



## Pengayaan Polifenol Total dari Daun Kadamba Menggunakan Metode Ekstraksi Berbantu Mikrowave Berbasis Pelarut Hijau

(*Total Polyphenols Enrichment from Mitragnya speciosa Korth Havil Leaves Using Green Solvent Based Microwave-assisted Extraction Method*)

Islamudin Ahmad<sup>1\*</sup>, Andi Yusniah<sup>1</sup>, Yuspian Nur<sup>2</sup>, Wisnu Cahyo Prabowo<sup>3</sup>, Herman<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana (S1) Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.

<sup>2</sup>Laboratorium Riset dan Pengembangan Kefarmasian "FARMAKA TROPIS", Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.

<sup>3</sup>Program Studi Diploma Tiga (D3), Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, Indonesia.

\*E-mail: [islamudinahmad@farmasi.unmul.ac.id](mailto:islamudinahmad@farmasi.unmul.ac.id)

### Article Info:

Received: 12 Maret 2020

in revised form: 21 September 2020

Accepted: 03 Oktober 2020

Available Online: 04 Oktober 2020

### Keywords:

Box Behnken Design

*Mitragnya speciosa* [Korth.] Havil.

Natural Deep Eutectic Solvent

Response Surface Methodology

Total Polyphenols

### Corresponding Author:

Islamudin Ahmad

Fakultas Farmasi

Universitas Mulawarman

Samarinda

Indonesia

email:

[islamudinahmad@farmasi.unmul.ac.id](mailto:islamudinahmad@farmasi.unmul.ac.id)

### ABSTRACT

The present study aims to optimize the natural deep eutectic solvent (NADES) as a green solvent-based microwave-assisted extraction (MAE) of total polyphenols content (TPC) from *Mitragnya speciosa* [Korth.] Havil. leaves using response surface methodology (RSM). Preparation of natural deep eutectic solvent (NADES) as a green solvent was performed by melting the two-component of malic acid and glucose using a magnetic stirrer. The leaves sample was extracted using the NADES-MAE method with various extraction conditions with four factors and three levels (Box Behnken Design) and optimized using RSM with licensed software of Design Expert V12. TPC was determined using a Folin-Ciocalteu reagent and absorbance was measured on a UV-VIS spectrophotometer at 770 nm and gallic acid as a standard. This study was obtained the optimum extraction conditions include: NADES ratio (malic acid: glucose) of 1:2 g/g, 50% microwave power, a solvent-sampel ratio of 12:1 mL/g, and extraction time for 7 minutes. The optimum conditions were obtained according to the equation formula:  $TPC = 165.17 - 33.97X_1 + 38.36X_2 - 6.08X_3 + 16.12X_4 - 62.77X_1X_2 + 79.61X_1^2X_2$ , where a  $R^2$  value = 0.7102 with a TPC prediction of  $402.087 \pm 43.81$  mg GAE/g sample. These conditions can be used to extract TPC from this plant efficiently, quickly, easily, and environmentally friendly.



Copyright © 2019 JFG-UNTAD

This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

### How to cite (APA 6<sup>th</sup> Style):

Ahmad, I., Yusniah, A., Nur, Y., Prabowo, W.C., Herman. (2020). Pengayaan Polifenol Total dari Daun Kadamba Menggunakan Metode Ekstraksi Berbantu Mikrowave Berbasis Pelarut Hijau. *Jurnal Farmasi Galenika :Galenika Journal of Pharmacy (e-Journal)*, 6(2), 338-346. doi:10.22487/j24428744.2020.v6.i2.15035

