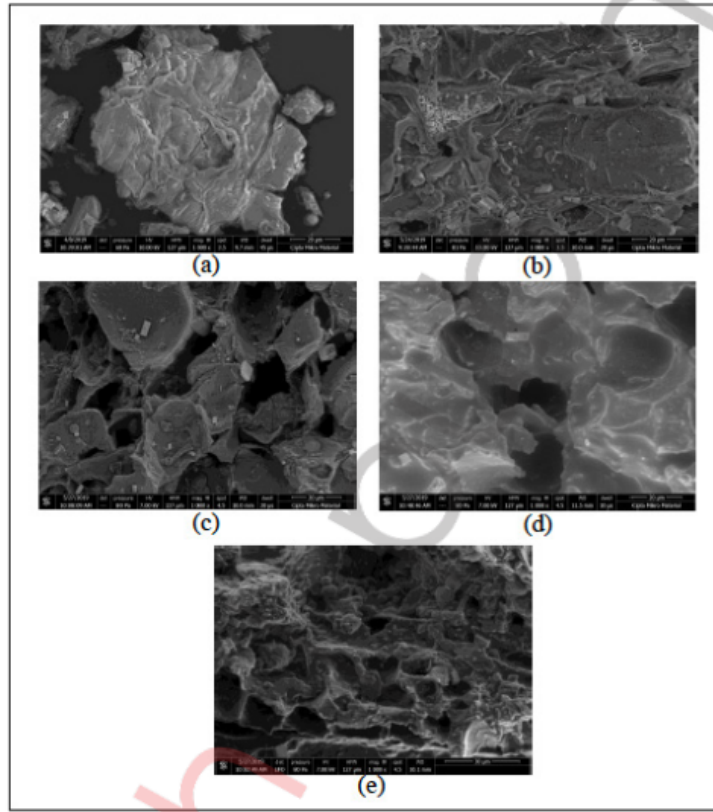


Gambar 10.11 Perbandingan hasil ekstraksi dengan NADES dan refluks kadar transsinamaldehyd kiri dan kumarin kanan (Nadira, 2019)

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, ekstraksi senyawa transsinamaldehyd dan kumarin menggunakan NADES secara UAE menghasilkan kadar lebih tinggi dibandingkan dengan nilai kadar kedua senyawa tersebut yang didapatkan dari ekstraksi menggunakan etanol 96% secara refluks (Gambar 10.11). Hal ini terkait fenomena kavitasi yang terjadi pada proses UAE yang menyebabkan meningkatnya tekanan terhadap permukaan matriks sehingga permukaan matriks hancur dan terjadi kontak langsung antara senyawa target dalam sel dengan NADES (Panja, 2017). Selain itu, polaritas dari NADES mempunyai rentang yang lebih luas karena dapat menarik senyawa target yang polar hingga nonpolar (Plotka-Wasyilka, et al, 2017).

Faktor yang memengaruhi hasil ekstraksi menggunakan NADES antara lain jenis dan komposisi NADES, viskositas atau penambahan air, waktu ekstrak, dan rasio pelarut-sampel. Mekanisme ekstraksi NADES selain melalui pembentukan ikatan hidrogen, juga melakukan perusakan dinding sel atau matriks sampel. Pada ekstraksi NADES-UAE ekstrak kayu manis dilakukan pengamatan dinding sel menggunakan SEM (*scanning electron microscopy*).

Hasil SEM dapat dilihat pada Gambar 10.12. Berdasarkan hasil SEM ekstrak NADES-UAE menggunakan kolin-klorida-sorbitol dapat menyebabkan kerusakan sel paling besar dibandingkan NADES lainnya. Hal ini juga sesuai dengan hasil ekstraksi berupa kadar senyawa *biomarker*. Begitu juga dibandingkan hasil ekstrak konvensional menggunakan refluks etanol 96%. Dengan demikian pelarut NADES tidak hanya mengekstraksi melalui mekanisme *rinsing*, penetrasi, dan difusi untuk terjadinya transfer masa dan juga secara tidak langsung melalui perusakan dinding sel. Hal ini berakibat proses transfer masa lebih cepat dan efektif.



Gambar 10.12 Hasil SEM (a) serbuk sampel kulit kayu manis, (b) refluks etanol 96%, (c) kolin klorida-glisерol, (d) kolin klorida-sorbitol, dan (e) kolin klorida-xilitol

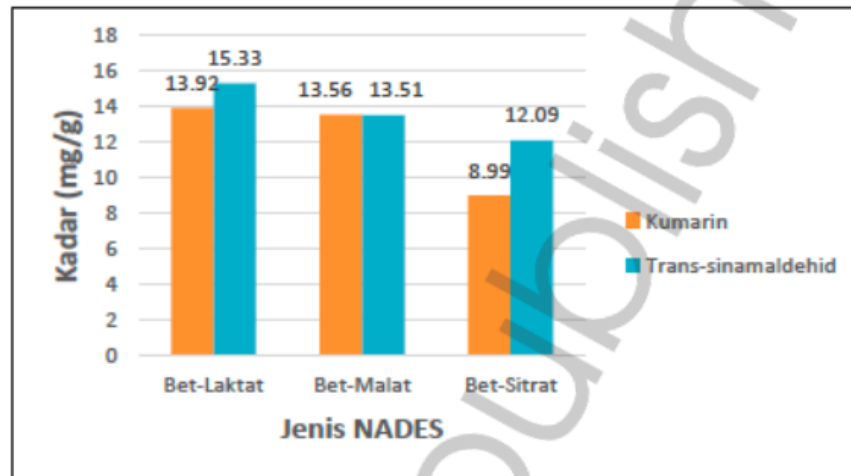
Ekstrak kulit batang manis dengan NADES juga dilakukan oleh Fransisca 2019. NADES yang digunakan betain sebagai HBA dan sebagai HBD asam laktat, asam malat, dan asam sitrat dengan perbandingan (1:1). Sebagai bahan baku digunakan kulit kayu manis yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor. Gambar kulit kayu manis sebelum dan setelah diserbuk dapat dilihat pada Gambar 10.13.



Gambar 10.13 Kulit kayu manis a) setelah dirajang b) dan setelah diserbukkan c) (Fransisca, 2019)

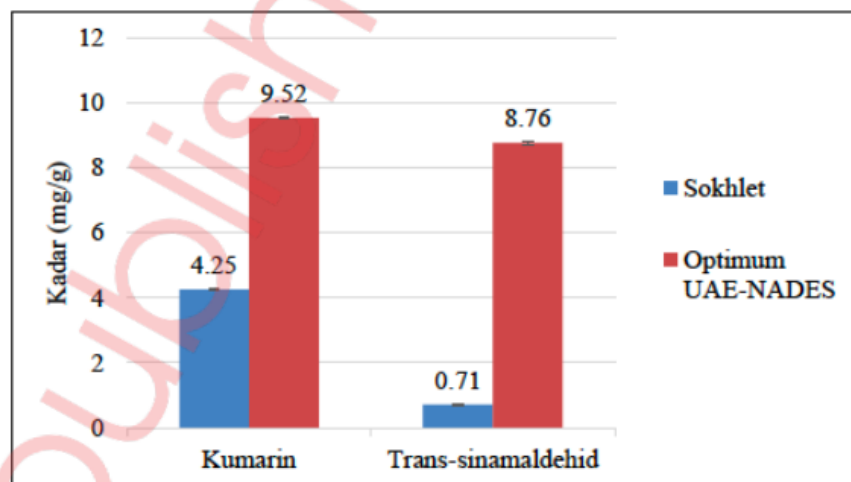
Hasil penapisan 3 pelarut NADES dapat dilihat bahwa campuran betain-asam laktat memberikan hasil tertinggi baik pada kadar transsinamaldehyd maupun kumarin. Namun, pada ketiganya kadar transsinamaldehyd lebih tinggi daripada kada kumarin. Hal ini berbeda pada ekstrak NADES sebelum. Pada NADES kolin klorida-poliol kumarin lebih tinggi dibandingkan dengan transsinamaldehyd. Dari gambaran tersebut terlihat bahwa komposisi NADES dapat memberikan selektivitas penarikan senyawa yang berbeda-beda.

Faktor penting dari NADES yang mempengaruhi hasil ekstraksi salah satunya adalah polaritas. Polaritas NADES terkait dengan ikatan hidrogen yang terbentuk antara HBA dan HBD baik intermolekul maupun intramolekul. Oleh karena itu, makin banyak ikatan hidrogen menyebabkan polaritas pelarut meningkat. Viskositas betain-asam malat lebih rendah dibandingkan dengan dua NADES lainnya. Seperti diketahui viskositas pelarut sangat mempengaruhi hasil ekstraksi. Hasil ekstrak NADES kayu manis berbasis betain dapat dilihat pada Gambar 10.14.



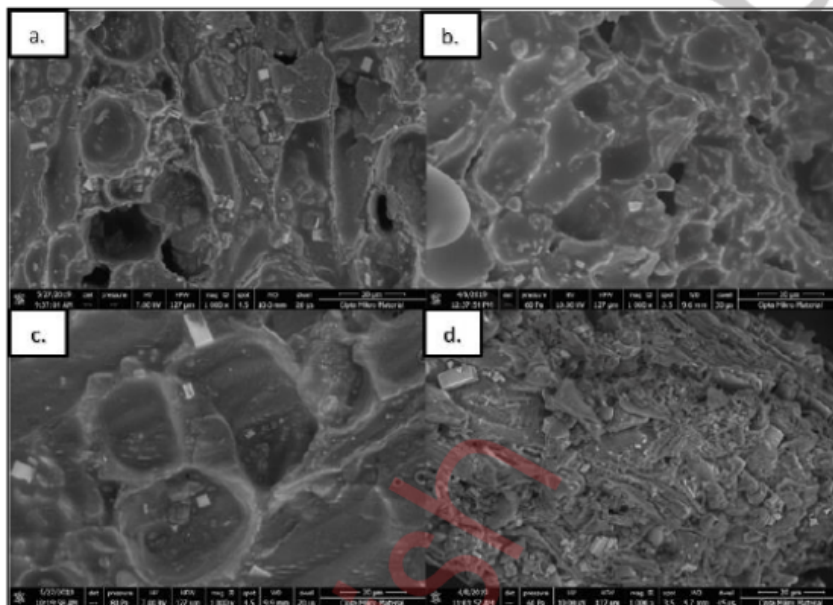
Gambar 10.14 Hasil penapisan NADES kulit batang kayu manis (Fransisca, 2019)

Pelarut terpilih adalah betain asam laktat. Pelarut ini dioptimasi kondisi ekstraksinya. Hasil optimalisasi di aplikasi pada ekstraksi kulit kayu manis. Kondisi optimum reaksi NADES betain-asam laktat (1:1), waktu 30 menit, penambahan air 40%.



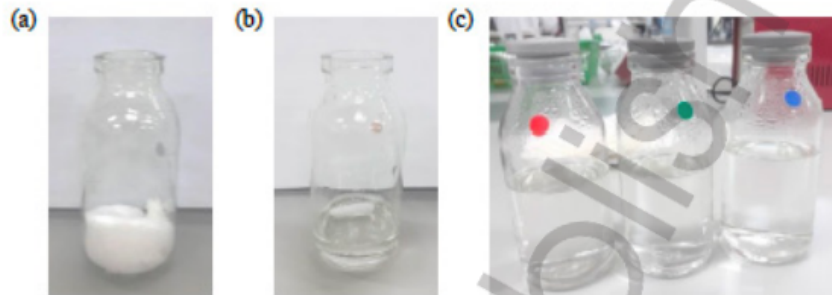
Gambar 10.15 Perbedaan kadar transsinamaldehyd dan kumarin pada dua metode ekstraksi (Fransisca, 2019)

Pada kondisi ini kadar kumarin yang diperoleh adalah 9,52 mg/g, sedangkan transsinamaldehyd sebesar 8,76 mg/g. Hasil ekstraksi yang diperoleh dari NADES pada kondisi optimum jauh lebih besar dibandingkan dengan metode konvensional sokhlets menggunakan etanol 96% (ditunjukkan pada Gambar 10.15) dan hasil analisis SEM untuk melihat perubahan kondisi dinding sel setelah dan sebelum ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 10.16.



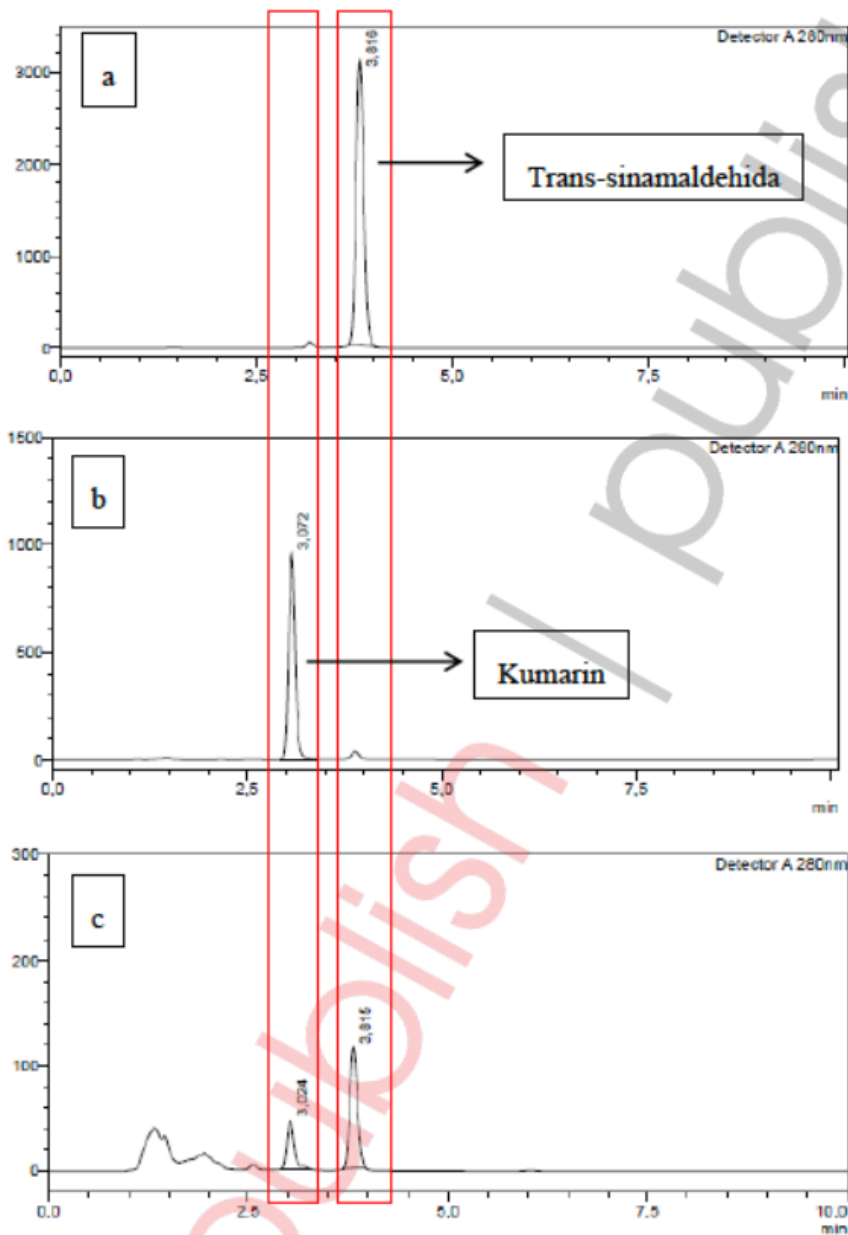
Gambar 10.16 Hasil SEM dari kulit kayu manis a) betain asam laktat b) betain-asam malat, c) betain-asam sitrat, dan d) Soklet etanol 96% (Fransisca, 2019)

Febianli, 2019 juga melakukan ekstraksi NADES terhadap kulit batang kulit kayu manis dengan HBA kolin klorida, sedangkan sebagai HBD menggunakan asam sitrat, asam malat, dan asam laktat dengan perbandingan (1:2). Komponen penyusun NADES seperti kolin klorida dan asam-asam organik berupa padatan. Setelah dicampurkan terbentuk larutan kental. Oleh karena itu, harus dilakukan penambahan air untuk menurunkan viskositasnya (Gambar 10.17).



