

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara dengan keanekaragaman hayati tertinggi di dunia. Sekitar 30.000 jenis tanaman yang merupakan 75% dari jumlah tanaman di dunia terdapat di Indonesia sehingga Indonesia dikenal dengan *mega-center* keanekaragaman hayati dunia (Suliasih & Mun'im, 2022). Keanekaragaman hayati tersebut terdiri atas tanaman obat yang mempunyai potensi sebagai sumber obat tradisional.

Obat tradisional dapat didefinisikan sebagai bahan atau ramuan yang telah digunakan secara turun temurun untuk pengobatan, seperti tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik), atau campuran dari bahan-bahan dan digunakan sesuai dengan norma yang berlaku di masyarakat (BPOM RI, 2021). Pengembangan obat tradisional saat ini sebagian besar berasal dari tumbuh-tumbuhan.

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.). Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) termasuk tumbuhan yang berasal dari *Mussaenda* yang memiliki banyak manfaat sebagai obat. Purnajiwa termasuk ke dalam genus *Kopsia* dimana terdiri dari 24 spesies yang tersebar di beberapa negara terutama Asia Tenggara, India, China, Australia bagian utara, dan Vanuatu (Wirawan *et al.*, 2023). Di wilayah Indonesia, tepatnya di daerah Bali, para balian usada atau dukun pengobatan tradisional Bali mengatakan bahwa buah purnajiwa dapat digunakan sebagai obat kuat yang dapat meningkatkan gairah (Prihantini *et al.*, 2018; Priyadi *et al.*, 2018). Adapun berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui juga bahwa purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) memiliki sifat farmakologis yang telah dievaluasi sebagai antitumor, antioksidan dan agen pereduksi lipid (Priyadi *et al.*, 2018). Efek farmakologi ini muncul karena ragamnya kandungan senyawa fitokimia yang terkandung dalam purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.).

Fitokimia merupakan senyawa bioaktif kimia yang diproduksi alami oleh tumbuhan melalui metabolisme primer atau metabolisme sekunder (Surahmaida *et al.*, 2018). Bagian tumbuhan purnajiwa yang mempunyai kandungan fitokimia yang beragam dan banyak dimanfaatkan oleh masyarakat yaitu pada bagian buahnya. Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Wirawan *et al* (2023) menunjukkan bahwa kandungan total alkaloid pada ekstrak buah purnajiwa yaitu sebesar 478,81 mg/g, sehingga membuktikan bahwa kandungan alkaloid yang terdapat dalam ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) lebih dominan dari senyawa fitokimia lainnya.

Alkaloid adalah senyawa organik dengan cincin nitrogen dan heterosiklik, yang memiliki efek farmakodinamik yang signifikan bahkan dalam jumlah yang kecil (H. Hasan *et al.*, 2022). Atropin, morfin, kuinin dan vincristine merupakan contoh alkaloid yang memiliki efek terapi sebagai antimalaria dan antikanker (Setyaningrum & Susanti, 2022). Selain itu alkaloid juga memiliki aktivitas farmakologi sebagai antioksidan yaitu dengan adanya atom nitrogen dalam strukturnya, atom tersebut memiliki pasangan elektron bebas yang berfungsi untuk meredam aktivitas radikal bebas di dalam tubuh (H. Hasan *et al.*, 2022; Kartika *et al.*, 2020).

Selain alkaloid, ekstrak buah purnajiwa juga memiliki kandungan senyawa fitokimia seperti flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan triterpenoid (Purwanto *et al.*, 2017). Adanya senyawa fitokimia tersebut menyebabkan ekstrak buah punajiwa mempunyai efek farmakologis dan aktivitas biologis yang signifikan. Hal tersebut mendasari pentingnya dilakukan pengujian fitokimia untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung di dalamnya, mulai dari struktur kimia, biosintesa, perubahan serta metabolisme, dan bioaktivitas.

Mengingat besarnya potensi senyawa fitokimia pada buah purnajiwa perlu dilakukan penelitian mengenai metode ekstraksi yang paling tepat untuk memperoleh ekstrak dengan kandungan fitokimia serta kadar alkaloid yang tinggi sebagai fitokimia yang dominan. Metode ekstraksi mempengaruhi profil fitokimia suatu ekstrak (Candra *et al.*, 2021). Disamping itu, perbedaan metode ekstraksi juga menyebabkan interaksi antara pelarut dengan senyawa terlarut terhadap sifat

polaritas yang sama (Putri *et al.*, 2022). Mengingat hal tersebut, penting dilakukannya optimasi terhadap metode ekstraksi karena menentukan kualitas dari suatu ekstrak.

Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan metode ekstraksi soxhletasi dengan metode ekstraksi maserasi terhadap senyawa fitokimia dan kadar alkaloid dalam ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.). Pada penelitian yang dilakukan oleh Kocanci *et al* (2022) disebutkan bahwa metode soxhletasi merupakan salah satu metode yang paling banyak digunakan dalam ekstraksi alkaloid total dan penentuan terhadap berbagai kandungan alkaloid. Kemudian metode soxhletasi juga menghasilkan hasil ekstrak yang banyak dengan jumlah pelarut yang digunakan lebih sedikit serta waktu yang lebih cepat (Marjoni, 2016). Disamping itu, dari penelitian yang dilakukan oleh Wirawan *et al* (2023) disebutkan bahwa dengan metode maserasi mampu menghasilkan ekstrak dengan kandungan fitokimia yang beragam yang terdiri dari flavonoid, fenol, alkaloid, serta tanin. Metode ekstraksi maserasi merupakan metode ekstraksi dengan cara yang sederhana dan dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat tidak tahan terhadap panas serta senyawa fitokimia tidak mudah mengalami kerusakan, sehingga metode ini banyak digunakan dalam proses ekstraksi (Mukhriani, 2014; Rahman *et al.*, 2017; Sekali *et al.*, 2020).

