

Penerapan Ekstraksi Cair Tekanan Uap Tinggi Menggunakan Bahan Halal untuk Optimasi Antioksidan

The Application of High-Pressure Extraction Using Halal Ingredients for Optimization of Antioxidant

Akhmad Endang Zainal Hasan^{1a}, Ike Yulia Wiendarlina², Witdiastuti²

¹Departemen Biokimia, FMIPA, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, 16680, Indonesia

²Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Pakuan, Bogor, 16143, Indonesia

^aKorespondensi : Akhmad Endang Zainal Hasan, E-mail: zainalhasan@apps.ipb.ac.id

Diterima: 04 – 04 – 2022, Disetujui: 28 – 04 – 2022

ABSTRACT

One of the plants used in traditional medicine is soursop. Antioxidants are compounds that can delay, slow down, or inhibit oxidation reactions. This study aims to determine the antioxidant activity due to the effect of variations in extraction time and the comparison of the number of samples with solvent in the high-pressure extraction method. The study made 13 treatments using the Response Surface Methodology (RSM) design with the fit of the Central Composite Design (CCD) model. The results showed that from the 13 treatments, the extraction time affected the percent yield with the equation $Y = -51.97 + 24.20 X_1 + 1.30 X_2$. The extraction time (X_1) has a value greater than the ratio of sample powder to the volume of distilled water (X_2) as well as the IC₅₀ value as shown in the equation $Y = 171.98 + 13.83 X_1 - 4.11 X_2$. Extraction time (X_1) has a greater value when compared to simplicia with solvent volume (X_2). The results of the research on extract yield optimal values used an extraction time of 6.3 minutes at a ratio of sample powder to the solvent volume of 1:61.2. The optimal antioxidant activity value was obtained at the extraction time of 4.3 minutes, and the ratio of the sample powder to the volume solvent was 1:78.2. The yield and antioxidant activity correction factors were 2.48% and 4.43%, respectively.

Keywords: antioxidant, CCD, extraction, RSM, soursop

ABSTRAK

Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah sirsak. Antioksidan adalah senyawa yang mampu menunda, memperlambat, atau menghambat reaksi oksidasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan akibat pengaruh variasi waktu ekstraksi dan nisbah sampel dengan pelarut pada metode ekstraksi tekanan tinggi. Penelitian membuat 13 perlakuan menggunakan desain *Response Surface Methodology* (RSM) dengan fit model *Central Composite Design* (CCD). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 13 perlakuan waktu ekstraksi berpengaruh terhadap persen rendemen dengan persamaan $Y = -51.97 + 24.20 X_1 + 1.30 X_2$. Waktu ekstraksi (X_1) memiliki nilai yang lebih besar dibandingkan dengan nisbah sampel dengan volume aquades (X_2) serta nilai IC₅₀ seperti terlihat pada persamaan $Y = 171.98 + 13.83 X_1 - 4.11 X_2$. Waktu ekstraksi (X_1) memiliki nilai yang lebih besar jika dibandingkan dengan simplisia dengan volume pelarut (X_2). Hasil penelitian rendemen ekstrak optimal diperoleh dengan menggunakan waktu ekstraksi 6,3 menit dengan nisbah sampel dengan volume pelarut 1:61.2. Hasil nilai aktivitas antioksidan optimal diperoleh pada waktu ekstraksi 4.3 menit dan nisbah sampel dengan volume pelarut adalah 1:78.2. Faktor koreksi untuk hasil dan aktivitas antioksidan masing-masing adalah 2.48% dan 4.43%.

Kata kunci: antioksidan, CCD, ekstraksi, RSM, sirsak

PENDAHULUAN

Pemanfaatan obat dari bahan alam pada mulanya digunakan dalam bentuk aslinya yaitu merupakan tanaman segar yang langsung digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan penyakit (Sumarni *et al.*, 2019), yang diolah berdasarkan pengalaman dan keterampilan yang diperoleh dari generasi sebelumnya. Daun sirsak merupakan bagian tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional. Adapun pengolahan daun sirsak sebagai obat tradisional dilakukan dengan cara perebusan atau penggodokan. Secara empiris 72 gram daun sirsak diseduh dalam 150 ml air, lalu diminum dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah (Cornelia *et al.*, 2019).