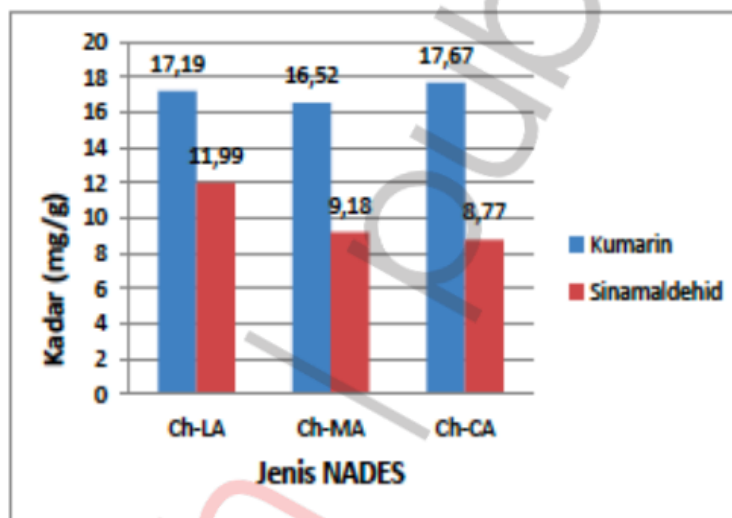
Gambar 10.17 (a) serbuk kolin klorida, (b) NADES dan (c) NADES setelah penambahan air (Febianli, 2019)

Biomarker yang digunakan untuk mengevaluasi keberhasilan ekstraksi NADES kulit batang kayu manis, digunakan transsinamaldehid dan kumarin. Penetapan kadar dapat dikukan simultan keduanya dengan menggunakan HPLC. Metode tersebut telah berhasil divalidasi terlebih dahulu. Sistem HPLC yang digunakan sudah divalidasi dengan kondisi HPLC menggunakan Shimadzu LC-20AT, kolom Intersil C18 ODS-3 5mm; 4,6x150 mm; fase gerak: 0,04% (v/v) asam asetat glasial dalam air: asetonitril (40:60), laju alir 1,0 ml/menit, vol injeksi 20ml; detektor UV-vis 280 nm. Hasil pengujian HPLC dapat dilihat pada gambar 10.18.



Gambar 10.18 Kromatogram (a) Standar transsinamaldehyda, (b) standar kumarin, dan (c) Ekstrak NADES kulit batang kayu manis (Febianli, 2019)

Sama seperti penelitian ekstraksi NADES untuk kulit kayu manis sebelumnya. Pada tahap awal dilakukan pencarian komposisi pelarut terbaik untuk mengekstraksi *biomarker* kulit kayu manis. Kombinasi NADES terbaik adalah kolin klorida asam sitrat (1:2). Ekstrak menggunakan pelarut NADES ini memberikan kadar kumarin jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kadar transsinamaldehyd (Gambar 10.19).



Ket: ch-LA (kolin klorida-asam laktat), ch-MA (kolin klorida-asam malat), ch-CA (kolin klorida-asam sitrat)

Gambar 10.19 Pengaruh jenis NADES terhadap kadar transsinamaldehyd dan kumarin (Febianli, 2019)

Seperti sudah diketahui polaritas NADES mempengaruhi kemampuan pelarut menarik senyawa marker transsinamaldehyd dan kumarin. Semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk menyebabkan polaritas dari pelarut meningkat (Mulia, *et al.*, 2018).

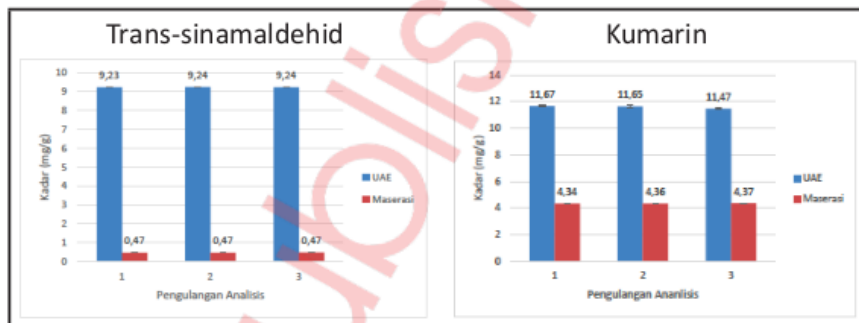
Kepolaran HBD yang digunakan makin menurun dengan urutan sebagai berikut asam sitrat>asam malat>asam laktat. Kepolaran ini sesuai dengan kepolaran senyawa transsinamaldehyd, karena senyawa ini cenderung nonpolar, sehingga NADES dengan HBD asam laktat yang mampu menarik senyawa lebih banyak. Dari hasil tersebut

menunjukkan bahwa asam laktat dapat menarik senyawa lebih banyak karena memiliki kedekatan log p dengan senyawa target.

NADES kolin klorida-asam laktat (ChCl-LA) dipilih sebagai pelarut untuk optimalisasi karena dapat menarik transsinamaldehida lebih banyak. Namun pada laporan tersebut diperoleh kadar transsinamaldehida lebih rendah dibandingkan dengan kadar kumarin.

Tujuan ekstraksi pada kulit kayu manis sebenarnya adalah ekstrak dengan kadar transsinamaldehyd lebih tinggi dari pada kada kumarin. Kumarin memiliki dampak negatif pada kesehatan, yaitu berefek hepatotoksik jika dikonsumsi dalam jumlah yang banyak (Hikmawanti, *et al.*, 2021).

Hasil optimalisasi metode ekstraksi NADES Kulit batang kayu manis menggunakan pelarut NADES terpilih. Kondisi optimum untuk ekstrak *biomarker* dari kulit kayu manis adalah NADES-UAE kolin klorida-asam laktat (1:2), penambahan air 40% dan waktu ekstraksi 30 menit. Pada kondisi optimum ini kadar transsinamaldehyd yang diperoleh 9,24 mg/g serbuk kering, sedangkan kadar kumarin 11,60 mg/g serbuk kering. Hasil ini jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil ekstraksi dengan maserasi etanol 96% selama 24 jam (Febianli, 2019). Hasil perbandingan dapat dilihat pada gambar 10.20.



Gambar 10.20 Perbedaan kadar transsinamaldehyd dan kumarin hasil ekstraksi NADES dan Maserasi (Febianli, 2019)

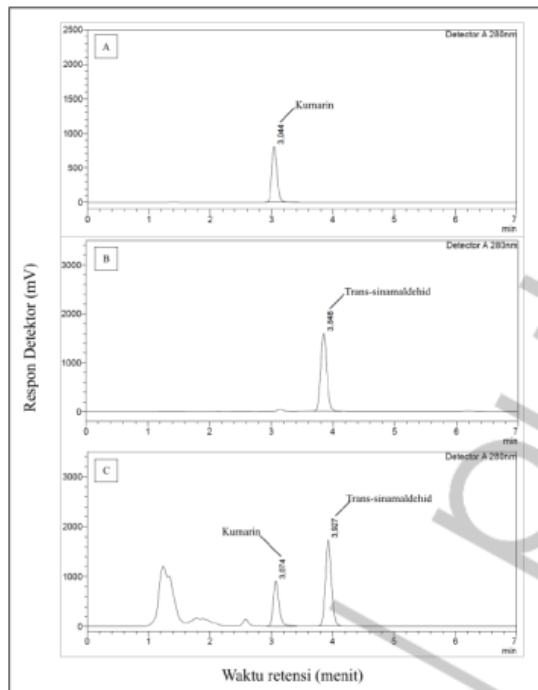
Dari ketiga penelitian ini jika dibandingkan maka ekstraksi NADES-UAE terbaik untuk kulit batang kayu manis adalah kolin klorida-asam sitrat. Hasil ekstraksi ini juga lebih tinggi dibandingkan beberapa hasil ekstraksi konvensional lainnya, seperti refluks, sokhlet, dan mase-rasi (Aryati, *et al.*, 2020).

10.6 Ekstraksi Kombinasi Kayu Secang dan Kulit Kayu Manis Menggunakan NADES

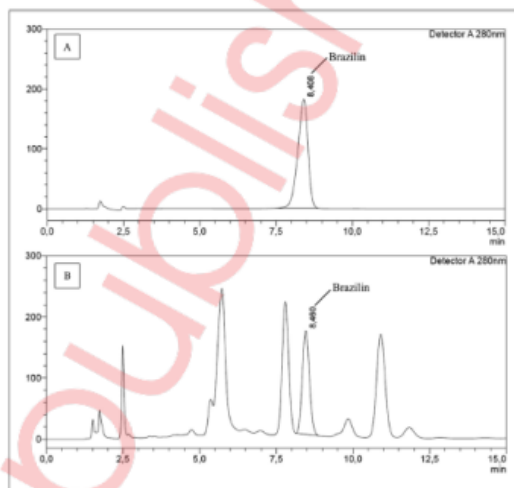
NADES sudah dijelaskan sebelumnya telah berhasil untuk mengekstraksi beberapa metabolit sekunder dan tanaman obat. Dengan perbedaan sifat fisik dan kimia metabolit sekunder, maka diperlukan penapisan untuk pemilihan NADES yang sesuai.

Keberhasilan ekstraksi NADES pada kulit kayu manis dan kayu secang secara tunggal telah dijelaskan sebelumnya di atas. Namun, produk di pasaran kedua simplisia atau ekstraknya sering dikombina-sikan dalam bentuk minuman maupun obat tradisional. Oleh karena itu, perlu pengembangan lebih lanjut untuk mengekstraksi secara bersama-sama kedua bahan tersebut menggunakan NADES. Kombinasi dua simplisia kayu secang dan kulit batang kayu manis, menjadi tantangan sendiri pada optimasi NADES dan juga optimasi penetapan kadarnya.

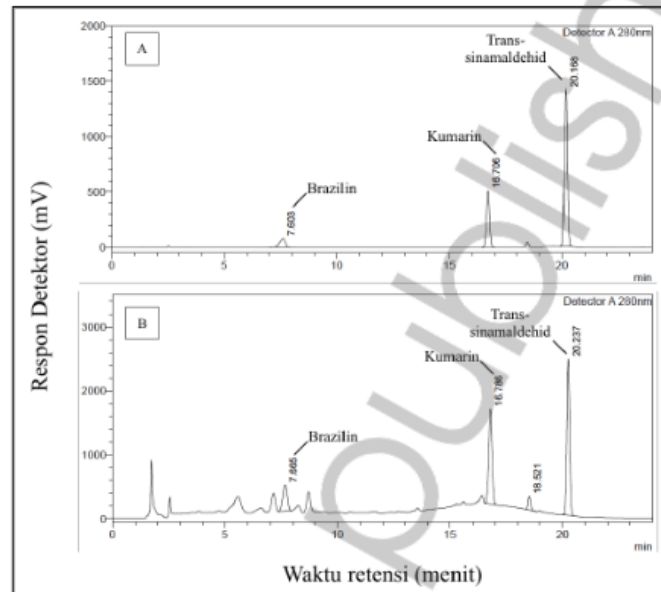
Sebelum melakukan optimasi NADES perlu dilakukan penca-rian metode HPLC yang sesuai untuk menentukan secara simultan kadar senyawa *marker* dari kedua simplisia. Pada kulit kayu manis sebagai *biomarker* adalah transsinamaldehyd dan kumarin. Kumarin digunakan sebagai marker keamanan. Sedangkan pada kayu secang sebagai *biomarker* adalah brazilin.