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kondisi optimum dari metode ekstraksi berbantu *microwave* terhadap kadar polifenol total dari daun Kadamba (*Mitragyna speciosa* [Korth.] Havil.) menggunakan pelarut hijau atau lebih dikenal *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) dengan komposisi kombinasi antara asam malat dengan glukosa yang dianalisis menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Preparasi NADES dengan cara melebur kedua bahan (asam malat dan glukosa) menggunakan *magnetic stirrer*. Simplisia kering daun Kadamba diekstraksi menggunakan metode ekstraksi berbantu *microwave* dengan NADES (asam sitrat dan glukosa) dengan berbagai kondisi ekstraksi dengan empat faktor dan tiga level (*Box Behnken Design*) yang dioptimasi menggunakan RSM dengan aplikasi perangkat lunak *Design Expert* versi 12 berlisensi. Penetapan kadar polifenol total dilakukan menggunakan reagen *Folin-Ciocalteu* dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 770 nm dan asam galat sebagai standar. Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kondisi metode ekstraksi yang optimum meliputi: konsentrasi NADES sebesar 1:2 g/g, kekuatan *microwave* sebesar 50%, rasio sampel-pelarut sebesar 12:1 mL/g, dan waktu ekstraksi selama 7 menit. Kondisi optimum tersebut diperoleh berdasarkan persamaan: Kadar Polifenol Total =  $165,17 - 33,97X_1 + 38,36X_2 - 6,08X_3 + 16,12X_4 - 62,77X_1X_2 + 79,61X_1^2X_2$  ( $R^2 = 0,7102$ ) dengan nilai kadar polifenol total prediksi sebesar 402,1 mg GAE/g sampel. Kondisi ekstraksi tersebut digunakan untuk mengekstraksi senyawa polifenol total dari daun Kadamba secara efisien, cepat, mudah, dan ramah lingkungan.

Kata kunci: Kadamba (*Mitragyna speciosa* [Korth.] Havil), Kadar Polifenol Total, *Natural Deep Eutectic Solvent*, *Response Surface Methodology*.

## PENDAHULUAN

Eksplorasi bahan alam telah memberikan inspirasi bagi sebagian besar dari bahan aktif dalam dunia pengobatan, penarikan atau pemisahan senyawa metabolit sekunder target sangat ditentukan oleh proses ekstraksi. Proses ekstraksi merupakan tahap awal dalam penelitian obat terutama yang berasal dari bahan alam. Ekstraksi metabolit sekunder dari bahan alam (terutama tanaman) dapat dilakukan menggunakan berbagai metode ekstraksi baik ekstraksi secara konvensional maupun non-konvensional (Azmir *et al.*, 2013).

Salah satu faktor yang sangat berpengaruh terhadap proses ekstraksi metabolit sekunder dari bahan alam adalah pemilihan pelarut. Pada umumnya, pelarut organik yang digunakan pada proses ekstraksi seperti heksana, etil asetat, etanol, metanol, aseton, kloroform, dan petroleum eter. Penggunaan pelarut tersebut memiliki dampak buruk baik kepada operator/peneliti hingga lingkungan karena bersifat toksik, mudah menguap, dan mudah terbakar (Chemat *et al.*, 2012; Chemat dan Vian, 2014). Namun, disisi lain, pengembangan pelarut dengan pendekatan prinsip kimia hijau atau *green chemistry* terus mengalami peningkatan beberapa tahun belakangan. *Natural deep eutectic solvents* (NADES) merupakan pelarut alternatif potensial untuk menggantikan pelarut organik konvensional yang memiliki sifat mudah menguap, mudah terbakar, dan toksik. Penggunaan NADES diharapkan dapat meminimalkan masalah lingkungan, meningkatkan keselamatan dan kesehatan, serta meminimalkan biaya. NADES merupakan campuran dari molekul yang bersifat *hydrogen bonding acceptor* (HBA) yang membentuk ikatan hidrogen antar molekul dengan satu atau lebih molekul *hydrogen bonding donor* (HBD), sehingga mengurangi titik leleh campuran untuk suhu yang jauh lebih rendah daripada komponen masing-masing (Mulia *et al.*, 2019). Beberapa penelitian telah melaporkan penggunaan pelarut hijau untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder target seperti ekstraksi kafein dan total polifenol dari biji kopi (Ahmad, *et al.*, 2018), ekstraksi xanton dari manggis (Mulia *et al.*, 2019), ekstraksi alkaloid dan polifenol dari *Peumus boldus* (Torres-Vega *et al.*, 2020) yang menunjukkan bahwa hasil ekstraksi menggunakan pelarut NADES lebih optimal dibandingkan menggunakan pelarut organik konvensional.