Menurut Gavamukulya *et al.* (2017); Mutakin *et al.* (2022) dinyatakan bahwa semua bagian tanaman dari sirsak ini dapat dimanfaatkan untuk obat. Menurut Wahab *et al.*, (2018) disebutkan bahwa terdapat kandungan steroid, tanin, saponin, alkaloid dan flavonoid dalam daun sirsak. Daun sirsak dapat dimanfaatkan untuk antipasmodik, vasodilator, antimikroba, antihipertensi dan antioksidan (Chowdhury *et al.*, 2021). Menurut Chowdhury *et al.* (2021), Hasmila *et al.* (2019), Budiarti & Ulfah (2016), komponen flavonoid daun sirsak dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan. Daun sirsak yang diekstrak dengan etanol 96% mempunyai aktivitas antioksidan IC_{50} 18 $\mu\text{g}/\text{mL}$, namun ekstrak etanol 70% mempunyai kekuatan antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan konsentrasi pelarut lainnya (Budiarti & Ulfah, 2016). Hasil penelitian Santos-Sánchez *et al.* (2019), menyebutkan bahwa senyawa yang mampu menghambat reaksi oksidasi, bahkan menunda reaksi oksidasi disebut sebagai senyawa antioksidan. Pengaruh buruk dari radikal bebas ini dapat dikurangi dengan adanya senyawa antioksidan. Menurut Shahidi & Zhong (2015); Santos-Sánchez *et al.* (2019), dengan adanya senyawa antioksidan ini maka proses penuaan, aterosklerosis dan kerusakan jaringan karena kanker dapat dicegah.

Senyawa aktif yang terdapat pada tumbuhan, dapat diekstraksi dengan beberapa cara, antara lain dengan metode ekstraksi cair tekanan uap tinggi. Metode ini adalah suatu cara untuk menghasilkan ekstrak dari suatu tanaman dengan menggunakan pelarut air disertai dengan pemberian tekanan uap yang tinggi. Cara ekstraksi ini merupakan penyederhanaan dari metode *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) yang menghasilkan suatu metode ekstraksi tekanan tinggi. Pada umumnya tekanan yang diberikan sekitar 1 hingga 15 bar pada metode ekstraksi tekanan tinggi ini. Metode ekstraksi tekanan tinggi ini pertama kali dipelajari pada tahun 2004 dan ditemukan untuk secara efektif dan efisien dalam proses ekstraksi (Khan *et al.*, 2019). Menurut Cardoso *et al.* (2013) yang menggunakan metode tekanan tinggi lebih baik dibandingkan dengan metode SFE pada kulit *Solanum stenotum* dalam kemampuannya sebagai antioksidan. Selain metode ekstraksi, waktu dan jumlah pelarut juga mempengaruhi mutu ekstrak yang dihasilkan. Menurut penelitian Saifullah *et al.* (2022), nisbah pelarut dan lama paparan mikrowave mempengaruhi hasil rendemen dan total flavonoid. Menurut Prasad *et al.* (2008), ekstraksi menggunakan metode tekanan tinggi lebih baik hasilnya dibandingkan dengan metode konsensional untuk hasil total fenolik dan antioksidan dari kulit buah lengkeng. Nilai aktivitas antioksidan yang kuat dapat diperoleh dengan ekstraksi menggunakan tekanan tinggi dibandingkan dengan cara ekstraksi yang lain (Lu *et al.*, 2020). Ekstraksi dengan tekanan tinggi menunjukkan bahwa rendemen yang dihasilkan, senyawa fenolik, aktivitas antioksidan dan anti-tirosinase dari bunga *Chenopodium formosanum* lebih baik dibandingkan dengan cara lainnya (Wang *et al.*, 2022).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan akibat pengaruh variasi waktu ekstraksi dan nisbah sampel dengan pelarut pada metode ekstraksi tekanan tinggi. Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi tentang ekstrak yang halal karena menggunakan pelarut air dan zat tambahan nabati seperti maltodekstrin atau bahan-bahan lain yang sudah mempunyai sertifikat halal.