Adapun dengan mengacu pada latar belakang tersebut, diperlukan penelitian untuk membandingkan metode ekstraksi soxhletasi dan maserasi terhadap senyawa fitokimia dan kadar alkaloid pada ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh metode ekstraksi soxhletasi dan maserasi terhadap kandungan senyawa fitokimia pada ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) yang diuji dengan menggunakan skrining fitokimia dengan pereaksi tabung dan instrumen GC-MS ?

2. Bagaimana pengaruh metode ekstraksi soxhletasi dan maserasi terhadap kadar alkaloid pada ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) yang diuji dengan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang diangkat pada penelitian ini, maka tujuan dari penelitian ini meliputi :

1. Untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi soxhletasi dan maserasi terhadap kandungan senyawa fitokimia pada ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) yang diuji dengan menggunakan skrining fitokimia dengan pereaksi tabung dan instrumen GC-MS
2. Untuk mengetahui pengaruh metode ekstraksi soxhletasi dan maserasi terhadap kadar alkaloid pada ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) yang diuji dengan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai referensi ilmiah dalam penelitian ilmu farmasi serta dapat memberikan kontribusi dalam perkembangan ilmu pengetahuan farmasi bahan alam yang berkaitan dengan metode ekstraksi serta kandungan fitokimia dari bahan alam.

1.4.2 Manfaat praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi ilmiah terkait metode ekstraksi yang tepat untuk mengidentifikasi senyawa fitokimia dan mengetahui kadar alkaloid. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan nilai guna dari buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.).



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.)

2.1.1 Taksonomi *Kopsia arborea* Blume.

Secara sistematis, tanaman purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) dapat diklasifikasikan sebagai berikut :



Sumber : dokumentasi pribadi

Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Gentianales
Family	: Apocynaceae
Genus	: Kopsia
Spesies	: <i>Kopsia arborea</i> Blume.

Sumber : (Kew Science, 2023)

2.1.2 Nama daerah *Kopsia arborea* Blume.

(*Kopsia arborea* Blume.) dalam bahasa Indonesia disebut pranajiwa. Kemudian di wilayah Jawa disebut pronojiwo, sementara di Bali disebut purnajiwa (Hakim & Yuliah, 2018)

2.1.3 Morfologi *Kopsia arborea* Blume.

Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) merupakan tanaman yang memiliki potensi sebagai obat tradisional. Berdasarkan morfologinya, tanaman purnajiwa ini merupakan salah satu jenis tanaman dengan percabangan jarang, memiliki daun majemuk lonjong berjumlah 3-5 helai, agak berdaging. Kemudian tanaman ini juga memiliki bagian buah yang berukuran kecil, berwarna mengkilap, berbentuk lonjong dan memiliki panjang 1-2 cm dimana buah yang belum masak memiliki warna hijau dan saat masak akan berwarna biru kehitaman. Tanaman ini juga mempunyai bunga kecil berukuran 1-2,5 cm, warna putih, bentuk seperti kupu-kupu (Lemmens & Bunyapraphatsara, 2003; Tirta *et al.*, 2010).

2.1.4 Kandungan kimia tanaman purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, didapatkan hasil pengujian fitokimia pada bagian-bagian tanaman purnajiwa meliputi pada bagian akar, buah, batang serta daun. Pada bagian akar terdeteksi memiliki kandungan metabolit sekunder yakni alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, terpenoid. Bagian batang purnajiwa memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid, fenolat, steroid, terpenoid. Kemudian pada bagian daun purnajiwa terdeteksi memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid, tannin, dan steroid. Selanjutnya pada bagian buah purnajiwa memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yakni alkaloid. (Lemmens & Bunyapraphatsara, 2003; Prihantini *et al.*, 2018)

2.1.5 Manfaat buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.)

Bagian tanaman purnajiwa yang memiliki khasiat sebagai obat salah satunya yakni bagian buah yang mempunyai khasiat sebagai bahan pembangkit stamina pada pria (*afrodisiak*) (Hakim & Yuliah, 2018; R. Al Hasan *et al.*, 2022; Oktavia *et al.*, 2017). Selain itu buah tanaman ini juga memiliki memiliki sifat farmakologinya

yang telah dievaluasi sebagai antitumor, antioksidan dan agen pereduksi lipid (Priyadi *et al.*, 2018) Kemudian menurut (Sutomo & Mukaromah, 2010) dijelaskan bahwa buah purnajiwa juga memiliki aktivitas antidotum, ekspektoran, dan tonik yang dapat menetralkan racun ular dan obat TBC. Penelitian sebelumnya juga menjelaskan bahwa bagian buah purnajiwa memiliki aktivitas antibakteri terhadap *B. subtilis Inacc-B-334* dan *S. aureus Inacc-B4* (Prihantini *et al.*, 2018).