Gambar 10.21 Profil HPLC kromatogram A) Standar kumarin, B) standar transsinamaldehid, dan C) ekstrak NADES kulit kayu manis (Aditya, 2019)



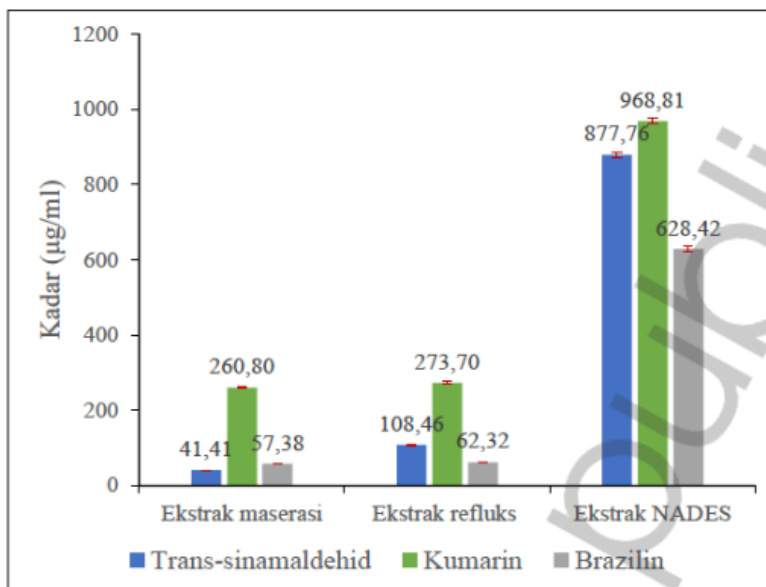
Gambar 10.22 HPLC kromatogram dari (A) Brazilin dan ekstrak NADES



Gambar 10.23 HPLC kromatogram A) Campuran standar brazilin, transsinamaldehyd, dan kumarin, B) Ekstrak NADES

Sakti, *et al.*, 2019 berhasil menemukan metode simultan untuk penetapan kadar *biomarker* dari kedua simplisia. Metode tersebut memenuhi semua parameter validasi. Dengan demikian metode inilah yang akan digunakan pada uji selanjutnya. Gambar 10.21-10.23 di bawah memperlihatkan kromatogram standar *biomarker* dan ekstrak.

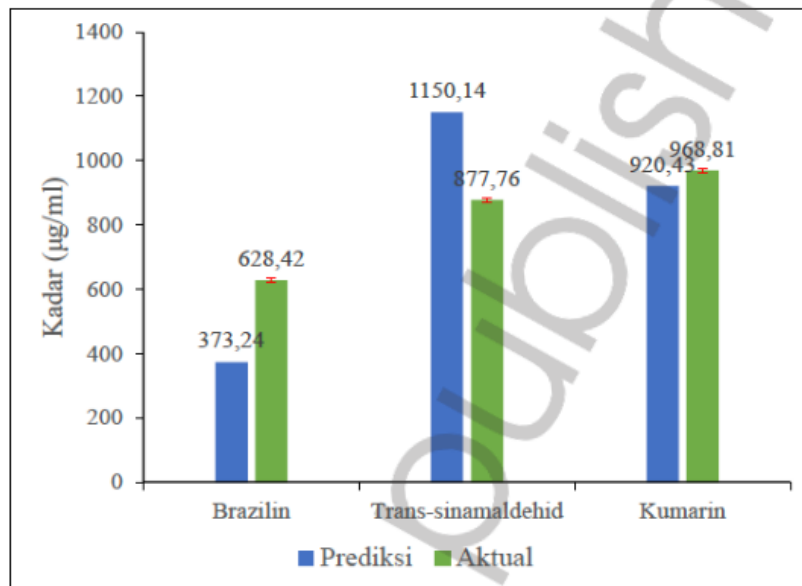
Kondisi optimum NADES untuk ekstraksi kulit kayu manis adalah kolinklorida-gliserol (2:1 w/w), rasio simplisia-NADES (1:2 w/w) dengan penambahan air sebesar 47,56%, sedangkan metode ekstraksi menggunakan NADES berbasis kolin klorida-gliserol (2:1 w/w), rasio simplisia-NADES (1:8 w/w) dengan penambahan air sebesar 20,00% merupakan metode ekstraksi optimum untuk mengekstraksi brazilin dari kayu secang (Sakti, 2019).



Gambar 10.23 Perbandingan kadar senyawa marker dalam ekstrak menggunakan metode konvensional dan NADES

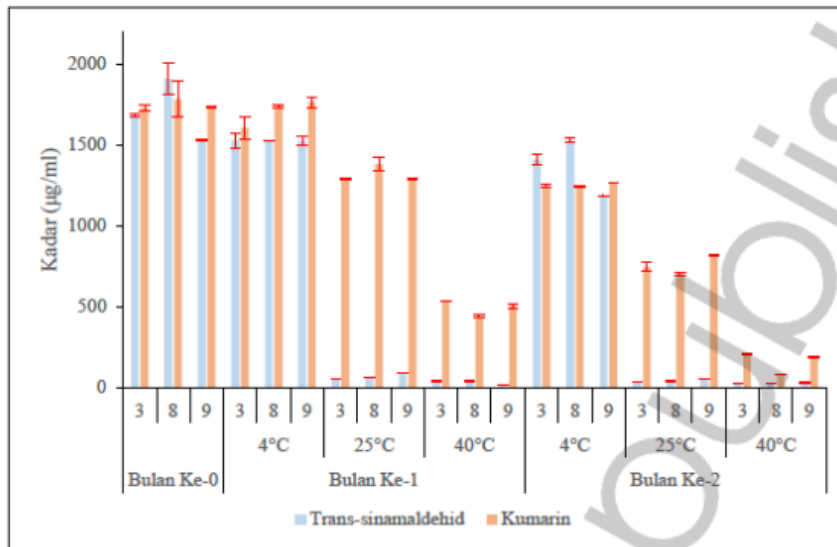
Kondisi optimum untuk mengekstraksi NADES simultan kedua simplisa adalah sebagai berikut kolin klorida-gliseryl (2:1), dengan rasio sampel serbuk pelarut NADES (1:4) dan penambahan air 20%. Pada kondisi optimum ini diperoleh kadar senyawa marker masing-masing brazilin, transsinamaldehyd, dan kumarin berurutan sebagai berikut 628,42 mmg/ml, 877,76 mmg/ml, dan 968,81 mmg/ml. Kadar untuk semua *marker* jauh lebih besar daripada kadar *marker* hasil ekstraksi menggunakan metode konvensional maserasi dan refluks. Hasil lengkap dapat dilihat pada Gambar 10.23.

Kadar *marker* kayu secang dan kulit kayu manis pada hasil ekstraksi NADES pada kondisi optimum sudah cukup menggembirakan jika dibandingkan dengan hasil ekstrak konvensional. Namun jika dibandingkan prediksi, kadar tersebut untuk brazilin dan transsinamaldehyd masih lebih rendah. Hasil lebih tinggi terjadi pada kumarin (Lihat Gambar 10.24).



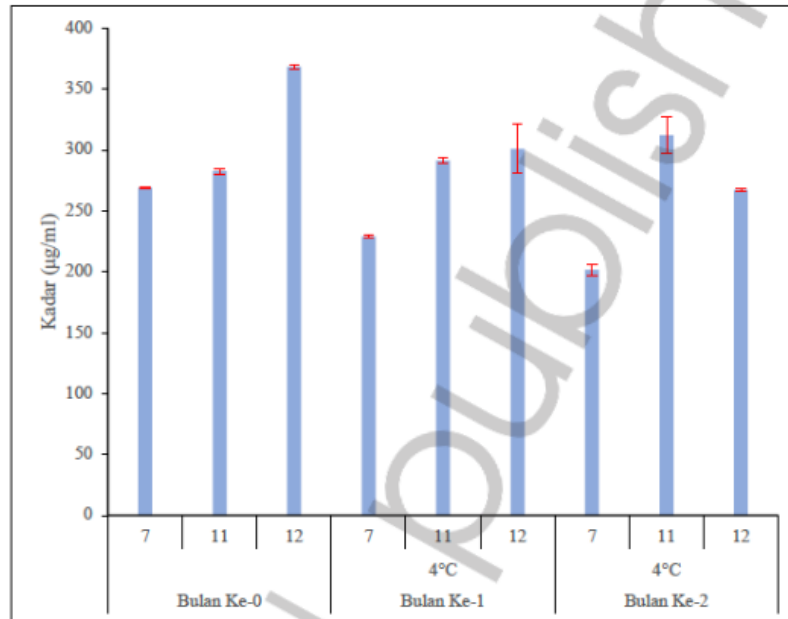
Gambar 10.24 Hasil verifikasi optimasi ekstraksi dengan RSM (Aditya Sindu, 2019).

Ekstraksi dengan menggunakan NADES menghasilkan ekstrak cair yang kental dan sulit untuk diuapkan. Model pelarut ini dirancang agar siap pakai (*ready to use*). Karena itu perlu dievaluasi lebih lanjut terkait stabilitas senyawa *marker* dalam ekstrak NADES. Pada Gambar 10.25 terjadi penurunan kadar senyawa kumarin dan transsinamaldehyd secara signifikan pada suhu penyimpanan 25 dan 40°C. Hilangnya transsinamaldehyd selama proses uji stabilitas kimia berkaitan dengan karakter fisikokimianya yang mudah menguap.



Gambar 10.25 Stabilitas transsinamaldehyd dan kumarin dalam ekstrak NADES (Sakti, 2019)

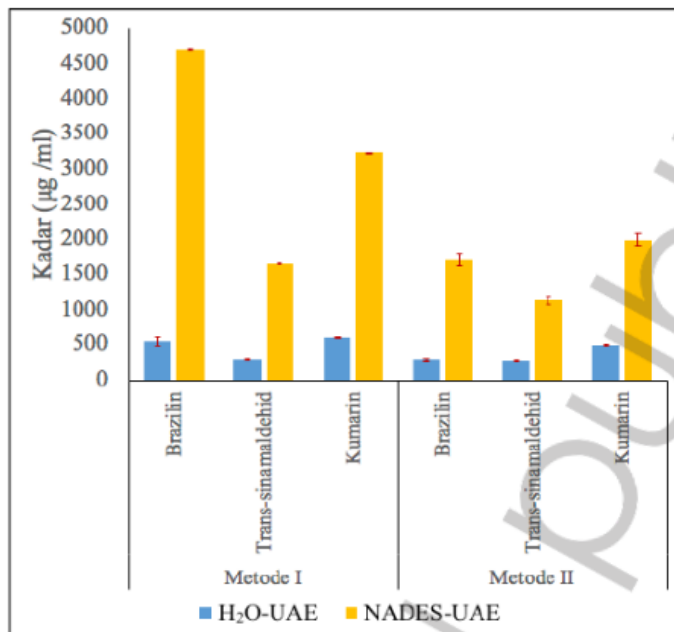
Gambar 10.26 menunjukkan stabilitas kimia senyawa *marker* brazilin dalam ekstrak NADES pada suhu 4°C, pada penyimpanan di suhu 25 dan 40°C selama 1 bulan sudah tidak terdeteksi *keberadaanya* dalam ekstrak NADES. Namun, tidak terjadi perubahan signifikan terhadap kandungan brazilin dari ekstrak NADES kayu secang yang disimpan pada suhu 4°C. Data tersebut dapat digunakan landasan terkait saran penyimpanan produk bahan alam yang mengandung brazilin sebagai *marker* atau senyawa bioaktif. Dapat juga sebagai landasan dalam memformulasikan lebih lanjut ekstrak NADES ini, agar bisa diperoleh produk akhir stabil dan memiliki umur simpan panjang.



Gambar 10.26 Stabilitas brazilin dalam ekstrak NADES

Hasil ekstraksi NADES pada kondisi optimum selain dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional maserasi dan refluks, juga sudah dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan air. Air seperti diketahui paling umum dan sering dipakai masyarakat pada penggunaan kayu sedang dan kulit kayu manis, karena penggunaan umumnya berupa seduhan. Hasil ekstrak menggunakan UAE dengan air sebagai pelarut dapat dilihat pada Gambar 10.27. Pada ekstraksi menggunakan NADES-UAE menghasilkan kadar jauh lebih tinggi dibandingkan hasil ekstraksi menggunakan UAE dengan pelarut air (Sakti, 2019).

Berdasarkan Gambar 10.28 hasil ekstraksi menggunakan NADES jauh lebih tinggi dibandingkan metode konvensional seperti maserasi dan refluks. Bahkan pada kondisi ekstraksi NADES terendah sekalipun, masih lebih dibandingkan metode konvensional.



Gambar 10.27 Perbandingan kadar senyawa marker dalam ekstrak cair dengan pelarut konvensional (H₂O) dan NADES



Gambar 10.28 Hasil ekstrak kulit kayu manis dan kayu secang dengan berbagai macam metode ekstraksi (Sakti, *et al.*, 2020).

Dari gambar tersebut di atas ekstraksi NADES untuk kayu secang dan kulit kayu manis sangat potensial untuk dikembangkan dalam mengatasi diabetes dan tukak lambung. Permasalahan yang dihadapi untuk ekstrak NADES ini adalah stabilitas. Beberapa studi lain melaporkan keuntungan dari NADES adalah dapat meningkatkan stabilitas, tetapi pada kasus kayu secang dan kulit kayu manis terjadi sebaliknya.

Daftar Pustaka

- 4 Ahmad, I., Arifianti, A.E., Sakti A.S., Saputri, F.C., Mun'im, A. Simultaneous Natural Deep Eutectic Solvent-Based Ultrasonic-Assisted Extraction of Bioactive Compounds of Cinnamon Bark and Sappan Wood as a Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitor. *Molecules*, 25:3832, 2020.
- 193 Ahmad, M., Lim, C.P., Akowuah, G.A., Ismail, N.N., Hashim, M.A., Hor, S.Y., Yam, M.F. Safety assessment of standardized methanol extract of *Cinnamomum burmannii*. *Phytomedicine*, 20(12), 1124-1130, (2013).
- 26 Al-Dhubiab, B.E. Pharmaceutical Applications and Phytochemical Profile of *Cinnamomum burmannii*. *Pharmacognosy Reviews*, 6(12), 125, 2012.
- Albini, A., Fasani, E. & Protti, S. *A Specialist Periodical Report Photochemistry Volume 45*. Croydon: Royal Society of Chemistry. 2018.
- 33 Anderson, R., Zhan, Z., Luo, R., Guo, X., Guo, Q., Zhou, J., Kong, J., Davis, P. & Stoecker, B. Cinnamon Extract Lowers Glucose, Insulin and Cholesterol in People with Elevated Serum Glucose. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6(4), 332-336, 2016.
- Angela I.L. Aplikasi natural deep eutectic solvents berbasis betain untuk ekstraksi kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dan uji penghambatan aktivitas DPPIV. Skripsi Program Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, 2019.