MATERI DAN METODE

Materi

Penelitian ini menggunakan bahan daun sirsak, metanol, serbuk vitamin C, *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)*, HCL, kloroform (Merck), pereaksi Mayer, dan Dragendorff, pereaksi Lieberman-Burchard, larutan besi (III) klorida 10%, dan maltodekstrin (Budi Starch & Sweetener).

Metode Penelitian

1. Persiapan Simplisia (Zambrano *et al.*, 2019)

Pada penelitian ini, daun sirsak yang digunakan diambil di kebun sekitar Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah-Rempah, Bogor. Daun segar dibersihkan dengan hati-hati dan disortir untuk menghilangkan yang rusak kemudian dikeringkan dengan cara menjemur dengan sinar matahari. Daun kering digiling menjadi simplisia halus dan disaring dengan menggunakan saringan berdiameter 60 mesh, dimasukkan dalam kantong polietilen dan disimpan pada suhu kamar (25 ± 2 °C) sampai dilakukannya analisis.

2. Penetapan Kadar Air (Zambrano *et al.*, 2019)

Penetapan kadar air menggunakan moisture balance. Jumlah bahan yang digunakan sebanyak 5 gram. Kemudian bahan tersebut dimasukkan dalam alat hasilnya dicatat dalam satuan persentase.

3. Penetapan Kadar Abu (Liu, 2019)

Penetapan kadar abu menggunakan cawan yang sudah ditera dan melakukan pijar terhadap bahan hingga jadi abu dalam tanur pada suhu 700°C, setelah itu dinginkan, dan timbang.

$$\text{Kadar abu (\%)} = \left(\frac{(\text{bobot cawan+abu}) - \text{bobot cawan kosong}}{\text{bobot sample}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

4. Ekstraksi Daun Sirsak

a. Penentuan Pengaruh Waktu Ekstraksi (Hannachi *et al.*, 2019)

Sebanyak 10 g simplisia kering daun sirsak diekstraksi dengan alat autoklaf dengan menggunakan akuades sebagai pelarut dengan perbandingan simplisia 1:1. Diatur tekanan autoklaf pada 1 (satu) atmosfer (atm). Dilakukan ekstraksi dalam waktu yang berbeda mulai dari 1 menit hingga 15 menit. Kemudian dilakukan penyaringan terhadap larutan yang diperoleh. Filtrat yang didapatkan ditambah dengan maltodextrin dengan jumlah yang sama (1:1), kemudian dengan vacuum dryer dikeringkan. Serbuk yang terbentuk kemudian dibuat dalam larutan 1000 ug/mL dan dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dari ekstrak kering yang didapat untuk mengetahui pengaruh waktu terhadap ekstraksi.

b. Penentuan Pengaruh Nisbah Pelarut (Mustofa *et al.*, 2019);(Wu *et al.*, 2017)

Waktu terbaik ekstraksi dengan akuades yang didapat kemudian digunakan sebagai dasar untuk penentuan nisbah jumlah serbuk simplisia pada ekstraksi. Penentuan nisbah jumlah serbuk simplisia dilakukan dengan jumlah pelarut yang sama yaitu, 300 mL akuades. Jumlah simplisia yang digunakan yaitu berbanding 1:10 hingga 1:50 dengan menggunakan akuades sebagai pelarut sebanyak 300 mL yang digunakan selama waktu tertentu dengan tekanan 1 (satu) atmosfer (atm). Setelah itu, larutan disaring. Filtrat yang didapatkan ditambahkan dengan maltodextrin sama banyak dengan serbuk simplisia yang ditimbang (1:1), lalu dikeringkan dengan alat pengering vakum. Serbuk yang terbentuk kemudian dibuat dalam larutan 1000 ug/mL⁻¹ dan dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dari ekstrak kering yang didapat untuk mengetahui pengaruh nisbah sample dengan pelarut pada ekstraksi.

c. Analisis Fitokimia Ekstrak Daun Sirsak

Uji fitokimia yang meliputi alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan tannin mengikuti prosedur Hasan *et al.* (2016).

d. Uji Aktivitas Antioksidan DPPH (Huang *et al.*, 2019)

Pekerjaan yang pertama dilakukan pada pengujian antioksidan adalah menentukan waktu inkubasi yang menghasilkan aktivitas antioksidan maksimum. Selanjutnya adalah membuat larutan uji yang terdiri dari larutan DPPH yang ditambahkan metanol.

Pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan spektrometer. Kontrol positif menggunakan vitamin C. Persentase penghambatan dihitung menggunakan persamaan :

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{\text{Absorban Blanko} - \text{Absorban Sampel}}{\text{Absorban Blanko}} \times 100\% \tag{2}$$

Dengan diperolehnya nilai dalam selang yang tertentu maka diperoleh nilai IC₅₀ yang merupakan garis perpotongan antara daya hambat (%) dengan konsentrasi (Damasuri *et al.*, 2020).

Analisis Data

Pengolahan data yang dihasilkan dilakukan dengan metode RSM (Montgomery, 2013). Data hasil dan variable diolah menggunakan software Minitab 14 (*trial*). Rancangan yang dilakukan untuk penelitian ini berdasarkan penelitian pendahuluan dari waktu pemanasan dengan tekanan tinggi dan nisbah sample dengan pelarut. Minitab Release 14 (*trial*) digunakan sebagai bantuan dalam analisis statistika. Adapun model persamaan yang akan

diterapkan adalah $Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon_{ij}$, dengan Y : respon (rendemen atau aktivitas antioksidan), β_0 : tetapan, $\beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$: koefesien variabel bebas (X), X_i adalah variabel bebas dengan tanpa sandi (waktu = X_1 taraf 3.2, 4, 6, 8, dan 8.8 menit ; nisbah pelarut air-sampel = X_2 taraf nisbah 1 dengan 21.7, 30, 50, 70, dan 78.3, dan ε adalah galat (Tabel 1).

Tabel 1. RSM dengan kecocokan model CCD waktu ekstraksi dan nisbah pelarut dengan sampel

Perlakuan	Satuan	Level				
		- α	-1	0	1	α
Waktu (x1)	Menit	3,2	4	6	8	8,8
Nisbah akuades - sampel	μgmL^{-1}	21,7	30	50	70	78,3

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penetapan kadar air sample simplisia sebesar 9.15%, sedangkan kadar air ekstrak kering berdasarkan rancangan perlakuan dengan metode RSM berkisar antara 3,10%-4,16%. Menurut ketentuan BPOM (2014) bahwa kadar air suatu sample harus $\leq 10\%$. Kadar ini berhubungan dengan medium tumbuh bagi bakteri dan mikroorganisme. Sebagai contoh kadar air simplisia dari *Clerodendrum minahassae* mempunyai kadar air $\leq 10\%$ (Utami *et al.*, 2017). Hasil penentuan kadar abu total diperoleh rata-rata sebesar 1.96 %. Kadar abu ini sangat bervariasi antara satu bahan dengan bahan lainnya (Indriyanti *et al.*, 2017). Kandungan mineral suatu bahan ditentukan dari kadar abu total (BPOM, 2014).

Secara kualitatif kandungan fitokimia ekstrak adalah flavonoid, steroid, saponin dan tanin, steroid, dan saponin (Tabel 2). Komponen alkaloid tidak terdeteksi pada ekstrak daun sirsak.

Keberadaan flavonoid menurut Kumar & Pandey (2013) dengan melihat pembentukan warna merah, jingga atau kuning pada lapisan amilalkohol. Hal ini disebabkan oleh adanya reaksi antara magnesium dengan flavonoid. Menurut (Chaves *et al.*, 2020) senyawa flavonoid yang bersifat polar karena adanya gugus gula yang terikat pada senyawa flavonoid

menjadikan senyawa ini mudah larut dalam air. Adapun keberadaan saponin yang ditunjukkan dengan adanya buih menunjukkan gugus hidrofob yang berikatan dengan udara (Góral & Wojciechowski, 2020).