2.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa dan biasanya memiliki satu atau lebih atom nitrogen dalam gabungan sistem siklik (Harborne, 1997). Senyawa alkaloid biasanya ditemukan secara alami di dalam biji, buah, batang, akar, daun, dan organ lainnya. Carl Friedrich Wilhelm Meissner (1819), seorang apoteker dari Halle (Jerman), pertama kali menggunakan istilah "alkaloid" (berarti mirip alkali karena dianggap bersifat basa) untuk menyebut berbagai senyawa yang diperoleh dari ekstraksi tumbuhan yang bersifat basa (Heliawati, 2018). Alkaloid biasanya diturunkan dari asam amino, dimana beberapa alkaloid sangat beracun tetapi alkaloid yang lainnya sangat bermanfaat untuk pengobatan (Endarini, 2016).

Dalam dua bentuknya, senyawa alkaloid dapat ditemukan dalam bentuk bebas atau basa atau dalam bentuk garam. Alkaloid dalam bentuk basa mudah larut dalam pelarut organik seperti eter dan kloroform, tetapi alkaloid dalam bentuk garam lebih sulit larut dalam pelarut organik di air. Alkaloid biasanya pahit dan memiliki aktivitas farmakologis. Secara kebanyakan wujud alkaloid berbentuk padatan kristal dan sedikit diantaranya merupakan padatan amorf.

Alkaloid dapat diklasifikasikan berdasarkan kerangka karbonnya meliputi alkaloid sebenarnya (*True alkaloid*), *protaalkaloid*, *pseudoalkaloid*. Selain itu alkaloid juga dapat diklasifikasikan berdasarkan biosintesis, kerangka struktur kimia, farmakologi, serta taksonomi (Julianto, 2019).

2.3 Deteksi Alkaloid

Deteksi kadar senyawa alkaloid pada ekstrak dapat menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis, dimana *bromocresol green* (BCG) digunakan untuk

mengekstraksi senyawa alkaloid dari bagian tanaman. Metode ini digunakan karena dapat mendeteksi seberapa besar kandungan alkaloid total pada sampel dengan menggunakan larutan standar yaitu kafein. Metode ini didasarkan pada reaksi alkaloid dengan *bromocresol green* (BCG) yang membentuk sebuah olahan berwarna kuning. Metode ini memberikan keuntungan dari sensitivitas dan stabilitas (Wulandari & Marpaung, 2022). Selain itu, bromocresol hijau (BCG) hanya dapat bereaksi dengan beberapa jenis alkaloid tertentu yaitu alkaloid dengan nitrogen di dalam strukturnya dan amina atau amida tidak dapat bereaksi dengan reagen ini (Ajanal *et al.*, 2012). Preparasi deteksi alkaloid kemudian dilakukan dengan mengambil beberapa sampel ekstrak dan menambahkan buffer fosfat dengan pH 4,7. Hal ini menghasilkan pembentukan garam alkaloid, dan pH larutan menjadi basa setelah ditambahkan *bromocresol green* (BCG).

2.4 Senyawa Fitokimia

Senyawa fitokimia adalah suatu zat kimia alami yang ditemukan dalam tanaman yang memberikan rasa, aroma, dan warna khas dari tanaman tertentu (Bahruddin, 2018). Senyawa fitokimia merupakan suatu senyawa golongan metabolit sekunder dalam makhluk hidup yang memiliki fungsi tertentu bagi manusia. Adapun senyawa fitokimia tersebut yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid atau steroid, kuinon, serta fenol.



2.5 Ekstraksi

2.5.1 Definisi ekstraksi

Ekstraksi merupakan sebuah proses dimana terjadi pemisahan bahan dari campuran dengan penggunaan pelarut yang sesuai (Mukhriani, 2014). Proses ekstraksi dapat dihentikan apabila tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi pada sel tumbuhan.

2.5.2 Tujuan ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua zat aktif dan komponen kimia dalam simplisia tertentu (Marjoni, 2016). Untuk menentukan tujuan proses ekstraksi, beberapa kondisi dan pertimbangan harus diperhatikan, seperti :

1. Senyawa kimia yang telah mempunyai identitas

Untuk senyawa kimia yang memiliki identitas, proses ekstraksi dapat dilakukan menggunakan prosedur yang telah dipublikasikan atau dengan menggunakan prosedur yang telah dimodifikasi untuk menggambarkan proses ekstraksi tersebut.

2. Mengandung kelompok senyawa kimia tertentu

Ekstraksi bertujuan untuk menemukan kelompok senyawa kimia metabolit sekunder tertentu dalam simplisia, misalnya flavonoid, alkaloid, tannin, atau lainnya. Metode umum yang dapat digunakan adalah studi pustaka untuk memastikan hasil yang diperoleh.

3. Organisme (tanaman atau hewan)

Penggunaan simplisia dalam pengobatan tradisional biasanya dibuat secara tradisional, misalnya *traditional Chinese Medicine (TCM)* yang proses pembuatannya dengan menyeduh simplisia tersebut dalam air. Dalam hal ini, proses ekstraksi yang dilakukan secara tradisional harus ditiru sedekat mungkin apabila ekstrak akan melalui kajian ilmiah lebih lanjut.