185

Aryati, W.D., Nadhira, A., Febianli, D., Fransisca, F., Mun'im, A. Natural deep eutectic solvents ultrasound-assisted extraction (NADES-UAE) of transcinnamaldehyde and coumarin from cinnamon bark [*Cinnamomum burmannii* (Nees & T. Nees) Blume]. *Journal of Research in Pharmacy*, 24(3):389-398, 2020.

4

Badami, S., Moorkoth, S. & Suresh, B. *Caesalpinia sappan* A medicinal and dye yielding plant. *Natural Product Radiance*, 3(2),75-82. 2004.

140

Bechtold, T. *Handbook of natural colorants*. 1st ed. Chichester: Wiley. 2009.

Cao, H., Polansky, M., Anderson, R. Cinnamom extract and polyphenols affect the expression of tritetrapirolin, insulin receptor, and glucose transporter 4 in Mouse 3T3-L1 adipocytes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 459(2) 214-222, 2007.

4

Dapson, R. & Bain, C. Brazilwood, Sappanwood, Brazilin and The Red Dye Brazilin: From Textile Dyeing and Folk Medicine to Biological Staining and Musical Instruments. *Biotechnic & Histochemistry*, 90(6), 401-423, 2015.

Fransisca. Optimasi ultrasonic-assisted extraction dengan natural deep eutectic solvent pada ekstrak kulit batang kayu manis [*Cinnamomum burmanii* (Nees & T. Nees) Blume]. Skripsi Program Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, 2019.

Febianli, D. Aplikasi natural deep eutectic solvents berbasis kolin klorida untuk ekstraksi kulit batang *Cinnamomum burmanii* (Nees & T. Ness) Blume dengan ultrasound assisted extraction. Skripsi Program Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, 2019.

Hikmawanti, N.P.E., Romadon, D., Jantan, I., Man'im, A. Natural Deep Eutectic Solvents (NADES): Phytochemical extraction performance enhancer for pharmaceutical and nutraceutical products development, *Plants*, 10(10), 2091, 2021.

26

Kim, S., Hyun, S., Choung, S. Antidiabetic effect of Cinnamom extract on blood glucose in db/db mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 104(1-2), 119-123, 2006.

94

Mariappan, N., Krishnakumar, S., Kumar, S. & Surendar, K. *Caesalpinia sappan* L.: Comprehensive Review on Seed Source Variation and Storability. *Plant Gene and Trait*, 5(2), 11-21. 2014.

Mulia, K., Adam, D., Zahrina, I., & Krisanti, E.A. Green extraction of palmitic acid from palm oil using betaine-based natural deep eutectic solvents. *International Journal of Technology*, 9(2), 335-344. 2018.

196

Nadhira, A. Ekstraksi kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Blume) dengan natural deep eutectic solvent berbasis kolin klorida secara ultrasound-assited extraction. Skripsi Program Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, 2019.

84

Panja, P. Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. *Current Opinion In Food Science*. 2017.

124

Płotka-Wasyłka, J., Rutkowska, M., Owczarek, K., Tobiszewski, M., & Namieśnik, J. Extraction with environmentally friendly solvents. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 91, 12–25, 2017.

15

Rao, P., Gan, S. Cinnamom: A multifaceted medicinal plant. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1-12, 2014.

Ravidran, P.N. *The Encyclopedia of Herbs & Species*. United Kingdom: The Centre for Agriculture and Bioscience International. 2017.

Sakti, A.S. Aktivitas penghambatandipeptidil peptidase-4 ekstrak NADES berbasis kolin klorida-gliserol secang (*Caesalpinia sappan* L.) dan kayu manis (*Cinnamomum burmanii* blume.). Tesis Program Studi Magister Herbal, Fakultas Farmasi, Universitas, Indonesia, 2019.

4

Sakti, A.S., Saputri, S.F., Mun'im, A. Optimization of choline-chloride based natural deep eutectic solvent for extraction bioactive substances from *Cinnamomum burmannii* barks and *Caesalpinia sappan* heartwoods, *Heliyon*, 5(12), e02915, 2019.

Sari, R., Suharti. Secang (*Caesalpinia Sappan* L.): Tumbuhan Herbal Kaya Antioksidan. *Info Teknis EBONI*, 13(1), 57-67. 2016.

Setiawan, H., Listy, I.A., Rohmah, N., Wijaya, O., Mun'im, A. Application of Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) for Sappan Wood (*Caesalpinia sappan* L.) extraction to test for inhibition of DPP IV activity. *Journal of Research in Pharmacy*, 24(3): 380-388, 2020.

220 Wagner, H., Bauer, R., Melchart, D. & Staudinger, A. *Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines, Thin-Layer and High-Performance Liquid Chromatography of Chinese Drugs, Volume 4*. 1st ed. Switzerland: Springer, p.126. 2016.

167 Wahyuni, D.K., Ekasari, W., Witono, J.R., Purnobasuko, H. *Toga Indonesia*. Surabaya: Airlangga University Press. 2016.

186 Yen, C., Nakagawa-Goto, K., Hwang, T., Wu, P., Morris-Natschke, S., Lai, W., Bastow, K., Chang, F., Wu, Y. & Lee, K. Antitumor agents. 271: Total synthesis and evaluation of brazilein and analogs as anti-inflammatory and cytotoxic agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(3), 1037-1039, 2010.

4 You, E., Khil, L., Kwak, W., Won, H., Chae, S., Lee, B. & Moon, C. Effects of brazilin on the production of fructose-2,6-bisphosphate in rat hepatocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, 102(1), 53-57, 2005.

APLIKASI NADES PADA EKSTRAKSI METABOLIT SEKUNDER DARI BIJI KOPI HIJAU

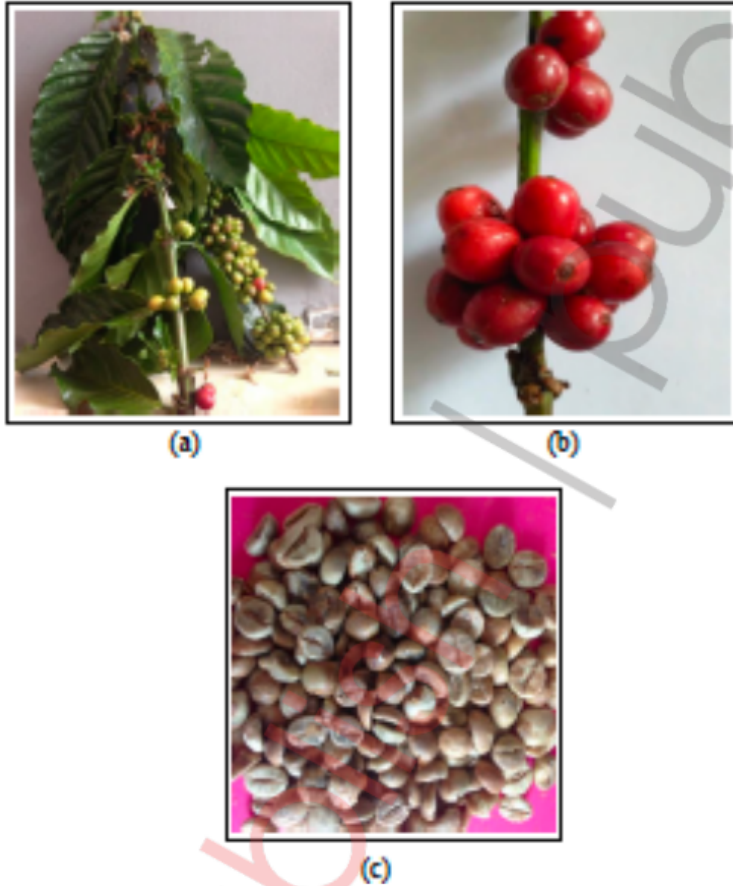
256

11.1 Latar Belakang

Tanaman kopi merupakan salah satu potensi kekayaan alam Indonesia. Komoditas dari tanaman ini berupa biji kopi dan Indonesia merupakan penghasil kopi ke-4 terbesar di dunia. Kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) merupakan salah satu jenis kopi yang dihasilkan negara kita. Salah satu produk hasil olahan biji kopi adalah kopi hijau. Kopi ini berasal dari kopi robusta yang belum mengalami proses pemanggangan. Saat ini kopi hijau banyak mendapat perhatian peneliti herbal. Biji kopi hijau diketahui merupakan bahan yang kaya akan kandungan senyawa fenolik berupa asam klorogenat dan alkaloid kafein. Biji kopi hijau varian robusta memiliki kandungan kafein lebih tinggi dibandingkan varian Arabica. Gambar 11.1 memperlihatkan tanaman dan biji kopi.

Asam klorogenat dan kafein dilaporkan memiliki berbagai macam aktivitas farmakologi, salah satunya adalah sebagai antiobesitas (Turnbull, *et al.*, 2017). Berdasarkan World Health Organization (WHO), sebanyak 65% dari populasi di dunia, tinggal di negara-negara maju

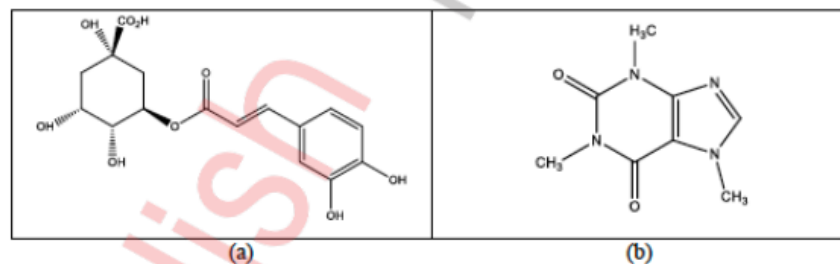
dengan penyebab kematian terbanyak akibat kelebihan berat badan (obesitas). Dari beberapa penelitian diketahui bahwa kopi hijau merupakan salah satu tanaman yang memiliki efek penghambatan aktivitas lipase.



Gambar 11.1 Bagian tanaman kopi hijau (a) ranting ²³¹un, dan buah kopi robusta (b) buah kopi robusta yang sudah matang (c) biji kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre Ex A. Froehner) (Adisya, 2019)

11.2 Kandungan kimia

Asam klorogenat merupakan senyawa fenolik berupa ester yang terbentuk dari (-)-asam kuinat dan asam hidroksinat, seperti asam kafeat, ferulat dan p-kumarat. Senyawa ini terdiri dari beberapa golongan berdasarkan jenis substitusi esternya, antara lain asam kafeoilkuinat (terdapat 3 isomer: 3-, 4-, dan 5-asam kafeoilkuinat), asam dikafeoilkuinat (terdapat 3 isomer: 3,4-, 3,5-, dan 4,5-asam dikafeoilkuinat), asam feruloilkuinat (terdapat 3 isomer: 3-, 4-, dan 5-asam feruloilkuinat), dan p-asam kumaroil kuinat (terdapat 3 isomer: 3-, 4-, dan 5-p-asam kumaroil kuinat (Rodriguez-Gomez, *et al.*, 2018). Kandungan asam klorogenat yang merupakan polifenol dalam kopi hijau sebesar 7,1-12,1%, sedangkan kafein termasuk alkaloid purin lebih rendah yaitu 1,7-4,0% (Musato, *et al.*, 2011). 5-asam kafeoilkuinat merupakan kandungan tertinggi pada ekstrak biji kopi hijau (Paula, *et al.*, 2016). Struktur kimia asam klorogenat dan kafein dapat dilihat pada Gambar 11.2.



Gambar 11.2 Struktur kimia kandungan kopi hijau [asam klorogenat (a) dan struktur kimia kafein (b)]

11.3 Manfaat Biji Kopi

Masyarakat sudah mengenal khasiat biji kopi, karena sudah umum digunakan sebagai minuman. Khasiat yang dirasakan adalah stimulasi. Asam klorogenat dan turunannya merupakan senyawa fenolat dengan demikian memiliki aktivitas antioksidan kuat. Selain itu, senyawa ini juga dilaporkan memiliki khasiat mengontrol kadar gula

darah (Ong, Hsu dan Tan 2013). Aktivitas farmakologi lain dari senyawa ini adalah dapat menghambat proses pembentukan asam lemak (Cho, *et al.*, 2010).

Kafein merupakan alkaloid yang sudah dikenal dengan efek stimulasi saraf pusat. Khasiat lain penghambatan aktivitas lipase. Dengan mekanisme aksi kedua senyawa ini dalam penghambatan aktivitas lipase, maka biji kopi hijau dapat dimanfaatkan untuk mengontrol berat badan.

11.4 Ekstraksi NADES Biji Kopi Hijau

Ekstraksi biji kopi hijau sebelumnya telah dilaporkan oleh Ahmad, *et al.*, 2018. Sebagai *marker* digunakan kafein dan total fenol. Pada studi tersebut NADES yang digunakan adalah asam organik dengan gula. Total fenol ditetapkan dengan spektrofotometer metode Folin-Ciocalteu, sedangkan kafein dengan menggunakan HPLC. Kadar optimum total fenol dan kafein adalah masing-masing 87,01 mg GAE/g serbuk kering kopi, sedangkan kafein pada kondisi yang sama adalah 4,45 mg/g serbuk kering biji kopi hijau. Kondisi optimum untuk perolehan tersebut adalah asam laktat-sukrosa (2:1), dengan rasio sampel-NADES 1:10 dengan waktu ekstraksi 15 menit. Metode ekstraksi tersebut relatif cepat, mudah, murah, serta aman terhadap lingkungan karena pelarut yang digunakan merupakan bahan yang biasa dimakan (Ahmad, *et al.*, 2018).

Studi lain melaporkan ekstraksi biji kopi hijau menggunakan NADES telah dilakukan dengan HBA (*hydrogen bond acceptor*) betain dan kolin klorida. Sebagai HBD (*hydrogen bond donor*) sorbitol. UAE (*ultrasound assisted/extraction*) digunakan untuk mempercepat dan meningkatkan efisiensi ekstraksi. UAE membantu agitasi mekanik dan meningkatkan laju pergerakan senyawa dalam cairan (Dai, *et al.*, 2013). Namun penggunaan UAE juga pada kasus tertentu dapat menyebabkan degradasi senyawa fenolik dan menghasilkan radikal bebas dalam gelembung gas.