Salah satu tumbuhan Kalimantan Timur yang menarik kami jadikan objek penelitian adalah daun Kadamba (*Mitragyna speciosa* [Korth.] Havil). Tumbuhan ini merupakan tumbuhan endemik Asia Tenggara yang banyak ditemukan di Malaysia, Myanmar, Thailand, Papua Nugini, dan Indonesia

(terutama di Kalimantan) (Brown *et al.*, 2017). Secara tradisional, bagian daun dari tumbuhan ini dipercaya masyarakat memiliki khasiat seperti mengatasi nyeri otot, mengatasi depresi, obat kuat/perangsang, batuk, diare, dan diabetes (Singh *et al.*, 2016; Raini, 2017). Telah dilaporkan pula bahwa daun Kadamba mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, terpenoid, polifenol, glikosida, dan alkaloid sebagai senyawa mayor (mengandung 40 jenis alkaloid terutama mitraginin) (Ikhwan *et al.*, 2018). Sejauh ini, penggunaan metode ekstraksi non-konvensional untuk proses ekstraksi metabolit sekunder target dari daun Kadamba pernah dilaporkan oleh (Orio *et al.*, 2012). Akan tetapi, optimasi metode ekstraksi berbantu *microwave* dengan pelarut hijau terhadap kadar polifenol total dari daun Kadamba belum pernah dilaporkan.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan memperoleh kondisi optimum dari metode ekstraksi berbantu *microwave* berbasis NADES dengan komposisi asam malat dan glukosa terhadap kadar polifenol total dari daun Kadamba menggunakan *response surface methodology* (RSM).

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu, Jepang), mikropipet, *microwave* rumahan 900 Watt (Modena, USA), *Design Expert* v12 berlisensi, dan peralatan gelas lainnya. Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain; asam malat (CV. Chlorogreen), glukosa (CV. Chlorogreen), reagen Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich), asam galat (Sigma-Aldrich), aquadest (Brataco), dan natrium karbonat (Sigma-Aldrich). Simplisia kering daun Kadamba yang diperoleh dari Melak Kabupaten Kutai Barat (sampel tersebut di determinasi di Laboratorium Dendrologi, Fakultas Kehutanan, Universitas Mulawarman). Pengambilan sampel segar dilakukan pada bulan Mei 2019. Setelah disertasi dan di cuci, sampel kemudian dikeringkan menggunakan lemari pengering selama 3 kali 24 jam. Sampel kering yang diperoleh kemudian disortasi kembali dan selanjutnya dibuat dalam bentuk haksel (atau potongan kecil-kecil).

### **Metode**

#### **Preparasi NADES**

Komponen NADES sebagai pelarut hijau ditimbang dengan perbandingan asam malat dan glukosa yang sesuai dengan rancangan desain eksperimental (Wang, *et al.*, 2018) yaitu dengan rasio 1:2, 1:3, dan 1:4 g/g. Kedua bahan dilebur pada suhu 70-80°C kemudian ditambahkan aquades, selanjutnya dilakukan pengadukan dengan menggunakan *hotplate stirrer* pada suhu 50°C pada kecepatan 500 rpm selama  $\pm 60$  menit, kemudian di saring hingga diperoleh larutan yang homogen. Larutan tersebut disimpan pada wadah botol yang tertutup hingga digunakan.

#### **Proses Ekstraksi**

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode ekstraksi berbantu *microwave* dengan komposisi NADES asam malat dan glukosa yang telah dilebur dalam bentuk larutan sebagai pelarut hijau menggunakan berbagai kondisi ekstraksi berdasarkan literatur (Ahmad, *et al.*, 2017a; Gómez *et al.*, 2019; González *et al.*, 2018). Serbuk kering sampel ditimbang sebanyak 2 g kemudian dicampur dengan pelarut NADES kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi berbantu *microwave* yang beroperasi dalam berbagai kondisi seperti pada Tabel 1. Residu dan ekstrak kemudian dipisahkan dengan menggunakan penyaring dan dinginkan pada suhu kamar.

#### **Penentuan Kadar Polifenol Total**

Penentuan kada polifenol total dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan reagen *Folin-Ciocalteu* yang diukur pada panjang gelombang 770 nm dengan mengacu pada beberapa literatur

(Bobo-García *et al.*, 2014; Ainsworth dan Gillespie, 2007; Sanchez-Rangel *et al.*, 2013). Secara ringkas, sebanyak 1 mL sampel uji dan atau larutan standar dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan encer *Folin-Ciocalteau*, dihomogenkan, dan didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan 2 mL natrium karbonat, selanjutnya diinkubasi selama  $\pm$  30 menit. Absorbansi campuran di ukur serapannya pada spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 770 nm. Kadar polifenol total dalam satuan mg GAE/g sampel dihitung menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari larutan standar asam galat pada berbagai konsentrasi, yaitu  $Y = -0,00095 + 0,0022X$  ( $R^2 = 0,9977$ ), Y adalah absorbansi, dan X adalah kadar polifenol total.