4. Penemuan senyawa baru

Proses isolasi senyawa kimia baru yang belum diketahui sifat dan belum pernah ditentukan sebelumnya maka metode ekstraksi yang dapat dipilih yaitu berdasarkan penggunaan alat/bahan untuk mengetahui adanya senyawa kimia yang memiliki aktivitas biologis khusus.



2.5.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi ekstraksi

Menurut Tambun *et al* (2016) yaitu, beberapa faktor yang mempengaruhi metode ekstraksi adalah :

1. Ukuran bahan

Pengecilan bahan bertujuan untuk memperluas permukaan bahan agar pelarut dapat masuk dengan lebih cepat ke dalam bahan yang akan diekstrak. Sehingga penting dilakukan pengecilan ukuran bahan sebelum melakukan ekstraksi. Pengecilan ukuran bahan dapat dilakukan dengan menggunakan pisau, blender, dan lainnya.

2. Suhu ekstraksi

Suhu yang digunakan dalam proses ekstraksi dapat mempengaruhi ekstraksi tersebut. Suhu tinggi yang digunakan akan mempercepat proses ekstraksi. Kemudian kenaikan suhu juga dapat menyebabkan peningkatan kadar komponen hasil ekstraksi.

3. Pelarut

Larutan yang akan digunakan sebagai pelarut merupakan pelarut pilihan yang paling sesuai. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi juga harus merupakan pelarut terbaik untuk bahan yang akan diekstraksi dan pelarut tersebut harus dapat terpisah dengan cepat setelah pengadukan.

2.5.4 Jenis-jenis ekstraksi

Jenis-jenis ekstraksi berdasarkan penggunaan panas dibagi menjadi dua yakni ekstraksi secara panas dan ekstraksi secara dingin (Marjoni, 2016)

1. Ekstraksi cara panas

Ekstraksi cara panas merupakan salah satu metode ekstraksi yang melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung dimana mempunyai tujuan dalam mempercepat proses ekstraksi tersebut. Metode ekstraksi secara panas digunakan apabila senyawa-senyawa dalam simplisia tersebut tahan terhadap panas. Ekstraksi secara panas dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu seduhan, penggodakan, infusa, digesti, dekokta, refluks, soxhletasi (Hujjastusnaini *et al.*, 2021; Marjoni, 2016).

2. Ekstraksi cara dingin

Ekstraksi cara dingin merupakan salah satu metode ekstraksi dimana tidak melibatkan pemanasan selama proses ekstraksi berlangsung yang mana bertujuan supaya senyawa yang diinginkan tidak rusak. Ekstraksi secara dingin bertujuan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat di dalam simplisia yang tidak tahan terhadap panas (Hujjastusnaini *et al.*, 2021; Marjoni, 2016). Ekstraksi secara dingin dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu maserasi dan perkolasi.



2.6 Pelarut dalam proses ekstraksi

Menentukan dan memilih pelarut dalam proses ekstraksi biasanya didasarkan oleh interaksi antara zat terlarut dengan pelarut yang digunakan. Selain itu beberapa faktor pemilihan pelarut yaitu selektivitas, titik didih pelarut, viskositas, sifat pelarut yang harus bersifat inert (Marjoni, 2016)

Adapun dalam proses ekstraksi buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.) menggunakan pelarut yaitu metanol. Pelarut metanol dapat mengekstrak senyawa-senyawa seperti flavonoid, polifenol, tanin, dan alkaloid (Rudiana *et al.*, 2021). Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar, semi polar maupun nonpolar (Alfauzi *et al.*, 2022). Metanol mempunyai dua gugus yang berbeda kepolarannya, yaitu gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat non polar. Adanya kedua gugus ini menyebabkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran yang berbeda dalam sampel akan terekstrak ke dalam pelarut metanol.

2.7 Metode Ekstraksi Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.)

2.7.1 Soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara ekstraksi secara berulang menggunakan pelarut tertentu dengan menggunakan alat soxhlet, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi (Marjoni, 2016). Secara umum, alat soxhletasi terdiri dari beberapa bagian besar yakni labu soxhlet, ekstraktor soxhlet serta kondensor.

Prinsip kerja soxhletasi yaitu dengan menggunakan pelarut organik tertentu yang dipanaskan. Dimana dengan adanya pemanasan tersebut akan munculnya uap kemudian adanya pendingin balik mengakibatkan sampel terbasahi secara kontinu. Proses pemanasan dihentikan pada saat warna pelarut berubah menjadi bening pada thimble (selongsong tempat sampel). Proses ekstraksi dengan metode soxhletasi menggunakan pelarut mempunyai syarat-syarat yaitu pelarut mempunyai titik didih yang rendah, pelarut tidak melarutkan senyawa yang tidak diinginkan, pelarut dapat terpisah secara cepat setelah pengocokan dan pelarut mempunyai sifat sesuai dengan senyawa yang akan diisolasi. Biasanya pelarut yang digunakan seperti n-



heksan, eter, petroleum eter, metil klorida dan alkohol. Selain pelarut, sampel yang dapat diekstraksi dengan cara soxhletasi mempunyai persyaratan yakni memiliki pori-pori yang besar, tidak dapat dilarutkan oleh pelarut yang digunakan, dinding sampel dapat ditembus oleh pelarut (Marjoni, 2016).