11.5 Ekstraksi Biji Kopi Hijau dengan NADES HBA Kolin Klorida

Optimasi ekstraksi biji kopi hijau dengan NADES menggunakan kolin klorida sebagai HBA adalah dengan melakukan variasi pada parameter-parameter yang sangat berpengaruh pada hasil ekstraksi. Variabel tersebut antara lain: jenis-komposisi pelarut NADES, perbandingan atau rasio pelarut NADES dengan simplisia, waktu ekstraksi, dan suhu. Variasi kondisi ini digunakan sebagai faktor untuk optimasi ekstraksi dengan menggunakan RSM.

Pada uji penapisan awal kondisi ekstraksi diperoleh kondisi perbandingan mol kolin klorida-sorbitol yang paling optimum adalah 4 mol kolin klorida dan 1 mol sorbitol. Pada kondisi kolin klorida-sorbitol (2:1) diperoleh hasil lebih rendah. Hal ini mungkin disebabkan karena berkurangnya ikatan hidrogen dalam sistem NADES. Hal ini berpengaruh pada pelarutan senyawa target. Namun semakin tinggi kolin klorida akan mempengaruhi viskositas larutan NADES. Hal ini dapat menyebabkan proses ekstraksi tidak efektif. NADES yang dihasilkan dari perbandingan 4:1 juga relatif stabil.

Suatu NADES akan stabil jika ion klorida membentuk dua ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil dari sorbitol. Selain itu, struktur yang terbentuk memiliki pengaruh yang kuat terhadap stabilitas ikatan hidrogen.

Waktu ekstraksi terbaik untuk penarikan senyawa *marker* dari biji kopi hijau adalah 60 menit. Pada saat mengekstraksi asam klorogenat suhu ekstraksi harus diperhatikan lama waktu ekstraksi, mengingat senyawa tersebut merupakan senyawa polifenol yang mudah mengalami degradasi akibat paparan energi. Ekstraksi menggunakan NADES-UAE dapat menghasilkan radikal bebas hidroksil yang reaktif. Radikal hidroksil ini akan membentuk hidrogen peroksida dan dapat mengoksidasi senyawa fenolik.

Perbandingan pelarut NADES dengan simplisia terbaik adalah 30:1 dalam mengekstraksi asam klorogenat dan kafein. Jumlah volume besar terhadap simplisia mempercepat transfer masa antara matriks sampel dengan pelarut. Hal ini berakibat ekstraksi berlangsung lebih cepat.

Tabel 11.1 Perbandingan Hasil antara Ekstraksi Serbuk Kopi Hijau menggunakan Metode Maserasi dan NADES Kolin Klorida-Sorbitol dengan UAE (Erline, 2019).

Metode ekstraksi	Kadar kafein (mg/g)	Kadar asam klorogenat (mg/g)	% kenaikan kafein	% kenaikan asam klorogenat
Maserasi	3,03	3,08	93,72	297
NADES Kolin klorida-sorbitol	5,87	12,24		

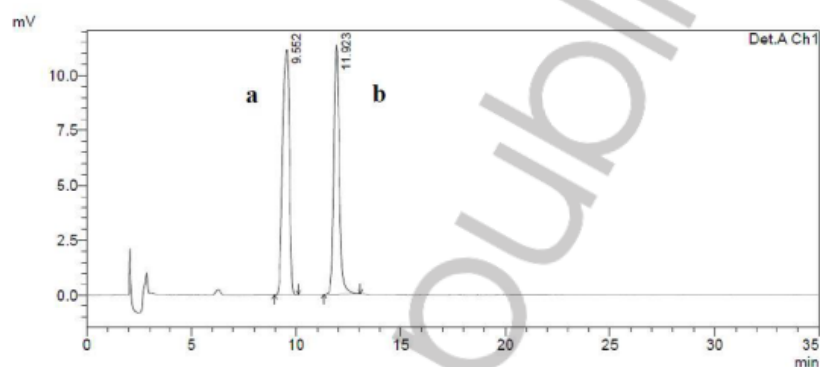
Hasil ekstraksi menggunakan kolin klorida-sorbitol pada kondisi optimum menghasilkan kadar kafein lebih tinggi 93,72% dan asam klorogenat 297% jika dibandingkan dengan metode maserasi. Pada NADES yang digunakan ada penambahan air 50%. Fungsi penambahan air selain untuk menurunkan viskositas, juga untuk meningkatkan transfer senyawa target ke pelarut (Erline, 2019). Tabel 11.1 memperlihatkan hasil ekstraksi menggunakan NADES dan metode maserasi.

Ekstraksi kopi hijau robusta dengan menggunakan NADES kolin klorida-sorbitol-UAE dapat dimanfaatkan dan dengan kondisi yang optimum hasil analisis RSM adalah perbandingan kolin klorida-sorbitol 4,17:1, waktu ekstraksi 59,94 menit dan rasio pelarut NADES dengan simplisia 29,96:1 mL/g untuk mendapatkan kadar kafein dan asam klorogenat yang maksimum (Erline, 2019).

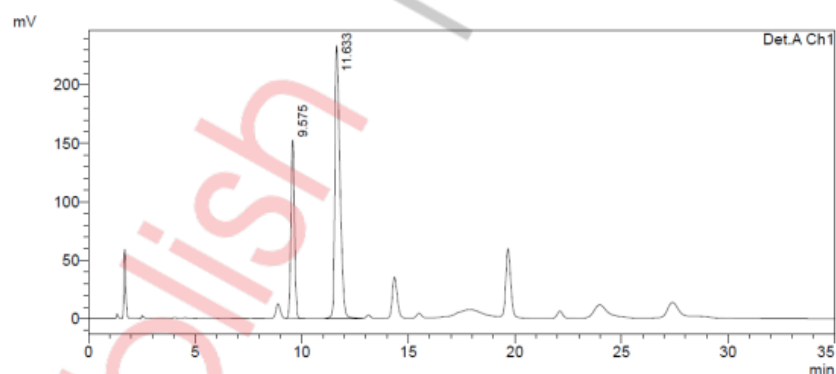
11.6 Ekstraksi Biji Kopi Hijau dengan NADES HBA Betain

Selain dengan menggunakan NADES berbasis kolin klorida, ekstraksi terhadap kopi hijau juga dilakukan dengan betain klorida sebagai HBA. Perbandingan NADES betain-sorbitol sangat mempengaruhi hasil ekstraksi. Selain itu faktor penting lainnya yang mempengaruhi hasil ekstrak NADES adalah viskositas. Pada ekstraksi biji kopi hijau perbandingan HBA-HBD terbaik adalah betain:sorbitol (1:1,2) dengan kondisi ekstraksi NADES 50%, waktu ekstraksi 30 menit dan rasio serbuk simplisia-pelarut 1:20. Pada kondisi ini diperoleh kadar asam klorogenat dan kafein masing-masing: 13,46 dan 5,14 mg/g. Kadar kedua biomarker

ini ditentukan dengan cara KCKT (Adisya, 2019). Pada penelitian sebelumnya kondisi KCKT ini telah dioptimasi dan metode sudah valid. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Gambar 11.3 dan 11.4 (Erline, et al, 2019).



Gambar 11.3 Kromatogram HPLC dari standar kafein (a) dan asam klorogenat (b) (Adisya, 2019)



Gambar 11.4 Kromatogram HPLC ekstrak NADES dengan perbandingan jumlah betain:sorbitol terbaik (1:1,2) (Adisya, 2019)

Kekurangan dari NADES untuk ekstraksi adalah viskositas yang relatif tinggi. Hal ini menyebabkan penetrasi larutan kedalam matriks atau sel sulit terjadi. Selain itu, juga dapat meningkatkan tegangan permukaan, yang berakibat terjadinya hambatan pelarutan senyawa

yang dituju. Pada ekstraksi biji kopi hijau dengan NADES ini penambahan air terbaik adalah sebanyak 100%. Pada penambahan air ini akan diperoleh kadar asam klorogenat dan kafein sebanyak masing-masing 28,62 dan 7,89 mg/g (Adisya, 2019). Jumlah air relatif tinggi dan akan menyulitkan proses penganan ekstrak selanjutnya.

Secara umum makin lama waktu ekstraksi akan semakin banyak senyawa terekstraksi. Hal ini juga berlaku pada ekstrak NADES biji kopi hijau. Namun, harus diperhatikan untuk kasus senyawa-senyawa yang tidak stabil. Lamanya waktu ekstraksi dapat mengakibatkan degradasi senyawa target. Pada ekstraksi NADES biji kopi hijau dilakukan optimasi waktu ekstraksi dengan kondisi sebagai berikut betain-sorbitol (1:1,2), penambahan air 50%, dan perbandingan simplisia-pelarut 1:20. Dengan melakukan variasi waktu ekstraksi diperoleh waktu ekstraksi terbaik untuk kedua senyawa target adalah 30 menit. Pada kondisi ini diperoleh kadar asam klorogenat dan kafein masing 13,06 dan 4,85 mg/g. Jika waktu diperpanjang menjadi 60 menit ternyata terjadi penurunan kadar kedua senyawa tersebut. Kadar kedua senyawa ini pada ekstraksi selama 60 menit adalah 9,72 mg/g asam klorogenat dan 4,23 mg/g kafein (Adisya, 2019).

Parameter tersebut di atas selanjutnya dilakukan optimasi lebih lanjut dengan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan pendekatan *Box Behnken Design*. Dari hasil optimasi ekstraksi biji kopi hijau dengan pelarut NADES betain-sorbitol menunjukkan bahwa kadar maksimum diperoleh dengan kadar asam klorogenat 10,65 mg/g simplisia (7,91 mg/g yang diprediksi desain RSM) dan kadar kafein 4,98 mg/g simplisia (3,99 mg/g yang diprediksi desain RSM). Kadar asam klorogenat dan kafein maksimum tersebut diperoleh dengan kondisi ekstraksi menggunakan pelarut NADES campuran betain:sorbitol dengan perbandingan jumlah 1,25:1,2 mol selama 60 menit dengan perbandingan simplisia-pelarut NADES 1:30 g/ml (Adisya, 2019).

Data hasil optimasi dianalisis dengan menggunakan RSM. Hasil analisis ini berupa kondisi ekstraksi optimum dan prediksi hasil kadar asam klorogenat dan kafein. Selanjutnya dari hasil eksperimen

kondisi optimum ini diperoleh hasil seperti terlihat pada Tabel 11.2 di bawah ini.

Tabel 11.2 Hasil eksperimen rekomendai kondisi optimum ekstraksi dan prediksi hasil (Adisya, 2019)

Betain: sorbitol (mol)	Waktu ekstraksi (menit)	Perbandingan simplisia:NADES	Asam klorogenat actual (mg/g)	Asam klorogenat prediksi (mg/g)	Kafein actual (mg/g)	Kafein prediksi (mg/g)
1,25:1,2	35	1:30	8,21	6,97	2,97	3,06

Berdasarkan penjelasan di atas ekstraksi NADES untuk kopi hijau prospektif untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai produk kosmetik atau topikal dan juga oral karena dapat mengekstraksi senyawa target lebih tinggi juga memiliki berbagai khasiat terkait tujuan tersebut. Ekstrak ini memiliki aktivitas penghambatan kerja lipase (Ahmad, *et al.*, 2021). Ekstrak biji hijau sudah dikenal dan digunakan di masyarakat dan juga dijual komersial untuk pengontrol berat badan. Problem yang dihadapi untuk ekstrak ini adalah berbentuk cair. Perlu penelitian mendalam terkait formulasinya jika ingin diperoleh produk akhir berupa sediaan padat. Selain itu, juga belum diketahui stabilitas dari ekstrak NADES ini.

Daftar Pustaka

- Ahmad, I., Pertiwi, A.S., Kembaren, Y.H., Rahman, A., Mun'im, A. Application of natural deep eutectic solvent-based ultrasonic assisted extraction of total polyphenolic and caffeine content from Coffe Beans (*Coffea Beans L.*) for instant food products. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*, 8(8):138-143, 2018.
- Ahmad, I., Syakfanaya, A.M., Azminah, A., Saputri, F.C., Mun'im, A. Optimization of betaine-sorbitol natural deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction and pancreatic lipase inhibitory activity of chlorogenic acid and caffeine content from robusta green coffee beans. *Heliyon*, 2021 Jul 31;7(8): e07702

- Cho, A. S., Jeon, S. M., Kim, M. J., Yeo, J., Seo, K. Il, Choi, M. S., & Lee, M. K. (2010). Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 937–943.
- Dai, Y., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as a new extraction media for phenolic metabolites in *Carthamus tinctorius* L. *Analytical Chemistry*, 85(13), 6272–6278.
- Matei, M.F., Jaiswal, R., & Kuhnert, N. (2012). Investigating the Chemical Changes of Chlorogenic Acids during Coffee Brewing: Conjugate Addition of Water to the Olefinic Moiety of Chlorogenic Acids and Their Quinides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 12105–15.
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., FangFang, X., Modarresi, F., WenHua, L., & XiaoHui, Z. (2018). Biomedicine & Pharmacotherapy Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97,67–74.
- Ong, K. W., Hsu, A., & Tan, B. K. H. (2013). Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. *Biochemical Pharmacology*, 85(9), 1341–1351.
- Paula, A., Fields, C., Liang, N., Kitts, D., & Erickson, A. (2016). Performance review of a fast HPLC-UV method for the quantification of chlorogenic acids in green coffee bean extracts. *Talanta*. 154:481–5.
- Rodriguez-Gomez, R., Vanheuverzwijn, J., Suard, F., Delporte, C., Stevigny, C., Stoffelen, P., Braekeleer, K.D., & Kauffman, J. (2018). Determination of Three Main Chlorogenic Acids in Water Extracts of Coffee Leaves by Liquid Chromatography Coupled to an Electrochemical Detector. *Antioxidants*, 7, 143.
- Syakfanaya, A.M. Pemanfaatan NADES betain-sorbitol untuk ekstraksi asam klorogenat dan kafein dari kopi hijau (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) dan Uji Penghambatan aktivitas lipase. Tesis

- Program Magister Herbal, Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, 2019.
- Syakfanaya, A.M., Saputri, F.C., Mun'im, A. Simultaneously Extraction of Caffeine and Chlorogenic Acid from *Coffea canephora* Bean using Natural Deep Eutectic Solvent-Based Ultrasonic Assisted Extraction. *Pharmacogn J.* 2019; 11(2): 267-271.
- Turnbull, D., Rodricks, J. V., Mariano, G. F., & Chowdhury, F. (2017). Caffeine and cardiovascular health. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 89, 165–185.
- WHO. Obesity and overweight. Fact sheet No 311, Reviewed May 2014. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>. Accessed on 08 Jan, 2018.
- Yuniarti, E. Ekstraksi senyawa bioaktif dari biji kopi hijau (*Coffea canephora* Pierre Ex A. Froehner) menggunakan NADES koloin klorida-sorbitol serta uji inhibitor aktivitas lipase. Tesis Program Studi Magister Herbal, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, 2019.
- Yuniarti, E., Saputri, F.C., Mun'im, A. Application of the natural deep eutectic solvent choline chloridesorbitol to extract chlorogenic acid and caffeine from green coffee beans (*Coffea canephora*). *J Appl Pharm Sci*, 9(3): 82-90, 2019.
- Yuniarti, E., Saputrim F.C., Mun'im, A. Natural Deep Eutectic Solvent Extraction and Evaluation of Caffeine and Chlorogenic Acid from Green Coffee Beans of *Coffea canephora*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(6):1062-1069, 2019.