### Prosedur Optimasi Metode Ekstraksi menggunakan RSM

Analisis optimasi kondisi metode ekstraksi berbantu *microwave* berbasis NADES dengan komposisi asam malat dan glukosa dilakukan menggunakan perangkat lunak Design Expert Versi 12 berlisensi. Sebanyak 29 kali eksperimen dirancang menggunakan pendekatan *Box Behnken Design* (BBD) dengan empat faktor dan tiga level. Pada penelitian ini, beberapa faktor kondisi ekstraksi digunakan sebagai variabel bebas meliputi: rasio asam malat-glukosa (1:2, 1:3, dan 1:4 g/g), kekuatan *microwave* (10, 30, dan 50 % watt), rasio pelarut-sampel (12, 14, dan 16 mL/g), dan waktu ekstraksi (3, 5, dan 7 menit), serta variabel terikat adalah kadar polifenol total (mg GAE/g sampel) atau disebut juga respon. Model persamaan multilinier terbaik diperoleh dari hasil analisis berdasarkan data hasil eksperimen dari proses ekstraksi dengan variasi kondisi ekstraksi terhadap kadar polifenol total (Ahmad, *et al.*, 2017b).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

NADES merupakan jenis pelarut alami dalam bentuk *deep eutectic solvent* yang tersusun dari komponen beberapa campuran metabolit primer (misalnya gula, asam amino, asam organik, dan lain-lain). Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi merupakan faktor utama yang harus diperhatikan untuk memperoleh efisiensi ekstraksi senyawa target dari bahan alam. Senyawa penyusun NADES yang tepat akan membentuk cairan jernih dan stabil, sedangkan komponen penyusun yang tidak tepat menyebabkan cairan tersebut tidak stabil, terbentuk endapan, serta dapat kembali menjadi bentuk padat. Pemilihan komposisi NADES yang berupa asam malat dan glukosa merupakan kombinasi yang tepat karena glukosa memiliki sifat *hydrogen bonding acceptor* (HBA) dan asam malat memiliki sifat *hydrogen bonding donor* (HBD) sehingga jika kedua bahan dilebur pada suhu tertentu maka akan membentuk larutan stabil dan siap digunakan sebagai pelarut hijau (Mulia *et al.*, 2019). Disisi lain, kedua bahan ini merupakan bahan eksipien farmasetik dan aman untuk dikonsumsi karena *food grade*, sehingga diharapkan ekstrak yang diperoleh dapat dikonsumsi karena tidak mengandung pelarut organik yang berbahaya. Sementara itu, pemilihan metode ekstraksi secara non konvensional yaitu metode ekstraksi berbantu *microwave* diharapkan proses ekstraksi yang dilakukan dapat berjalan dengan waktu yang singkat, meminimalkan penggunaan pelarut, dan efisiensi penggunaan energi melalui energi *microwave* dalam proses pemanasan (Ahmad *et al.*, 2018).

Oleh karena itu, optimasi metode ekstraksi sangat diperlukan untuk mengetahui parameter kondisi ekstraksi yang berpengaruh signifikan terhadap kadar polifenol total sebagai senyawa metabolit target dari daun Kadamba dalam penelitian ini. Analisis optimasi dilakukan menggunakan RSM dengan BBD yang terdiri dari empat faktor dan tiga level sebagai mana yang ditunjukkan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Rancangan eksperimen dengan beberapa variabel faktor menggunakan RSM

Faktor	Unit	Simbol	Range dan Level		
			-1	0	1
Rasio asam malat dan glukosa	g/g	X <sub>1</sub>	1:2	1:3	1:4
Kekuatan <i>microwave</i>	% watt	X <sub>2</sub>	10	30	50
Rasio pelarut-sampel	mL/g	X <sub>3</sub>	12:1	14:1	16:1
Waktu ekstraksi	Menit	X <sub>4</sub>	3	5	7

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dari 29 kali percobaan (Tabel 2) diperoleh kondisi dengan kadar tertinggi sebesar 420,1 mg GAE/g (pada kondisi rasio MAG 1:2 g/g, kekuatan *microwave* 50% watt, waktu 5 menit dan rasio solid-liquid 1:14 g/mL). Sedangkan kondisi dengan kadar terendah sebesar 57,5 mg GAE/g (pada kondisi rasio MAG 1:4 g/g, kekuatan *microwave* 10% watt, waktu 5 menit dan rasio solid-liquid 1:14 g/mL). Selanjutnya ke 29 data tersebut dilakukan analisis untuk mengetahui kondisi optimum dari metode ekstraksi menggunakan program RSM pada perangkat lunak *Design Expert* v12 berlisensi dengan regresi multilinier kuadrat model.