Metode soxhletasi memiliki keunggulan yaitu dapat digunakan terhadap sampel yang tidak tahan pemanasan secara langsung, sampel dapat diekstraksi secara sempurna, sampel yang diperlukan juga sedikit, pelarut serta waktu yang digunakan lebih efisien. Selain keunggulan, metode soxhletasi juga memiliki kelemahan yaitu tidak dapat digunakan untuk sampel yang mudah rusak akibat pemanasan, terjadinya reaksi peruraian oleh panas, pelarut mudah menguap karena mempunyai titik didih yang rendah (Marjoni, 2016).

2.7.2 Maserasi

Maserasi berasal dari bahasa latin *“macerare”* yang berarti merendam, sehingga maserasi dapat diartikan sebagai suatu sediaan cair yang dibuat dengan cara merendam bahan nabati menggunakan pelarut bukan air atau pelarut setengah air seperti etanol encer selama waktu tertentu (Marjoni, 2016). Keunggulan metode maserasi yakni merupakan metode yang paling ekonomis, sederhana dan dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat tidak tahan terhadap panas (Mukhriani, 2014; Rahman *et al.*, 2017; Sekali *et al.*, 2020). Selain keunggulan, metode maserasi juga memiliki kelemahan yakni pengerjaannya yang lama, penyarian kurang sempurna, dan pelarut yang digunakan cukup banyak (Sudarwati & Fernanda, 2019). Maserasi memiliki prinsip kerja yaitu dengan proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*), dimana cairan penyari akan masuk ke dalam dinding sel dan zat aktif akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam dan di luar sel. Kemudian larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak ke luar sel hingga tercapai titik kesetimbangan. Peristiwa tersebut terjadi berulang kali hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Handoyo, 2020; Salamah *et al.*, 2017)

Proses maserasi dilakukan pada suhu 15⁰- 20⁰C selama 3-5 hari sampai zat aktif yang dikehendaki larut. Dengan waktu yang diperlukan tersebut telah tercapai

keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan luar sel. Pada saat maserasi, dilakukan pengocokan atau pengadukan berulang-ulang, hal tersebut bertujuan untuk menjamin keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi lebih cepat dalam cairan. Tanpa adanya pengocokan atau pengadukan berulang-ulang maka dapat mengakibatkan berkurangnya perpindahan bahan aktif selama maserasi berlangsung. Semakin besar perbandingan simplisia terhadap cairan pengekstraksi, maka semakin banyak hasil yang diperoleh (Marjoni, 2016; Sudarwati & Fernanda, 2019). Selain itu, pemilihan pelarut juga berperan penting karena dapat memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut.

2.8 Ekstrak

2.8.1 Definisi ekstrak

Ekstrak merupakan suatu bentuk sediaan yang mempunyai warna pekat dimana diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia baik simplisia nabati maupun simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian seluruhnya atau hampir seluruhnya pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, 2014).

2.8.2 Faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak

Adapun beberapa faktor yang mempengaruhi mutu ekstrak yaitu (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000)

1) Faktor biologi

Mutu suatu ekstrak yang dipengaruhi oleh bahan asal yaitu tumbuhan obat dan khususnya dipandang dari segi biologi. Faktor biologi meliputi identitas jenis, lokasi tumbuhan asal, periode pemanenan hasil tumbuhan, penyimpanan bahan tumbuhan, umur tumbuhan dan bagian yang digunakan

2) Faktor kimia

Mutu suatu ekstrak yang dipengaruhi oleh bahan asal yaitu tumbuhan obat khususnya dipandang dari segi kandungan kimianya. Faktor kimia terdiri dari faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi jenis senyawa



aktif dalam bahan, komposisi kualitatif dan kuantitatif senyawa aktif, serta kadar total rata-rata senyawa aktif. Kemudian faktor eksternal meliputi metode ekstraksi; perbandingan ukuran alat ekstraksi, kekerasan dan kekeringan bahan, pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, kandungan logam berat dan kandungan pestisida.

2.9 Spektrofotometri UV-Visible

Spektrofotometri merupakan suatu metode analisa yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor fototube (Yudono, 2017). Kemudian instrumen yang digunakan dalam analisa tersebut adalah spektrofotometer. Spektrofotometer terdiri dari dua alat yaitu spectrometer dan fotometer. Pada umumnya spektrofotometer dibagi menjadi dua tipe yakni *single beam instrument* dan *double beam instrument*. Pada spektrofotometer *double beam*, pengukuran dapat dilakukan secara bersamaan antara kuvet yang berisi larutan standar dan kuvet yang berisi blanko dalam satu ruang. Ini memungkinkan pembacaan serapan zat tidak dipengaruhi oleh perubahan tegangan listrik. Adapun secara umum sistem spektrofotometer terdiri dari sumber radiasi, monokromator, kuvet, detektor, amplifier, rekorder.

Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode analisis yang menggunakan panjang gelombang UV dan Visible sebagai suatu area serapan untuk mendeteksi keberadaan senyawa tertentu. Pada umumnya senyawa yang dapat diidentifikasi menggunakan spektrofotometri Uv-Vis adalah senyawa yang mempunyai gugus kromofor dan gugus auxokrom (Sahumena *et al.*, 2020). Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk penentuan terhadap sampel baik berupa larutan, gas, atau uap. Sinar ultraviolet (UV) mempunyai rentang panjang gelombang dari 200-400 nm, sedangkan sinar tampak (Vis) mempunyai rentang panjang gelombang dari 400-750 nm kemudian sinar dimulai dari tidak berwarna hingga berwarna ungu kemerahan (Suharti, 2017). Spektrofotometri UV-Vis berdasar pada hukum *Lambert-Beer*. Dimana apabila sinar monokromatik melewati suatu senyawa maka sebagian sinar akan diabsorpsi, sebagian dipantulkan dan sebagian lagi akan dipancarkan (Ahriani *et al.*, 2021).

2.10 Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)

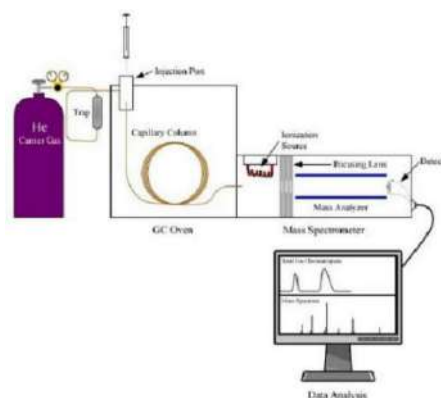
Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) adalah metode analisis yang digunakan untuk menganalisis senyawa kimia. Metode GC-MS merupakan suatu metode pemisahan sampel dengan menggunakan metode kromatografi gas (*Gas Chromatography*) dan MS (*Mass spectrometry*). Dimana kromatografi gas berfungsi untuk memisahkan dan menemukan senyawa yang mudah menguap dalam campuran sedangkan spektrometer massa dapat digunakan untuk memilih molekul-molekul gas bermuatan berdasarkan massa analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa dalam suatu campuran serta melakukan identifikasi semua jenis senyawa organik yang mudah menguap dalam analisis kuantitatif (Pertala *et al.*, 2022). Kemudian hasil yang didapatkan yaitu berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu puncak grafik yang menandakan adanya satu jenis senyawa pada suatu sampel (Melati, 2021).

Metode GC-MS sangat sensitif sehingga dapat membedakan senyawa yang saling bercampur dan mengidentifikasi berbagai senyawa walaupun dalam konsentrasi yang rendah (Candraningrat *et al.*, 2021). Penggunaan kromatografi gas digunakan dalam menemukan senyawa yang mudah menguap dalam kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah (Arabla, Upasakar, 2021). Sedangkan spektrometri massa digunakan dalam menentukan bobot molekul, rumus molekul serta menghasilkan molekul yang bermuatan (Kurniawan *et al.*, 2017).

GC-MS merupakan teknik yang memiliki nilai yang akurat dan *sensitive* untuk mengidentifikasi suatu senyawa dalam sampel. Dimana GC-MS memiliki keunggulan yakni efisien, memiliki resolusi tinggi yang dapat digunakan untuk menganalisis partikel yang sangat kecil. Selain itu aliran gas sangat terkontrol dan kecepatannya tetap. Analisisnya berlangsung cepat, tidak merusak sampel (Hermanto, 2008). Selain keunggulan, metode GC-MS juga memiliki kekurangan yaitu hanya dapat digunakan untuk zat yang mudah menguap, tidak dapat digunakan untuk memisahkan campuran dalam jumlah yang besar.

Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) memiliki prinsip kerja dimana bagian GC atau kromatografi gas digunakan untuk memisahkan campuran organik dan/atau anorganik yang mudah menguap. Pada umumnya GC

menggunakan kolom kapiler silika leburan beresolusi tinggi yang dilapisi dengan fase padat (SP) sebagai cairan padat atau tidak mudah mengalami penguapan, yang ditempatkan di dalam oven yang dikontrol suhunya. Pada saat larutan sampel disuntikkan ke dalam port injeksi maka larutan sampel akan segera menguap akibat suhu yang tinggi yaitu mencapai suhu 300°C di bawah tekanan yang rendah. Kemudian sampel melalui kolom dengan adanya penambahan fase gerak secara terus menerus yang disebut dengan fase elusi. Saat sampel melalui kolom, komponennya secara fisik berinteraksi dengan fase diam dan fase gerak dengan berbagai tingkat tergantung pada afinitas komponen campuran. Akibatnya, senyawa-senyawa yang berbeda akan bergerak melalui kolom kapiler dengan kecepatan yang berbeda dan akan keluar setelah waktu retensi yang berbeda. Sinyal yang dihasilkan ketika bagian dalam fase bergerak melalui kolom dan sampai pada detektor bergantung pada konsentrasi dan sensitivitas bagian tersebut. Plot sinyal dan waktu menghasilkan serangkaian puncak dalam kromatogram, dimana tergantung pada jumlah komponen yang terdapat pada sampel. Pada teknik GC-MS, bagian GC akan menghasilkan suatu fraksi murni setelah memisahkan campuran, dimana selanjutnya setiap komponen akan dikirimkan ke bagian MS untuk dilakukan ionisasi dan fragmentasi di dalam sumber ion, pemisahan massa dalam penganalisis ion (Ahmed, 2012). Adapun skema sistem GC-MS terdiri dari komponen utama yaitu injector, gas pembawa, oven, kolom, detector, interface, penganalisa ion/ massa. Adapun skema sistem GC-MS dapat dilihat pada gambar 2.2.