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Analisis	Ekstrak kering (waktu terbaik)	Ekstrak kering (nisbah terbaik)
Alkaloid	-	-
Flavonoid	+	+
Steroid	+	+
Saponin	+	+
Tannin	+	+

Keterangan : (+) positif = terdeteksi ada senyawa, (-) negatif = tidak terdeteksi ada senyawa

Hasil penentuan waktu ekstraksi ditampilkan pada Tabel 3. Hasil perhitungan rendemen ekstrak diperoleh bahwa waktu terbaik terletak pada 6 menit dengan nisbah 1:30. Menurut Kristanti *et al.* (2019), waktu ini sangat berpengaruh terhadap rendemen hasil ekstraksi. Namun tidak semua pengaruh waktu berbanding lurus dengan rendemen yang dihasilkan.

Tabel 3. Rendemen ekstrak kering daun sirsak berdasarkan waktu ekstraksi

Waktu (menit)	Nisbah	Bobot awal(g)	Bobot Malto(g)	Bobot Akhir+malto(g)	Rendemen
1	1:30	10.03	10.03	8,09	40,33%
2	1:30	10.03	10.02	8,33	41,54%
3	1:30	10.02	10.03	10,31	51,42%
4	1:30	10.03	10.03	9,22	45,96%
5	1:30	10.02	10.04	9,77	48,70%
6	1:30	10.02	10.01	11,02	55,02%
7	1:30	10.03	10,02	10,66	53,17%
8	1:30	10,02	10,03	10,23	51,02%
9	1:30	10,04	10,04	9,94	49,50%
10	1:30	10,01	10,02	9,49	46,75%
11	1:30	10,02	10,03	9,24	46,08%
12	1:30	10,03	10,01	9,32	46,51%
15	1:30	10,01	10,02	9,27	46,28%

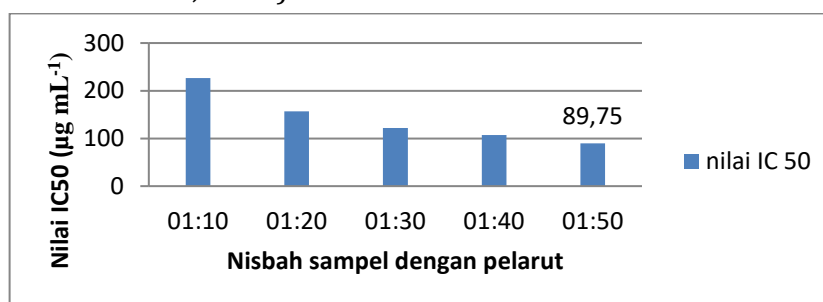
Pada Tabel 3 terlihat pula bahwa dalam waktu 15 menit rendemen yang diperoleh sebesar 46.28 %. Hal yang serupa terlihat pada penelitian Kristanti *et al.* (2019) bahwa penambahan waktu 6 menit hanya menambah nilai rendemen sebanyak 0.67 %. Kenaikan rendemen sekitar 0.84% dialami oleh Putra *et al.* (2020) pada ekstraksi kulit buah kakao. Menurut Ince *et al.* (2013) penambahan bahan terlarut akan terhenti setelah kondisi optimum. Adanya kondisi rendemen yang tidak berbanding lurus dengan waktu ini ditemukan juga dalam penelitian Yudharini *et al.* (2016).

Tabel 4. Rendemen ekstrak kering daun sirsak berdasarkan nisbah

Waktu (menit)	Nisbah	Bobot awal(g)	Bobot Malto(g)	Bobot Akhir+malto(g)	Rendemen
6	1:10	30.03	30.01	28.53	47.52%
6	1:20	15.05	15.03	14.66	48.74%
6	1:30	10.02	10.03	10.31	51.42%
6	1:40	7.52	7.54	8.42	55.90%
6	1:50	6.04	6.03	7.65	63.34%

Berdasarkan hasil dalam Tabel 3, digunakan untuk menentukan pengaruh nisbah sampel (g) dengan pelarut air pada perbandingan 1:10, 1:20 1:30, 1:40 dan 1:50 terhadap rendemen hasil ekstraksi. Hasil pengaruh nisbah sample dengan pelarut air dengan lama waktu ekstraksi 6 menit disajikan pada Tabel 4. Makin besar nisbah sampel dengan pelarut makin besar rendemen hasil yang diperoleh. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Yudharini *et al.* (2016), bahwa makin besar jumlah pelarut makin besar pula jumlah rendemen yang diperoleh.