Tabel 2. Desain eksperimen pada parameter kondisi ekstraksi terhadap kadar polifenol total

Percobaan	Rasio NADES (asam malat dan glukosa) (g/g)	Kekuatan <i>Microwave</i> (% watt)	Rasio pelarut- sampel (mL/g)	Waktu Ekstraksi (Menit)	Kadar Polifenol Total (mg GAE/g)
1	1:4	30	14:1	7	92,8
2	1:3	50	14:1	7	195,8
3	1:3	10	14:1	7	118,2
4	1:4	30	12:1	5	111,4
5	1:3	30	12:1	7	230,6
6	1:2	30	14:1	7	128,1
7	1:4	50	14:1	5	167,9
8	1:3	10	16:1	5	88,5
9	1:2	50	14:1	5	420,8
10	1:4	30	14:1	3	83,5
11	1:3	50	12:1	5	207,2
12	1:4	10	14:1	5	57,5
13	1:2	30	16:1	5	59,5
14	1:3	50	16:1	5	188,8
15	1:2	30	16:1	5	119,3
16	1:3	10	12:1	5	130,6
17	1:3	50	14:1	3	156,8
18	1:3	30	16:1	3	207,5
19	1:2	30	14:1	3	143,1
20	1:2	30	12:1	5	191,9
21	1:3	30	16:1	7	233,0
22	1:3	10	14:1	3	104,4
23	1:3	30	14:1	5	237,8
24	1:3	30	14:1	5	190,4
25	1:4	30	16:1	5	148,2
26	1:4	30	12:1	3	186,6
27	1:3	30	14:1	5	194,0
28	1:3	30	14:1	5	230,5
29	1:3	30	14:1	5	167,1

Berdasarkan hasil perhitungan ANOVA (*Analysis of Variance*) menggunakan perangkat lunak *Design Expert* v12 berlisensi sebagaimana yang terlihat pada Tabel 3 menunjukkan bahwa model dengan nilai F hitung sebesar 8,99 mengimplikasikan bahwa model signifikan (model yang dimaksud adalah model persamaan yang melibatkan variabel  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_1X_2$ , dan  $X_1^2X_2$ ), dan hanya ada kemungkinan 0,01% bahwa nilai F hitung sebesar ini dapat terjadi karena kebetulan atau ketidaksengajaan. Nilai  $p < 0,05$  menunjukkan bahwa model yang diperoleh adalah signifikan, dalam hal ini,  $X_1$  (rasio asam malat-glukosa),  $X_2$  (kekuatan *microwave*),  $X_1X_2$ , dan  $X_1^2X_2$ , merupakan variabel model yang signifikan.

Sedangkan jika nilai  $p > 0,05$  menunjukkan model tidak signifikan. Sementara itu, nilai F hitung *Lack of Fit* (ketidaksesuaian) sebesar 4,26 dengan nilai probabilitas 0,0848 yang mengimplikasikan bahwa model tersebut tidak signifikan atau menyiratkan ada peluang 8,49% terjadi karena ketidaksesuaian.