Sumber : (Wu et al., 2012)

2.11 Analisis Statistik

1. Uji normalitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui nilai sebaran data pada sebuah kelompok data atau variabel, apakah sebaran data tersebut terdistribusi normal atau tidak (Fahmeyzan et al., 2018). Pengambilan kesimpulan hasil uji normalitas dapat dilihat sebagai berikut yaitu jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka dinyatakan data terdistribusi normal. Namun jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka dinyatakan data tidak terdistribusi normal (Artha & Intan, 2021).

2. Uji homogenitas

Uji homogenitas digunakan sebagai dasar uji statistik. Untuk uji homogenitas, dasar pengambilan keputusan adalah sebagai berikut : (Artha & Intan, 2021)

- a. Jika nilai signifikansi atau Sig. $< 0,05$, maka varians dari dua atau lebih kelompok data tidak sama (tidak homogen).
- b. Jika nilai signifikansi atau Sig. $> 0,05$, maka dikatakan bahwa varians dari dua atau lebih kelompok data adalah sama (homogen).

3. Uji *t independent*

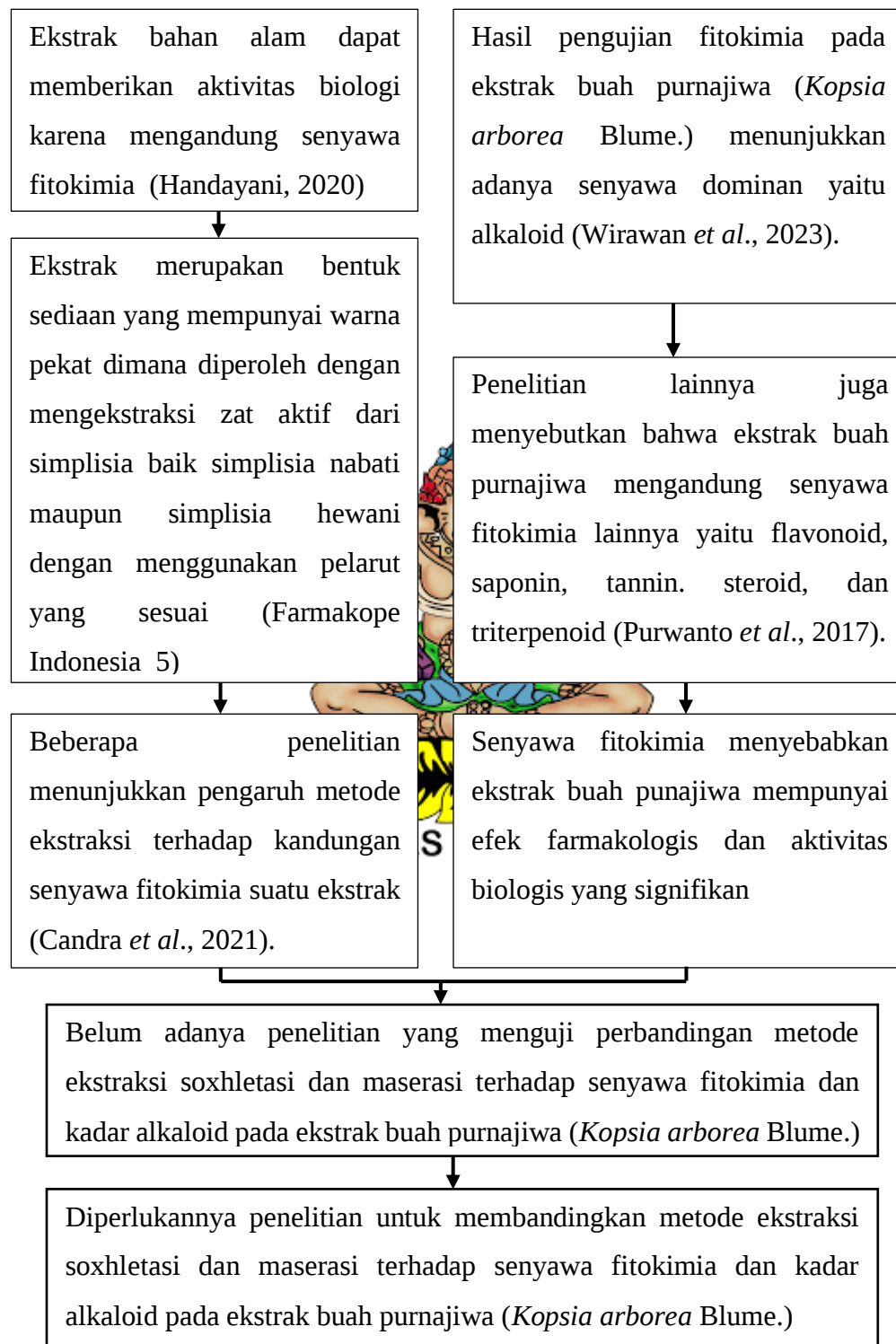
Uji *t independent* adalah metode pengujian dari uji statistic parametrik. Pengujian statistic *t* atau *t-test* dilakukan dengan menggunakan tingkat signifikansi sebesar 0,05. Uji hipotesis diterima atau ditolak sesuai dengan persyaratan berikut (Magdalena & Krisanti, 2019):

- a. Jika nilai signifikan $> 0,05$, maka hipotesis nol (H_0) diterima dan hipotesis alternatif (H_1) ditolak. Ini menunjukkan bahwa variabel independen tersebut tidak mempengaruhi variabel dependen secara signifikan secara parsial.
- b. Jika nilai signifikan $< 0,05$, maka hipotesis nol (H_0) ditolak dan hipotesis alternatif (H_1) diterima. Ini menunjukkan bahwa variabel dependen dipengaruhi secara signifikan oleh variabel independen secara parsial.