INDEKS

- [
[AMIM][BF₄] · 58, 67, 4
[BMIM] [NtfO₂] · 58, 3
[BMIM][BF₄] · 57, 66, 67, 3
[BMIM][CF₃SO₃] · 57, 3
[BMIM][PF₆] · 57, 3
[BMIM]BF₄ · 59, 66, 68, 96, 97,
99, 100, 101, 102, 103, 105,
107, 113, 3
[BMIM]BF₆ · 113, 3
[BMIM]Br · 57, 59, 65, 66, 67, 68,
69, 113, 114, 118, 129, 3
[bmim]Cl · 78, 86, 87, 126, 3
[BMPyrrol] [NtfO₂] · 58, 4
[C₄MIM]Br · 98, 3
[EMIM][BF₄] · 57, 3
[HMIM][BF₄] · 58, 66, 4
[HMIM][PF₄] · 58, 4
[MPPyr][NtfO₂] · 58, 4
[OMIM][BF₄] · 58, 4
[OMIM]Cl · 58, 4
- 1
1-allyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate · 58, 4
1-butyl-3-methylimidazolium
bis(trifluoromethylsulfonyl)
amide · 58, 3
1-butyl-3-methylimidazolium bro-
mide · 57, 3
1-butyl-3-methylimidazolium ch-
loride · 57, 72, 73, 3
1-butyl-3-methylimidazolium
hexafluorophosphate · 57, 3
1-butyl-3-methylimidazolium
hexafluorophosphate · 58, 4
1-butyl-3-methylimidazolium tetra-
rafluoroborate · 57, 3
1-butyl-3-methylimidazolium trifluoromethylsulfonate · 57, 3
1-ethyl-3-methylimidazolium
hexafluorophosphate · 57, 3
1-ethyl-3-methylimidazolium tetra-
rafluoroborate · 57, 3
1-hexyl-3-methylimidazolium tetra-
rafluoroborate · 58, 4
1-octyl-3-methylimidazolium
chloride · 58, 4
1-octyl-3-methylimidazolium
tetrafluoroborate · 58, 4

A

Accelerated Solvent Extraction · 43, 2
air · 2, 4, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 17, 20, 22, 23, 24, 25, 27, 29, 38, 44, 45, 47, 55, 56, 61, 70, 80, 96, 98, 99, 102, 107, 115, 116, 118, 125, 128, 136, 140, 143, 145, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 156, 157, 158, 159, 161, 163, 164, 165, 166, 167, 173, 174, 175, 179, 180, 181, 184, 186, 189, 190, 191, 194, 198, 201, 207, 209, 1
alkaloid · 12, 53, 59, 63, 65, 66, 77, 134, 148, 165, 202, 203, 204, 1
antosianin · 155, 157, 1
asam klorogenat · 146, 149, 151, 152, 202, 203, 204, 206, 207, 208, 209, 210, 212, 3
asam laktat · 141, 142, 147, 148, 149, 154, 155, 158, 160, 163, 165, 166, 180, 187, 188, 189, 190, 193, 194, 205, 3
asam malat · 147, 148, 160, 162, 165, 166, 180, 187, 190, 193, 2
asam sitrat · 147, 148, 149, 150, 151, 154, 155, 157, 160, 161, 162, 163, 180, 187, 190, 192, 193, 195, 2
ASE · 43, 44, 45, 2
Azeotrop · 11, 1

B

bahan aktif · 1, 2, 71, 1
bahan alam · 4, 5, 6, 14, 52, 53, 54, 55, 57, 61, 64, 78, 118, 134, 168, 178, 200, 1
bahan alami · 1, 52, 55, 59, 1
BBD · 3
betain · 139, 147, 180, 181, 187, 188, 189, 190, 204, 205, 208, 209, 210, 212, 3
Box Behnken Design · 94, 118, 210, 3
brazilin · 111, 112, 113, 114, 116, 117, 118, 119, 120, 122, 123, 161, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 205, 2

C

cairan ionik · 53, 54, 56, 57, 59, 60, 64, 65, 68, 70, 78, 87, 88, 90, 94, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 105, 106, 107, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 125, 126, 128, 137, 140, 142, 143, 1, 2
cairan ionik aprotic · 2
cairan ionik protik · 60, 2

D

daya *microwave* · 101, 105, 106, 2
dekokta · 24, 25, 81, 2
destilasi uap · 29, 2
dietil eter · 9, 115, 135, 3

digesti · 26, 2
 diklorometana · 27, 45, 115, 135,
 1
 distilasi · 29, 30, 37, 2
 DPP-IV · 111, 120, 204, 2
 DPP-IV · 111
 DPP-IV · 120
 DPP-IV · 122
 DPP-IV · 123
 DPP-IV · 123
 DPP-IV · 179
 DPP-IV · 3
E
 EAE · 2
 ekspresi · 2
 ekstrak · 2, 7, 13, 17, 18, 21, 23,
 25, 28, 31, 41, 47, 62, 77, 81,
 83, 84, 85, 86, 92, 94, 104,
 106, 107, 109, 111, 112, 115,
 116, 117, 119, 120, 126, 132,
 134, 136, 146, 155, 156, 157,
 158, 159, 160, 162, 163, 164,
 166, 167, 173, 174, 179, 180,
 181, 182, 183, 184, 186, 188,
 194, 196, 197, 199, 200, 201,
 202, 203, 204, 205, 203, 208,
 209, 211, 1
 ekstraksi · 1, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 11,
 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 21,
 22, 23, 24, 26, 27, 28, 29, 31,
 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41,
 42, 43, 44, 45, 46, 52, 53, 54,
 55, 56, 57, 59, 61, 62, 63, 64,
 65, 68, 70, 78, 81, 83, 86, 87,
 88, 89, 90, 91, 92, 94, 92, 96,
 98, 100, 101, 102, 103, 104,
 105, 106, 113, 114, 117, 118,
 119, 125, 129, 134, 140, 142,
 144, 145, 146, 147, 148, 149,
 150, 151, 152, 153, 155, 159,
 160, 161, 163, 164, 166, 168,
 172, 178, 180, 181, 182, 184,
 185, 186, 188, 189, 190, 191,
 192, 194, 195, 198, 199, 201,
 202, 203, 204, 205, 206, 207,
 208, 209, 210, 211, 212, 1
 enfleurage · 31, 2
 Enzyme-Assisted Extraction · 42,
 51, 2
 etanol · 3, 9, 11, 12, 40, 45, 95,
 135, 147, 148, 150, 151, 153,
 154, 155, 156, 158, 159, 161,
 163, 166, 178, 179, 181, 184,
 185, 186, 187, 189, 190, 194, 1
 etil asetat · 9, 27, 45, 55, 81, 85,
 86, 115, 122, 126, 127, 128,
 135, 1
F
 fitokimia · 1, 2, 4, 7, 140, 146,
 163, 1
 fitokonstituen · 6, 8, 12, 1
 flavonoid · 2, 44, 53, 63, 65, 75,
 123, 134, 136, 150, 158, 163,
 166, 1

Folin-Ciocalteu · 204, 3

G

green chemistry · 53, 73, 96, 1

H

HBA · 137, 138, 139, 143, 145,
147, 148, 150, 161, 180, 182,
187, 188, 190, 205, 208, 3

HBD · 137, 138, 143, 145, 147,
150, 160, 162, 180, 182, 187,
188, 190, 193, 205, 208, 3

HPLC · 72, 123, 133, 180, 181,
183, 184, 191, 195, 196, 197,
204, 208, 209, 212, 2

I

ikatan hidrogen · 9, 10, 36, 56,
59, 70, 87, 101, 114, 115, 116,
117, 118, 122, 126, 128, 137,
140, 141, 145, 146, 148, 149,
151, 155, 156, 159, 163, 186,
188, 193, 206, 1

ikatan London · 1

IL-MAE · 119, 120, 1

infusa · 24, 25, 1

ionic liquid · 55, 71, 72, 73, 74,
75, 76, 78, 83, 95, 96, 97, 110,
116, 122, 123, 132, 134, 1

ionik liquid · 1

K

kafein · 63, 202, 203, 204, 206,
207, 208, 210, 212, 3

KCKT · 100, 126, 127, 128, 129,
208, 2

kekuatan microwave · 2

kimia hijau · 53, 54, 58, 60, 82, 1

kloroform · 8, 10, 14, 27, 115,
135, 1

kolin klorida · 138, 139, 141, 142,
147, 148, 150, 153, 154, 156,
158, 159, 160, 161, 162, 163,
165, 166, 168, 171, 172, 182,
184, 187, 188, 190, 191, 192,
193, 194, 195, 198, 204, 205,
206, 207, 208, 3

kondensor · 26, 28, 2

konvensional · 3, 17, 20, 31, 36,
37, 40, 48, 52, 60, 61, 62, 64,
70, 81, 83, 86, 119, 134, 136,
140, 142, 148, 149, 151, 156,
157, 158, 181, 186, 189, 198,
199, 201, 202, 2

kumarin · 112, 149, 161, 172,
182, 183, 184, 185, 186, 188,
189, 191, 192, 193, 194, 195,
196, 197, 198, 199, 200, 2

kurkumin · 8, 136, 140, 141, 142,
145, 148, 151, 154, 156, 163,
165, 167, 3

L

like dissolve like · 7, 55, 1

M

MAE · 34, 36, 37, 53, 61, 62, 63,
64, 65, 68, 70, 88, 96, 99, 100,

101, 105, 106, 107, 109, 117,
119, 120, 122, 123, 125, 129,
152, 158, 2

maserasi · 18, 19, 20, 22, 26, 69,
70, 84, 135, 147, 149, 181,
194, 195, 198, 201, 202, 207, 1

metabolit sekunder · 2, 4, 5, 8, 9,
12, 17, 34, 52, 53, 54, 57, 59,
63, 69, 77, 81, 87, 89, 90, 134,
195, 1

methanol · 122, 162, 178, 203, 1

metode ekstraksi · 3, 12, 13, 16,
17, 20, 24, 26, 34, 37, 53, 61,
62, 63, 64, 70, 81, 83, 84, 86,
94, 119, 134, 136, 151, 152,
189, 194, 198, 201, 203, 1

Microwave-Assisted Extraction ·
83, 125, 2

minyak atsiri · 12, 29, 53, 65, 172,
3

N

NADES · 134, 135, 136, 137, 139,
140, 141, 142, 143, 144, 145,
146, 147, 148, 149, 150, 151,
152, 153, 154, 155, 156, 157,
158, 159, 160, 161, 162, 163,
164, 165, 166, 167, 168, 169,
170, 171, 172, 173, 170, 180,
181, 182, 183, 184, 185, 186,
187, 188, 189, 190, 191, 192,
193, 194, 195, 196, 197, 198,
199, 200, 201, 202, 203, 204,
205, 202, 204, 205, 206, 207,
208, 209, 210, 211, 212, 2, 3

NADES-UAE · 169, 182, 184, 186,
194, 195, 201, 204, 206, 3

natural deep eutectic solvent ·
121, 170, 171, 172, 204, 205,
211, 212, 2

n-butanol · 115, 135, 3

N-butylpyrrolidinium bis(trifluoro-
methylsulfonyl)amide · 58, 4

n-heksana · 27, 45, 86, 92, 115,
135, 155, 168, 1

N-methylpyrrolidinium bis(trifluoro-
methylsulfonyl)amide · 58, 4

non-konvensional · 3, 34, 52, 53,
61, 62, 83, 86, 2

nonpolar · 7, 9, 10, 11, 185, 1

nutrasetikal · 1

P

PEF · 46, 47, 2

pelarut · 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10,
11, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20,
21, 22, 23, 24, 26, 27, 28, 29,
30, 31, 32, 34, 36, 37, 40, 42,
43, 44, 45, 47, 48, 53, 54, 55,
56, 57, 58, 59, 60, 62, 63, 64,
65, 68, 70, 78, 82, 83, 84, 85,
86, 87, 90, 92, 96, 98, 100,
101, 102, 103, 104, 105, 106,
107, 113, 114, 115, 118, 119,
120, 122, 125, 126, 128, 129,
134, 136, 140, 142, 144, 145,