Pada pengukuran aktivitas antioksidan diperoleh hasil yang ditunjukkan pada Gambar 1. Dari Gambar 1 tersebut terlihat bahwa dengan waktu ekstraksi 6 menit pada nisbah 1:50 didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 89,75 ug/mL. Selain mempengaruhi nilai IC₅₀, nisbah sampel dan pelarut ini juga mempengaruhi % rendemen yang didapat, makin kecil serbuk simplisia yang digunakan maka makin besar % rendemen yang dihasilkan. Selama ekstraksi berlangsung maka akan terurai komponen tersektrak dari sampel dan makin besar rendemen yang diperoleh. Hal ini menunjukkan bahwa komponen terekstrak makin banyak (Stéphane & Batiha, 2012). Oleh karena itu kemungkinan banyaknya komponen yang terekstrak akan berpengaruh terhadap keaktifannya sebagai bahan antioksidan (Yulianingtyas & Kusmartono, 2016).



Gambar 1. Penentuan nisbah terbaik

Perolehan waktu terbaik dan nisbah terbaik dilanjutkan melakukan optimasi menggunakan metode respon permukaan (RSM). Hasil yang diperoleh disajikan pada Tabel 5. Pada Tabel 5 terlihat rendemen maksimum terdapat pada sampel no 5 pada waktu pemanasan 6 menit dan nisbah akuades – daun sirsak 300 mL dengan bobot simplisia yang ditambah maltodextrin 7,69 gram dan bobot ekstrak didapatkan 4,92 gram yang menghasilkan persentase rendemen 63,98 %, dan nilai rendemen minimal terdapat pada sampel no 3 pada waktu pemanasan 8 menit dan nisbah akuades–daun sirsak 300 mL dengan bobot simplisia yang ditambah maltodextrin menjadi 20,06 gram namun pada kondisi akhir bobot ekstrak yang dihasilkan sebanyak 6,55 gram atau mempunyai rendemen 32,65 %.

Tabel 5. Nilai rendemen ekstak daun sirsak berdasarkan RSM

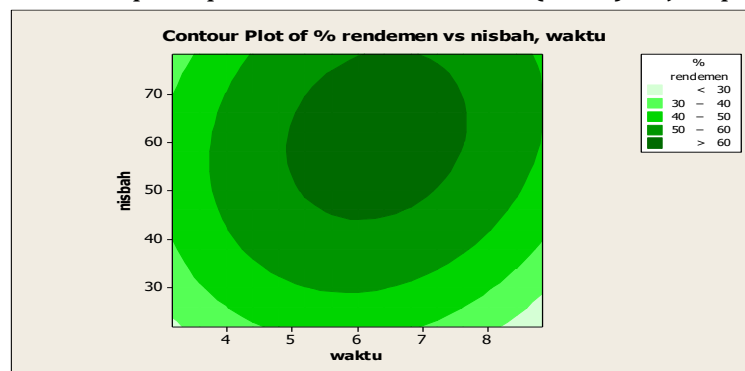
No	Waktu (Menit)	Nisbah	Bobot Awal (g)	Bobot Malto (g)	Bobot Akhir+ Malto(g)	Rendemen
1	6	1:22	13.64	13.65	12.41	45.47%
2	6	1:50	6.03	6.02	7.66	63.57%
3	8	1:30	10.04	10.02	6.55	32.65%
4	6	1:50	6.05	6.02	7.61	63.05%
5	6	1:78	3.85	3.84	4.92	63.98%
6	4	1:30	10.04	10.03	9.21	45.89%
7	9	1:50	6.04	6.02	6.89	57.13%
8	8	1:70	4.28	4.28	4.12	48.13%
9	6	1:50	6.02	6.03	7.65	63.49%
10	4	1:70	4.28	4.26	4.42	51.76%
11	3	1:50	6.04	6.03	4.66	38.61%
12	6	1:50	6.04	6.02	7.72	60.31%
13	6	1:50	6.03	6.03	7.35	60.95%