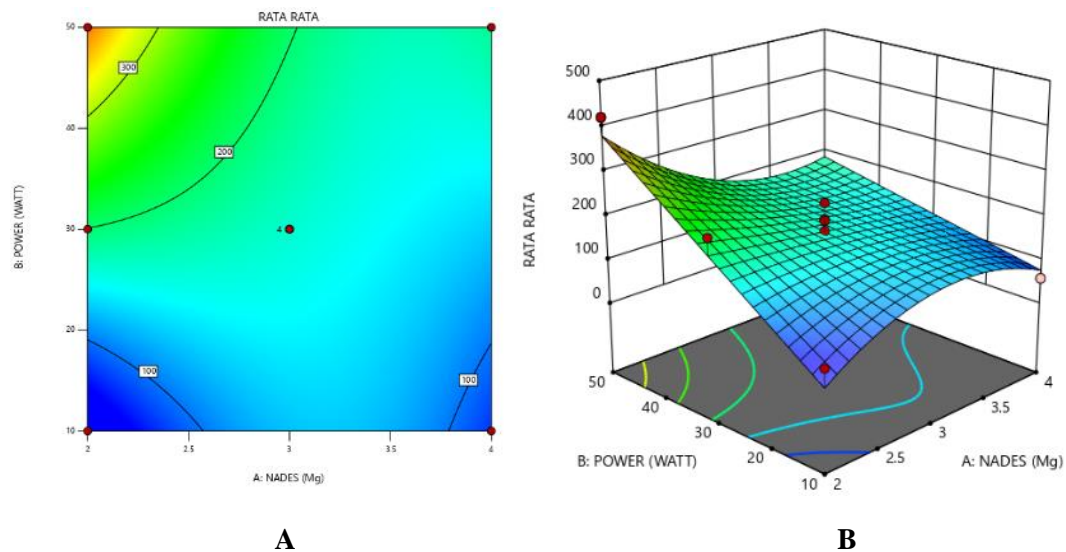
Tabel 3. Hasil Perhitungan ANOVA (Analysis of Variance) menggunakan perangkat lunak *Design Expert v12* berlisensi

Sumber	Jumlah Kuadrat	df	Kuadrat Rata-rata	F-Hitung	Prob
Model	0,0000104	6	17326,69	8,99	< 0,0001
X <sub>1</sub>	14544,58	1	14544,58	7,54	0,0118
X <sub>2</sub>	11773,45	1	11773,45	6,11	0,0217
X <sub>3</sub>	444,08	1	444,08	0,2303	0,6360
X <sub>4</sub>	2995,29	1	2995,29	1,55	0,2257
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	15762,80	1	15762,80	8,18	0,0091
X <sub>1</sub> <sup>2</sup> X <sub>2</sub>	16901,73	1	16901,73	8,77	0,0072
Residual	42414,97	22	1927,55		
Lack of Fit	40311,91	18	2239,55	4,26	0,0849
Pure Error	2103,07	4	525,77		
Cor Total	0.00001464				

Pada Tabel 4 menunjukkan nilai estimasi koefisien, derajat bebas, standar error, *confidence interval* (interval kepercayaan), dan VIF (*variance inflation factor*). Nilai estimasi koefisien mewakili perubahan yang diharapkan dalam respons per unit perubahan dalam nilai faktor ketika semua faktor yang tersisa dipertahankan konstan. Koefisien sendiri merupakan penyesuaian disekitar rata-rata berdasarkan pengaturan faktor parameter yang digunakan. Intersep dalam desain ortogonal adalah respons rata-rata keseluruhan dari semua proses. Dalam kondisi sebagai faktor dalam bentuk ortogonal, nilai VIF adalah 1, VIF >1 menunjukkan multi-kolinearitas, semakin tinggi nilai VIF maka semakin besar korelasi faktor yang didapatkan. Namun, batas toleransi adalah nilai VIF harus lebih kecil dari 10. VIF bertujuan untuk mengukur seberapa banyak variasi disekitar estimasi koefisien meningkat dengan kurangnya ortogonalitas dalam desain (Meeker *et al.*, 2017). Oleh karena itu, model persamaan yang diperoleh memiliki korelasi yang baik. Adapun persamaan regresi multilinier yang diperoleh adalah Kadar Polifenol Total =  $165,17 - 33,97X_1 + 38,36X_2 - 6,08X_3 + 16,12X_4 - 62,77X_1X_2 + 79,61X_1^2X_2$  ( $R^2 = 0,7102$ ). X<sub>1</sub> adalah rasio asam malat-glukosa (g/g), X<sub>2</sub> adalah kekuatan *microwave* (% watt), X<sub>3</sub> adalah rasio pelarut-sampel (mL/g), dan X<sub>4</sub> adalah waktu ekstraksi (menit). Koefisien regresi mewakili perubahan yang diharapkan dalam respon kadar polifenol total per perubahan unit di X ketika semua faktor yang tersisa tetap konstan.