- 148, 151, 152, 153, 155, 156,
157, 158, 159, 164, 168, 178,
181, 182, 184, 186, 188, 192,
193, 194, 198, 200, 201, 202,
205, 206, 207, 208, 210, 1
- pengobatan tradisional · 1, 52, 1
- perkolasi · 21, 22, 23, 135, 1
- petroleum eter · 9, 27, 115, 135,
1
- PLE · 2
- polar · 7, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 24,
31, 37, 40, 41, 45, 56, 92, 114,
125, 135, 145, 155, 178, 185,
193, 1
- polaritas · 6, 12, 46, 55, 56, 114,
115, 134, 135, 140, 145, 146,
148, 161, 163, 185, 188, 193, 1
- polifenol · 20, 45, 54, 59, 63, 65,
68, 70, 78, 82, 83, 84, 85, 86,
87, 89, 91, 92, 94, 102, 122,
124, 158, 163, 203, 206, 1
- Pressurized liquid Extraction · 2
- Pulsed Electric Field · 46, 2
- R**
- Response surface methodology ·
117, 130, 2
- RSM · 85, 91, 94, 96, 100, 106,
117, 118, 129, 130, 184, 199,
205, 207, 210, 2
- S**
- salting-out · 96, 116, 2
- saponin · 2, 44, 45, 46, 77, 166, 1
- Scanning electron microscopy · 2
- SCFE · 40, 41, 2
- SEM · 69, 70, 147, 186, 187, 190,
2
- simplisia · 18, 26, 69, 103, 134,
174, 195, 196, 198, 206, 207,
208, 210, 211, 2
- sokhlet · 26, 45, 195, 2
- sokhletasi · 41, 2
- sorbitol · 149, 150, 182, 186, 187,
205, 206, 207, 208, 209, 210,
211, 212, 3
- Supercritical Fluid Extraction · 40,
41, 2
- T**
- tanaman · 1, 2, 3, 8, 12, 13, 14,
15, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 24,
26, 28, 29, 32, 34, 35, 37, 40,
41, 42, 43, 44, 45, 52, 53, 55,
63, 65, 71, 81, 89, 94, 111,
120, 123, 124, 140, 146, 151,
153, 157, 161, 163, 164, 170,
172, 174, 179, 195, 202, 203, 1
- tannin · 77, 121, 134, 1
- terpenoid · 48, 77, 134, 1
- transresveratrol · 37, 71, 72, 96,
122, 126, 132, 133, 2
- transsinamaldehyda · 184, 185,
191, 192, 193, 194, 2
- U**
- UAE · 38, 152, 154, 157, 158, 185,
186, 201, 205, 207, 2

Ultrasound-Assisted Extraction · 2

V

Van Der Waals · 11, 1

W

waktu ekstraksi · 3, 16, 19, 37, 45,
64, 88, 89, 90, 94, 100, 101,
104, 105, 106, 119, 149, 152,
181, 184, 194, 205, 206, 207,
208, 209, 2

Y

γ -oryzanol · 92, 93, 94, 95, 96,
97, 98, 99, 100, 101, 102, 103,
105, 106, 107, 3

α

α -glukosidase · 173, 177, 179, 3

BIOGRAFI PENULIS



Abdul Mun'im adalah guru besar dalam bidang bahan alam Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia. Beliau menyelesaikan Pendidikan Doktor dari Universitas Tsukuba, Jepang. Penelitian yang saat ini digeluti adalah tentang teknologi sediaan herbal, meliputi Teknik ekstraksi, fraksinasi dan isolasi serta pembuatan sediaan farmasi berbasis bahan alam (*natural products*). Selain itu, juga melakukan pengujian *in vitro*, *in vivo*, dan uji klinis sediaan herbal. Hasil penelitian yang dilakukan telah dipublikasikan di jurnal nasional dan internasional, serta Paten. Penelitian saat ini fokus pada penggunaan ekstraksi hijau: Cairan ionik (*ionic liquids*) serta *Natural deep eutectic solvents* (NADES). Saat ini sudah lebih dari 100 hasil penelitian dipublikasikan di jurnal internasional. Buku lain yang telah dipublikasikan adalah Fitoterapi Dasar. Selain menulis publikasi, telah me-review beberapa manuskrip di jurnal nasional maupun internasional.



Islamudin Ahmad adalah Dosen Tetap Fakultas Farmasi Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur. Pada tahun 2018 beliau berhasil memperoleh gelar Doktor dalam bidang Ilmu Farmasi yang dipromotori oleh Prof. Dr. Abdul Mun'im, M.Si., Apt, dengan judul Disertasi "Telaah Senyawa Aktif

Penghambat *Angiotensin Converting Enzyme* dari Herba *Peperomia pellucida* (L) Kunth sebagai Antihipertensi” dengan bantuan Beasiswa BPPDN Kemenristek Dikti, Hibah penelitian dari Universitas Indonesia dalam bentuk Publikasi Ilmiah Tugas Akhir Mahasiswa (PITTA) 2016-2017 dan Hibah Tugas Akhir Mahasiswa Doktor (TADOK) 2018, serta Hibah Penelitian Disertasi Doktor (PDD) 2016-2017 dari Kemensitek Dikti. Hingga saat ini telah berhasil menerbitkan 32 artikel pada jurnal bereputasi internasional terindeks Scopus dan Web of Sciences. Selain itu, juga telah menerbitkan buku yang berjudul ***Pengantar Ilmu Farmasi dalam Tinjauan Filsafat dan Historis*** dan ***Konsep Dasar Metode Pemisahan Senyawa Bioaktif dari Bahan Alam***. Selain menulis, juga merupakan *reviewer* beberapa manuskrip artikel dari beberapa jurnal internasional bereputasi dan jurnal nasional.

*Terima kasih kepada Direktorat
Jenderal Pendidikan Tinggi atas Hibah
WCR (World Class Research) untuk
dukungan dana Penerbitan buku ini.*

Seri Teknologi Obat Herbal

ORIGINALITY REPORT

13%

SIMILARITY INDEX

10%

INTERNET SOURCES

3%

PUBLICATIONS

5%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	journal-old.unhas.ac.id Internet Source	<1 %
2	docplayer.com.br Internet Source	<1 %
3	sphinxsai.com Internet Source	<1 %
4	Submitted to Lovely Professional University Student Paper	<1 %
5	repositorium.sdum.uminho.pt Internet Source	<1 %
6	Rodrigo F. da Silva, Candice N. Carneiro, Cheila B. do C. de Sousa, Federico J. V. Gomez et al. "Sustainable extraction bioactive compounds procedures in medicinal Plants based on the principles of Green Analytical Chemistry: A review", <i>Microchemical Journal</i> , 2022 Publication	<1 %
7	pesquisa.ufabc.edu.br Internet Source	<1 %
8	shodhganga.inflibnet.ac.in Internet Source	<1 %

<1 %

9 uclouvain.be
Internet Source

<1 %

10 documents.mx
Internet Source

<1 %

11 www.ommegaonline.org
Internet Source

<1 %

12 WWW.MDPI.COM
Internet Source

<1 %

13 doktori.uni-sopron.hu
Internet Source

<1 %

14 Submitted to University of Wales Institute,
Cardiff
Student Paper

<1 %

15 Submitted to University of Wolverhampton
Student Paper

<1 %

16 repository.uinjkt.ac.id
Internet Source

<1 %

17 Submitted to King's College
Student Paper

<1 %

18 acervodigital.ufpr.br
Internet Source

<1 %

19 coil6.cjint.kr
Internet Source

<1 %

docobook.com

20	Internet Source	<1 %
21	mafiadoc.com Internet Source	<1 %
22	www.eos.su Internet Source	<1 %
23	hal.archives-ouvertes.fr Internet Source	<1 %
24	repository.its.ac.id Internet Source	<1 %
25	Submitted to Imperial College of Science, Technology and Medicine Student Paper	<1 %
26	comum.rcaap.pt Internet Source	<1 %
27	run.unl.pt Internet Source	<1 %
28	1library.net Internet Source	<1 %
29	theses.uin-malang.ac.id Internet Source	<1 %
30	Submitted to University of Florida Student Paper	<1 %
31	Submitted to Middlesex University Student Paper	<1 %

Submitted to Universitas Pelita Harapan

32

Student Paper

<1 %

33

Submitted to University of Glasgow

Student Paper

<1 %

34

tede.unioeste.br

Internet Source

<1 %

35

zombiedoc.com

Internet Source

<1 %

36

Submitted to University of Bath

Student Paper

<1 %

37

rva.webforgebg.com

Internet Source

<1 %

38

tdl.libra.titech.ac.jp

Internet Source

<1 %

39

Submitted to University of Brighton

Student Paper

<1 %

40

manfaatku.id

Internet Source

<1 %

41

www.thieme-connect.com

Internet Source

<1 %

42

TUNCEL YILMAZ, Neşe. "Gama-orizanol",
Sidas Medya Limited Şirketi, 2016.

Publication

<1 %

43

Submitted to University of Oulu

Student Paper

<1 %

e-jurnal.stikes-isfi.ac.id

44	Internet Source	<1 %
45	kpubs.org Internet Source	<1 %
46	simpus.stikestelogorejo.ac.id Internet Source	<1 %
47	static.sites.s bq.org.br Internet Source	<1 %
48	vbook.pub Internet Source	<1 %
49	Silva, Gabriela Santos(Peñaloza, Andréa del Pilar de Souza and Valls, José Francisco Montenegro). "Contribuição à taxonomia do gênero arachis : secção arachis à luz do estudo de espécies e híbridos interespecíficos", RIUnB, 2010. Publication	<1 %
50	meltem.ege.edu.tr Internet Source	<1 %
51	www.lifescienceglobal.com Internet Source	<1 %
52	eprints.whiterose.ac.uk Internet Source	<1 %
53	fulltxt.org Internet Source	<1 %
54	journal.ipb.ac.id Internet Source	<1 %

55	uhra.herts.ac.uk Internet Source	<1 %
56	Submitted to University of Warwick Student Paper	<1 %
57	idoc.pub Internet Source	<1 %
58	Submitted to Aston University Student Paper	<1 %
59	zagan.unizar.es Internet Source	<1 %
60	ijbms.mums.ac.ir Internet Source	<1 %
61	islamudinahmad.com Internet Source	<1 %
62	123dok.com Internet Source	<1 %
63	Submitted to Kyungpook National University Student Paper	<1 %
64	M. Camredon, J. F. Hamilton, M. S. Alam, K. P. Wyche, T. Carr, I. R. White, P. S. Monks, A. R. Rickard, W. J. Bloss. "Distribution of gaseous and particulate organic composition during dark α -pinene ozonolysis", Copernicus GmbH, 2009 Publication	<1 %
65	www1.ci.uc.pt	

Internet Source

<1 %

66

Submitted to Universitas Jember

Student Paper

<1 %

67

Winy Routray, Valerie Orsat. "Microwave Assisted Extraction of Flavonoids: A Comprehensive Overview", Elsevier BV, 2019

Publication

<1 %

68

elib.suub.uni-bremen.de

Internet Source

<1 %

69

publications.adem-innovationlab.nl

Internet Source

<1 %

70

reins.tmd.ac.jp

Internet Source

<1 %

71

repository.unhas.ac.id

Internet Source

<1 %

72

repozitorij.unizg.hr

Internet Source

<1 %

73

Submitted to La Salle: Universidad de la Salle Mexico

Student Paper

<1 %

74

Repositorio.unal.edu.co

Internet Source

<1 %

75

www.cheric.org

Internet Source

<1 %

76	bioresourcesbioprocessing.springeropen.com Internet Source	<1 %
77	studentsrepo.um.edu.my Internet Source	<1 %
78	www.proceedings.blucher.com.br Internet Source	<1 %
79	Submitted to Sriwijaya University Student Paper	<1 %
80	Submitted to University of Durham Student Paper	<1 %
81	Submitted to University of Leicester Student Paper	<1 %
82	Larissa Alves dos Reis Dias. "Desenvolvimento e validação da microextração líquido-líquido dispersiva com líquido iônico para determinação de omeprazol em plasma humano por cromatografia líquida de alta eficiência", Universidade de Sao Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP, 2019 Publication	<1 %
83	academic.hep.com.cn Internet Source	<1 %
84	acervo.ufvjm.edu.br Internet Source	<1 %
85	amslaurea.unibo.it Internet Source	<1 %

86	dspace.cas.upm.edu.ph Internet Source	<1 %
87	ejournal2.litbang.kemkes.go.id Internet Source	<1 %
88	text-id.123dok.com Internet Source	<1 %
89	umpir.ump.edu.my Internet Source	<1 %
90	www.biomedexperts.com Internet Source	<1 %
91	"Natural Products Isolation", Springer Nature, 2012 Publication	<1 %
92	Submitted to Universitas Brawijaya Student Paper	<1 %
93	dro.deakin.edu.au Internet Source	<1 %
94	smujo.id Internet Source	<1 %
95	www.helalvesaglikli.org Internet Source	<1 %
96	Submitted to University of Newcastle Student Paper	<1 %
97	acikbilim.yok.gov.tr Internet Source	<1 %

deposit.ddb.de

98	Internet Source	<1 %
99	impactfactor.org Internet Source	<1 %
100	marquette.edu Internet Source	<1 %
101	research.chem.psu.edu Internet Source	<1 %
102	www.spbt.pt Internet Source	<1 %
103	BULDUK, İbrahim and GÖKCE, Süleyman. "Yüzey Yanıt Metodolojisi ile Biberiye Yapraklarından Rosmarinik Asit Ekstraksiyonunun Optimizasyonu", Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2017. Publication	<1 %
104	Submitted to Queen's University of Belfast Student Paper	<1 %
105	Submitted to University College Birmingham Student Paper	<1 %
106	Submitted to University of Greenwich Student Paper	<1 %
107	Submitted to University of Muhammadiyah Malang Student Paper	<1 %
108	pergamos.lib.uoa.gr Internet Source	<1 %

109	repository.wima.ac.id Internet Source	<1 %
110	thieme-connect.de Internet Source	<1 %
111	www.livrosgratis.com.br Internet Source	<1 %
112	Submitted to University of Wollongong Student Paper	<1 %
113	Yunsie Chung, Florence H. Vermeire, Haoyang Wu, Pierre J. Walker, Michael H. Abraham, William H. Green. "Group Contribution and Machine Learning Approaches to Predict Abraham Solute Parameters, Solvation Free Energy, and Solvation Enthalpy", American Chemical Society (ACS), 2021 Publication	<1 %
114	edoc.site Internet Source	<1 %
115	repository.usd.ac.id Internet Source	<1 %
116	repozitorij.pbf.unizg.hr Internet Source	<1 %
117	www.acgpubs.org Internet Source	<1 %
118	Islamudin Ahmad, Arry Yanuar, Kamarza Mulia, Abdul Mun'im. "Application of Ionic	<1 %

Liquid based Microwave-Assisted Extraction
of the Secondary Metabolite from
Peperomia pellucida (L) Kunth",
Pharmacognosy Journal, 2017

Publication

119 Submitted to University of Portsmouth <1 %
Student Paper

120 eprints.ucm.es <1 %
Internet Source

121 rodin.uca.es <1 %
Internet Source

122 www.koreascience.or.kr <1 %
Internet Source

123 Submitted to Chiang Mai University <1 %
Student Paper

124 Submitted to Glyndwr University <1 %
Student Paper

125 Taís Suelen Viana. "Avaliação da
ecotoxicidade da água produzida de
petróleo antes e após diferentes
tratamentos em organismos
aquáticos (>i/i<)", Universidade de Sao
Paulo, Agencia USP de Gestao da
Informacao Academica (AGUIA), 2021 <1 %
Publication