Makin besar pelarut yang digunakan saat mengekstrak, makin besar kesempatan bahan terekstrak akhirnya akan makin besar pula rendemen yang diperoleh. Hal ini berhubungan dengan adanya ruang dalam pelarut yang diisi oleh bahan terekstrak sehingga mengakibatkan rendemen menjadi lebih banyak (Zhang *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil rendemen pada Tabel 5 tersebut kemudian diperoleh persamaan :

$$Y = -51,9692 + 24,2030 X_1 + 1,2984 X_2 \quad (3)$$

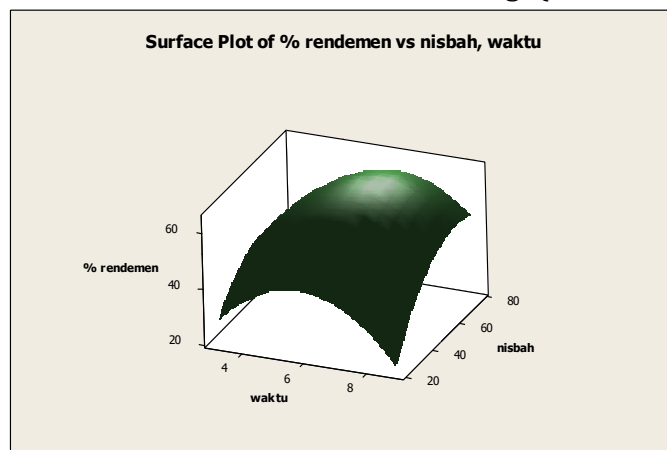
Persamaan RSM tersebut menunjukkan bahwa perubahan waktu mempunyai pengaruh terhadap hasil ekstrak. Nilai koefisien waktu ekstraksi (X_1) memiliki nilai yang lebih besar daripada nisbah (X_2). Hasil rendemen ekstrak banyak dipengaruhi oleh waktu ekstraksi dengan perubahan nisbah dalam *autoklaf* (Orak *et al.*, 2019).

Dilihat dari Gambar 2 di atas dapat disimpulkan nilai rendemen optimal didapatkan pada waktu optimal 6 menit dengan nisbah antara 1:60 sampai 1:70. Hasil tersebut merupakan daerah zona dengan rendemen lebih dari 60%. Berdasarkan persamaan pada rancangan statistik RSM, waktu optimum dan nisbah dihasilkan pada waktu 6.3 menit dan nisbah 1:61.2 memperoleh rendemen sebesar 64,1%. Untuk verifikasi hasil dugaan berdasarkan persamaan tersebut, maka dilakukan pengulangan ekstraksi pada kondisi optimum dan diperoleh nilai rendemen sebesar 62,51%. Dengan melakukan pengurangan nilai rendemen antara dugaan dan hasil verifikasi ekstraksi diperoleh nilai perbedaan sebesar 2.48%. Adanya perbedaan antara hasil ekstraksi dengan nilai dugaan ini adalah merupakan hal yang lumrah, seperti hal yang dijumpai pada penelitian Koocheki *et al.* (2009). Perbedaan hasil dugaan dari persamaan RSM dengan hasil verifikasi pada penelitian Faustin *et al.* (2017), dijumpai sebesar 3.06%.



Gambar 2. Countour plot respon optimasi rendemen

Dari Gambar 3, tampak bahwa hasil % rendemen meningkat pada nisbah akuades – daun sirsak 1:40 sampai berkisar antara 1:70 dan 1:80 dan pada waktu ekstraksi dalam kisaran 5-7 menit. Dan penurunan hasil ekstraksi terlihat setelah pada menit ke 8. Hal ini dikarenakan pemanasan tinggi pada waktu yang lama menyebabkan komponen pada daun sirsak rusak atau komponen pada daun sirsak tersebut tidak terlarut lagi (Cornelia *et al.*, 2019).