Tabel 4. Koefisien estimasi, *standard error* (SE), *confidence interval* dan VIF

Faktor	Koefisien Estimasi	df	SE	95% CI Low	95% CI High	VIF
Intersep	165,17	1	8,22	148,12	182,22	
X <sub>1</sub>	-33,97	1	12,37	-59,62	-8,32	1,03
X <sub>2</sub>	38,36	1	15,52	6,17	70,56	1,50
X <sub>3</sub>	-6,08	1	12,68	-32,37	20,20	1,00
X <sub>4</sub>	16,12	1	12,93	-10,70	42,93	1,03
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	-62,77	1	21,95	-108,31	-17,24	1,00
X <sub>1</sub> <sup>2</sup> X <sub>2</sub>	79,61	1	26,89	23,85	135,38	1,50



Gambar 1. Kontur Plot dua dimensi (A) dan tiga dimensi (B) tentang hubungan antara konsentrasi NADES dengan Kekuatan *microwave*.

Berdasarkan hasil analisis dari RSM, model persamaan yang diperoleh dengan hasil analisis yang ditunjukkan pada Tabel 3 dan Tabel 4 menunjukkan bahwa variasi untuk masing-masing faktor yang berpengaruh signifikan terhadap respon hanyalah faktor  $X_1$  dengan nilai F hitung sebesar 7,54 dan nilai  $p < 0,05$  dan  $X_2$  dengan nilai F hitung 6,11 dan nilai  $p < 0,05$ . Namun, secara keseluruhan dua faktor lainnya memberikan pengaruh signifikan pada model, sehingga model dapat digunakan untuk memprediksi kondisi optimum yang diinginkan dalam rangka ekstraksi polifenol total dari daun Kadamba. Selanjutnya, jika dilihat dari kontur plot tiga dimensi seperti yang ditampilkan pada Gambar 1, menunjukkan pada kondisi rasio asam malat-glukosa pada konsentrasi 1:2 g/g dengan kekuatan *microwave* yang tertinggi maka masih menghasilkan kadar polifenol total yang maksimum. Hal ini sesuai dengan hasil analisis pada poin prediksi RSM yang menyarankan kondisi optimum diperoleh pada rasio asam malat-glukosa sebesar 1:2 g/g, 50% watt (setara dengan 450 watt) kekuatan *microwave*, rasio pelarut-sampel sebesar 12:1 mL/g, dan waktu ekstraksi selama 7 menit, maka akan diperoleh kadar polifenol prediksi sebesar 402,1 mg GAE/g sampel. Perhitungan hasil prediksi tersebut diperoleh dari persamaan hasil analisis dengan RSM.

## KESIMPULAN

Pada penelitian ini, diperoleh kondisi optimum dari metode ekstraksi berbantu *microwave* dengan NADES dengan kombinasi asam malat dan glukosa diperoleh pada kondisi rasio asam malat-glukosa sebesar 1:2 g/g, kekuatan *microwave* 50% watt (setara dengan 450 watt), rasio pelarut-sampel sebesar 12:1 mL/g, dan waktu ekstraksi selama 7 menit secara efektif, cepat, mudah, dan ramah lingkungan. Hasil penelitian ini merupakan data awal untuk mengembangkan dan memanfaatkan bahan alam dengan pendekatan kimia hijau. Namun, masih perlu dilakukan optimasi lagi dengan menggunakan faktor-faktor yang lain seperti pengaruh suhu, penggunaan jenis eksipien yang lain sebagai bahan NADES, maupun menggunakan metode ekstraksi yang lain yang tersedia di laboratorium. Penerapan prinsip kimia hijau dalam proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder target dari bahan alam, diharapkan dapat meningkatkan penggunaan bahan alam dalam memenuhi kebutuhan bahan baku obat berbasis bahan alam Indonesia. Hingga saat ini, bahan baku di Indonesia masih sebagian impor dan penggunaan pelarut organik konvensional memiliki persyaratan khusus untuk layak digunakan sebagai bahan baku dari ekstrak yang diperoleh.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Perguruan Tinggi (KEMRISTEKDIKTI) Republik Indonesia dan Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LP2M) Universitas Mulawarman. Penelitian ini di biyai oleh KEMRISTEKDIKTI melalui Hibah Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) Tahun 2019-2020 (Nomor Kontrak: 203/UN17.41/KL/2019)