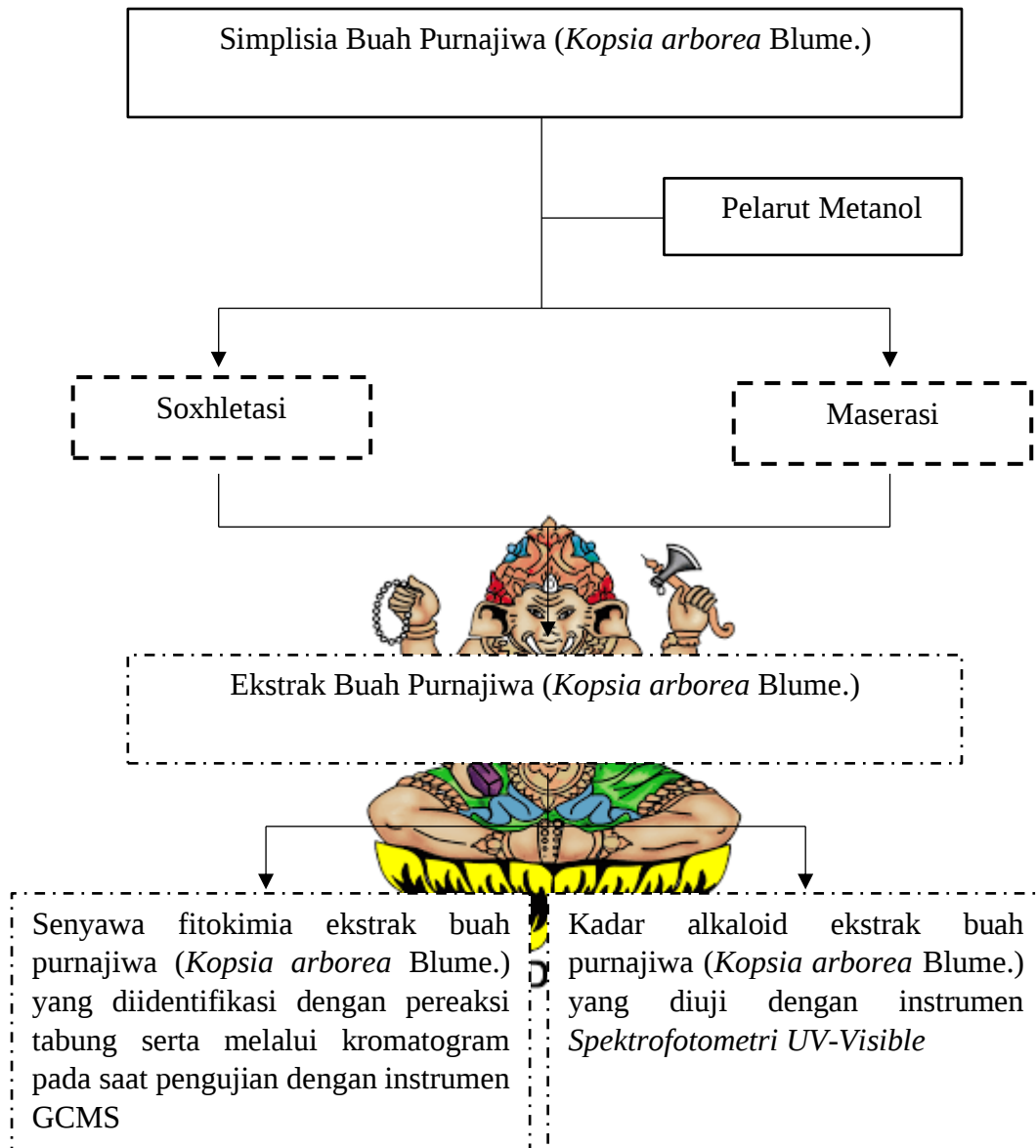
2.12 Kerangka Konseptual

2.12.1 Kerangka teori



Gambar 2. 3 Skema Kerangka Teori

2.12.2 Kerangka konsep



Gambar 2. 4 Skema Kerangka Konseptual

Keterangan :

Variabel Bebas :

Variabel terkontrol :

Variabel terikat :

2.13 Hipotesis

1. Diduga terdapat pengaruh metode ekstraksi soxhletasi dan maserasi terhadap senyawa fitokimia pada ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.).
2. Diduga terdapat pengaruh metode ekstraksi soxhletasi dan maserasi terhadap kadar alkaloid pada ekstrak buah purnajiwa (*Kopsia arborea* Blume.).