126 Submitted to Universiti Teknologi Malaysia <1 %
Student Paper

Submitted to University of Sunderland

127	Student Paper	<1 %
128	ufj.ho.ua Internet Source	<1 %
129	www.phytojournal.com Internet Source	<1 %
130	Submitted to Royal Veterinary College Student Paper	<1 %
131	d-nb.info Internet Source	<1 %
132	eprints.umsida.ac.id Internet Source	<1 %
133	media.neliti.com Internet Source	<1 %
134	pt.scribd.com Internet Source	<1 %
135	www.ecology-kalvis.ru Internet Source	<1 %
136	www.ejournal.akfarsurabaya.ac.id Internet Source	<1 %
137	www.jpbums.info Internet Source	<1 %
138	www.lontar.ui.ac.id Internet Source	<1 %
139	www.piboc.dvo.ru Internet Source	<1 %

140	Aditya Sindu Sakti, Fadlina Chany Saputri, Abdul Mun'im. "Optimization of choline chloride-glycerol based natural deep eutectic solvent for extraction bioactive substances from Cinnamomum burmannii barks and Caesalpinia sappan heartwoods", Heliyon, 2019 Publication	<1 %
141	farmabin.com.br Internet Source	<1 %
142	ojs.unud.ac.id Internet Source	<1 %
143	repozitorij.ktf-split.hr Internet Source	<1 %
144	scopedatabase.com Internet Source	<1 %
145	vdocuments.site Internet Source	<1 %
146	www.zgyyhg.cn Internet Source	<1 %
147	Natural Products, 2013. Publication	<1 %
148	Proite, Karina(Bertioli, David John). "Busca de genes envolvidos na resistência de amendoim silvestre ao nematóide das galhas (Meloidogyne arenaria)", RIUnB, 2009. Publication	<1 %

149	Rostron, Chris, Barber, Jill. "Pharmaceutical Chemistry", Pharmaceutical Chemistry, 2021 Publication	<1 %
150	adoc.pub Internet Source	<1 %
151	earthref.org Internet Source	<1 %
152	repository.unpar.ac.id Internet Source	<1 %
153	www.dunyangida.com.tr Internet Source	<1 %
154	Submitted to De La Salle University Student Paper	<1 %
155	Submitted to Far Eastern University Student Paper	<1 %
156	G. V.S. Bhagya Raj, Kshirod K. Dash. "Microencapsulation of Dragon Fruit Peel Extract by Freeze-Drying Using Hydrocolloids: Optimization by Hybrid Artificial Neural Network and Genetic Algorithm", Research Square Platform LLC, 2022 Publication	<1 %
157	Submitted to Institute of Technology, Nirma University Student Paper	<1 %
158	Submitted to University of Teesside Student Paper	<1 %

159	ncsu.edu Internet Source	<1 %
160	psychiatriapolska.pl Internet Source	<1 %
161	Anuar Aldongarov, Zhassulan Sailau, Nurlan Almassov, Kainaubek Toshtay. "Studying the Formation of Choline Chloride and Glucose Based Natural Deep Eutectic Solvent at the Molecular Level", Research Square Platform LLC, 2021 Publication	<1 %
162	doku.pub Internet Source	<1 %
163	fitrirosdiana.blogspot.com Internet Source	<1 %
164	Submitted to fpptijateng Student Paper	<1 %
165	lib.unnes.ac.id Internet Source	<1 %
166	rd.springer.com Internet Source	<1 %
167	repo.poltekkesdepkes-sby.ac.id Internet Source	<1 %
168	repositorio.ufsc.br Internet Source	<1 %
169	repository.usu.ac.id Internet Source	<1 %

170	umexpert.um.edu.my Internet Source	<1 %
171	www.plantnames.unimelb.edu.au Internet Source	<1 %
172	www.swjggc.com Internet Source	<1 %
173	Submitted to Universitas Islam Indonesia Student Paper	<1 %
174	Submitted to Universitas Prima Indonesia Student Paper	<1 %
175	liayesung.wordpress.com Internet Source	<1 %
176	publications.lsmuni.lt Internet Source	<1 %
177	repositori.usu.ac.id Internet Source	<1 %
178	repository.unika.ac.id Internet Source	<1 %
179	www.etc-cte.ec.gc.ca Internet Source	<1 %
180	www.wbc.poznan.pl Internet Source	<1 %
181	Nádia Carolina de Aguiar Fracasso. "Diversidade genética das regiões regulatórias e codificantes dos genes SLC45A2 e TYR em amostra da população	<1 %

brasileira", Universidade de Sao Paulo,
Agencia USP de Gestao da Informacao
Academica (AGUIA), 2018

Publication

182	Submitted to Sheffield Hallam University Student Paper	<1 %
183	Submitted to St. Mary's College Twickenham Student Paper	<1 %
184	Submitted to Universitas Tadulako Student Paper	<1 %
185	Submitted to Universiti Teknologi MARA Student Paper	<1 %
186	cdr.lib.unc.edu Internet Source	<1 %
187	etd.uwc.ac.za Internet Source	<1 %
188	helda.helsinki.fi Internet Source	<1 %
189	mail.phcogj.com Internet Source	<1 %
190	nek.istanbul.edu.tr:4444 Internet Source	<1 %
191	oaji.net Internet Source	<1 %
192	repositorio.ufpe.br Internet Source	<1 %

193	repository.unair.ac.id Internet Source	<1 %
194	www.qehealth.co.nz Internet Source	<1 %
195	Abner Sampaio, Leonardo Siqueira. "Ether-Functionalized Sulfonium Ionic Liquid and Its Binary Mixtures with Acetonitrile as Electrolyte for Electrochemical Double Layer Capacitors: A Molecular Dynamics Study", American Chemical Society (ACS), 2020 Publication	<1 %
196	Eliya Mursyida, Huda Marlina Wati. "AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KAYU MANIS (CINNAMOMUM BURMANNII) TERHADAP PERTUMBUHAN ESCHERICHIA COLI", Jurnal Kedokteran dan Kesehatan : Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, 2021 Publication	<1 %
197	Laís Benvenuto, Acácio Antonio Ferreira Zielinski, Sandra Regina Salvador Ferreira. "Which is the best food emerging solvent: IL, DES or NADES?", Trends in Food Science & Technology, 2019 Publication	<1 %
198	Submitted to Massachusetts College of Pharmacy & Allied Health Sciences Student Paper	<1 %

199	Submitted to The Institute for Optimum Nutrition Student Paper	<1 %
200	antiox.org Internet Source	<1 %
201	app.uff.br Internet Source	<1 %
202	dokumen.pub Internet Source	<1 %
203	koara.lib.keio.ac.jp Internet Source	<1 %
204	mct.aacrjournals.org Internet Source	<1 %
205	pdfs.semanticscholar.org Internet Source	<1 %
206	pharmacologyonline.silae.it Internet Source	<1 %
207	play.google.com Internet Source	<1 %
208	repository.lib.ncsu.edu Internet Source	<1 %
209	tr.scribd.com Internet Source	<1 %
210	www.ijrpsonline.com Internet Source	<1 %

www.zaragoza.unam.mx

211

Internet Source

<1 %

212

Blanka Szilvássy. "Élelmi növények polifenolkészletének vizsgálata tömegspektrometriás módszerekkel", Corvinus University of Budapest, 2014

Publication

<1 %

213

Chin Chye Teo, William Pooi Kat Chong, Ying Swan Ho. "Development and application of microwave-assisted extraction technique in biological sample preparation for small molecule analysis", Metabolomics, 2013

Publication

<1 %

214

medcraveonline.com

Internet Source

<1 %

215

nisaulmuddrika.blogspot.com

Internet Source

<1 %

216

www.pertanianku.com

Internet Source

<1 %

217

Nathalia Torres Corrêa Magri. "Correlação entre a qualidade do caldo de cana-de-açúcar e infecção por *S. aureus* agente causal do raquitismo das soqueiras", Universidade de Sao Paulo, Agencia USP de Gestao da Informacao Academica (AGUIA), 2020

Publication

<1 %

218	Sakshi Piplani, Puneet Singh, David Winkler, Nikolai Petrovsky. "Potential COVID-19 therapies from computational repurposing of drugs and natural products against the SARS-CoV-2 helicase", American Chemical Society (ACS), 2022 Publication	<1 %
219	ayasbachtiar.blogspot.com Internet Source	<1 %
220	ejournals.swu.ac.th Internet Source	<1 %
221	etd.repository.ugm.ac.id Internet Source	<1 %
222	iris.unime.it Internet Source	<1 %
223	kimia.fmipa.unila.ac.id Internet Source	<1 %
224	lenisasmitasari.blogspot.com Internet Source	<1 %
225	nutriyogabrasil.squarespace.com Internet Source	<1 %
226	pelicano.ipen.br Internet Source	<1 %
227	publikasiilmiah.ums.ac.id Internet Source	<1 %
228	pubmed.ncbi.nlm.nih.gov Internet Source	<1 %

229	readera.org Internet Source	<1 %
230	repo.mahadewa.ac.id Internet Source	<1 %
231	repo.upertis.ac.id Internet Source	<1 %
232	www.pom.go.id Internet Source	<1 %
233	www.superadventure.co.id Internet Source	<1 %
234	087839831001caramengatasidiabetesherbadiabs.wor Internet Source	<1 %
235	Lopes, Renata Miranda(Costa, Tânia da Silveira Agostini and Silveira, Dâmaris). "Determinação de resveratrol em folhas de amendoim silvestre (Arachis sp.)", RIUnB, 2011. Publication	<1 %
236	Submitted to Politeknik Negeri Bandung Student Paper	<1 %
237	Sanidhya Pai, Akshatha Hebbar, Subbalaxmi Selvaraj. "A critical look at challenges and future scopes of bioactive compounds and their incorporations in the food, energy, and pharmaceutical sector", Environmental Science and Pollution Research, 2022 Publication	<1 %

238	Submitted to Universitas Riau Student Paper	<1 %
239	a-research.upi.edu Internet Source	<1 %
240	alty151094.blogspot.com Internet Source	<1 %
241	cantik.tempo.co Internet Source	<1 %
242	digilib.uinsby.ac.id Internet Source	<1 %
243	dspace.cuni.cz Internet Source	<1 %
244	ejournal.akprind.ac.id Internet Source	<1 %
245	ejournalmalahayati.ac.id Internet Source	<1 %
246	eprints.poltektegal.ac.id Internet Source	<1 %
247	eprints.ukh.ac.id Internet Source	<1 %
248	eprints.umm.ac.id Internet Source	<1 %
249	eprints.walisongo.ac.id Internet Source	<1 %
250	forum.act-crew.org Internet Source	<1 %

251	fr.scribd.com Internet Source	<1 %
252	ijpsdr.com Internet Source	<1 %
253	jpa.ub.ac.id Internet Source	<1 %
254	jrip.fp.unila.ac.id Internet Source	<1 %
255	kmutt.ac.th Internet Source	<1 %
256	kulinerkhasjawa.home.blog Internet Source	<1 %
257	lunwen.zhiwutong.com Internet Source	<1 %
258	perpadik.wordpress.com Internet Source	<1 %
259	qspace.qu.edu.qa Internet Source	<1 %
260	rahmadwioi.blogspot.com Internet Source	<1 %
261	repository.universitاسbumigora.ac.id Internet Source	<1 %
262	run2islam.blogspot.com Internet Source	<1 %
263	simdos.unud.ac.id Internet Source	<1 %

264	sippa.ciptakarya.pu.go.id Internet Source	<1 %
265	sriutamisemangat.blogspot.com Internet Source	<1 %
266	storage.googleapis.com Internet Source	<1 %
267	widyawarta.wordpress.com Internet Source	<1 %
268	www.degruyter.com Internet Source	<1 %
269	www.gyte.edu.tr Internet Source	<1 %
270	www.panjimas.com Internet Source	<1 %
271	www.science.gov Internet Source	<1 %
272	zephyrnet.com Internet Source	<1 %
273	zh.scribd.com Internet Source	<1 %
274	A. Vijaya Bhaskar Reddy, M. Moniruzzaman, V. Madhavi, Jafariah Jaafar. "Recent improvements in the extraction, cleanup and quantification of bioactive flavonoids", Elsevier BV, 2020 Publication	<1 %

275

www.medsci.org

Internet Source

<1 %

276

"Application of Ionic Liquids in Biotechnology", Springer Science and Business Media LLC, 2019

Publication

<1 %

277

Elena Valsecchi, Jonas Bylemans, Simon J. Goodman, Roberto Lombardi, Ian Carr, Laura Castellano, Andrea Galimberti, Paolo Galli. "Novel Universal Primers for Metabarcoding eDNA Surveys of Marine Mammals and Other Marine Vertebrates", Cold Spring Harbor Laboratory, 2019

Publication

<1 %

278

Submitted to Indian Institute of Technology, Kanpur

Student Paper

<1 %

279

Polysaccharides, 2015.

Publication

<1 %

280

Tatiane Yumi Tatei. "Estudo das características eletroquímicas de supercapacitores preparados com eletrólitos à base de líquido iônico (LIs) de baixo impacto ambiental", Universidade de Sao Paulo, Agencia USP de Gestao da Informacao Academica (AGUIA), 2020

Publication

<1 %

281

agribozcute.wordpress.com

Internet Source

<1 %

282

authenticus.up.pt

Internet Source

<1 %

283

lordbroken.wordpress.com

Internet Source

<1 %

284

Dong-Ping Xu, Ya Li, Xiao Meng, Tong Zhou, Yue Zhou, Jie Zheng, Jiao-Jiao Zhang, Hua-Bin Li. "Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources", International Journal of Molecular Sciences, 2017

Publication

<1 %

285

Submitted to University of Reading

Student Paper

<1 %

286

repository.unmul.ac.id

Internet Source

<1 %

287

Submitted to Liverpool John Moores University

Student Paper

<1 %

288

purl.org

Internet Source

<1 %

Exclude quotes On

Exclude matches Off

Exclude bibliography On