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, I., Yanuar, A., Mulia, K., & Mun'im, A. (2017a). Application of ionic liquid based microwave-Assisted extraction of the secondary metabolite from *Peperomia pellucida* (L) Kunth. *Pharmacognosy Journal*, 9(2). <https://doi.org/10.5530/pj.2017.2.38>
- Ahmad, I, Pertiwi, A. S., Kembaren, Y. H., Rahman, A., & Mun'im, A. (2018). 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 Science*, 8(8), 138–143. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8819>
- Ahmad, I, Yanuar, A., Mulia, K., & Mun'im, A. (2017b). 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*, 7(7), 660–665. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.06.010>
- Ahmad, I, Yanuar, A., Mulia, K., & Mun'im, A. (2018). Ionic liquid-based microwave-assisted extraction: Fast and green extraction method of secondary metabolites on medicinal plant. *Pharmacognosy Reviews*, 12(23), 20–26. <https://doi.org/10.4103/phrev.phrev>
- Ainsworth, E., & Gillespie, K. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4), 875–877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., *et.al.* (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírseada, P., Marín-Arroyo, M., & Navarro, M. (2014). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204–209. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6706>
- Brown, P. N., Lund, J. A., & Murch, S. J. (2017). A botanical, phytochemical and ethnomedicinal review of the genus *Mitragyna* Korth: Implications for products sold as kratom. *Journal of Ethnopharmacology*, 202, 302–325. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.03.020>
- Chemat, F., & Vian, M. A. (2014). *Green Chemistry and Sustainable Technology: Alternative Solvents for Natural Products Extraction*. Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer US.
- Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012). Green extraction of natural products: Concept and principles. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(7), 8615–8627. <https://doi.org/10.3390/ijms13078615>
- Gómez, A. V., Tadini, C. C., Biswas, A., Buttrum, M., Kim, S., Boddu, V. M., *et.al.* (2019). Microwave-assisted extraction of soluble sugars from banana puree with natural deep eutectic solvents



- (NADES). *LWT - Food Science and Technology*, 107(October 2018), 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.052>
- González, C. G., Mustafa, N. R., Wilson, E. G., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2018). Application of natural deep eutectic solvents for the “green” extraction of vanillin from vanilla pods. *Flavour and Fragrance Journal*, 33(1), 91–96. <https://doi.org/10.1002/ffj.3425>
- Ikhwan, D., Harlia, & Widiyantoro, A. (2018). Karakterisasi senyawa sitotoksik dari fraksi etil asetat daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth.) dan aktivitasnya terhadap sel kanker payudara T47D. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(2), 18–24.
- Meeker, W., Hahn, G., & Escobar, L. (2017). *Statistical Intervals, A Guide for Practitioners and Researchers* (2nd Editio). John Wiley and Sons, Inc.
- Mulia, K., Fauzia, F., & Krisanti, E. A. (2019). Polyalcohols as hydrogen-bonding donors in choline chloride-based deep eutectic solvents for extraction of xanthenes from the pericarp of *Garcinia mangostana* L. *Molecules*, 24(3). <https://doi.org/10.3390/molecules24030636>
- Orio, L., Alexandru, L., Cravotto, G., Mantegna, S., & Barge, A. (2012). UAE, MAE, SFE-CO<sub>2</sub> and classical methods for the extraction of *Mitragyna speciosa* leaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3), 591–595. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.10.001>
- Raini, M. (2017). Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth): Manfaat, efek samping dan legalitas. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, 27(3), 175–184. <https://doi.org/10.22435/mpk.v27i3.6806.175-184>
- Sanchez-Rangel, J., Benavides, J., Heredia, J., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velazquez, D. (2013). The Folin-Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Anal. Methods*, 5(21), 5990–5999. <https://doi.org/10.1039/b000000x>
- Singh, D., Narayanan, S., & Vicknasingam, B. (2016). Traditional and non-traditional uses of Mitragynine (Kratom): A survey of the literature. *Brain Research Bulletin*, 126, 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.05.004>
- Torres-Vega, J., Gomez-Alonso, S., Perez-Navarro, J., & Pastene-navarrete, E. (2020). Green extraction of alkaloids and polyphenols from *Peumus boldus* leaves with natural deep eutectic. *Plants*, 9, 242–259.
- Wang, H., Ma, X., Cheng, Q., Xi, X., & Zhang, L. (2018). Deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction of baicalin from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Journal of Chemistry*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/9579872>