Gambar 3. Surface plot 3D untuk hasil rendemen

Hasil aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 6. Aktivitas antioksidan maksimum terdapat pada sampel no 5 pada waktu pemanasan 6 menit dan nisbah 3,85 gram : 300 mL yang menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 52.81 ug mL⁻¹ dan aktivitas antioksidan minimum terdapat pada sampel no 6 pada waktu ekstraksi 4 menit dan nisbah akuades–simplisia 10 gram : 300 mL yang menghasilkan nilai IC₅₀ 118.55 ug mL⁻¹.

Dari Tabel 4 diperoleh persamaan :

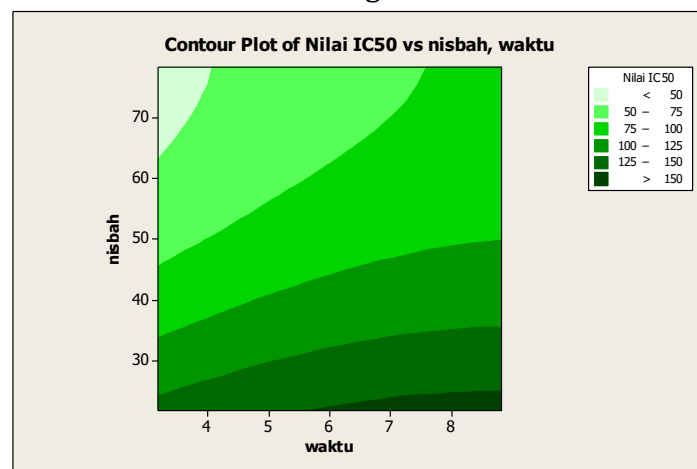
$$Y = 171.98 + 13.83 X_1 - 4.11 X_2 \tag{4}$$

Persamaan tersebut menunjukkan bahwa perubahan waktu mempunyai pengaruh terhadap hasil ekstrak sama halnya seperti pada persamaan RSM pada rendemen. Hal ini dapat dilihat dari koefisien waktu ekstraksi (X₁) yang memiliki nilai lebih besar daripada nisbah akuades – daun sirsak (X₂). Hasil ekstrak banyak terpengaruhi waktu ekstraksi dengan perubahan nisbah dalam *autoklaf*.

Tabel 6. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak daun sirsak

No	Waktu (menit)	Nisbah	Nilai IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)
1	6	1:22	156.54
2	6	1:50	88.57
3	8	1:30	130.50
4	6	1:50	90.99
5	6	1:78	52.81
6	4	1:30	118.55
7	9	1:50	101.00
8	8	1:70	85.83
9	6	1:50	95.30
10	4	1:70	67.77
11	3	1:50	57.15
12	6	1:50	89.25
13	6	1:50	86.52

Dilihat dari Gambar 4 dapat disimpulkan bahwa waktu pemanasan mempengaruhi nilai IC₅₀ dimana dengan waktu ekstraksi yang semakin lama menghasilkan nilai IC₅₀ > 150, yang menandakan bahwa antioksidan bersifat kurang aktif. Waktu optimum dan nisbah pada rancangan statistik RSM diperoleh yaitu selama 4.3 menit dan nisbah akuades – daun sirsak 1:78.2 dapat diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 52.8 ug mL⁻¹.



Gambar 4. Contour plot respon optimasi nilai IC₅₀

Setelah dilakukan pengulangan untuk nilai optimum yang diperoleh pada waktu ekstraksi 4.3 menit dan nisbah akuades – daun sirsak 1:78.2 diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 55.25 µg mL⁻¹. Nilai yang diperoleh tidak menunjukkan hasil nilai optimasi pada rancangan statistic RSM dengan kecocokan model CCD pada nilai IC₅₀ 52.8 ug mL⁻¹. Hasil ini menunjukkan bahwa

nilai IC₅₀ hasil persamaan terkoreksi dengan adanya pengulangan tersebut. Apabila dihitung, maka terjadi penyimpangan sebesar 4.43%. Nilai koreksi ini merupakan hal yang biasa ada dalam suatu rancangan RSM dibandingkan dengan hasil verifikasinya (Hasan *et al.*, 2013). Menurut Faustin *et al.* (2017) perbedaan aktivitas antioksidan antara nilai optimum dengan hasil verifikasi dapat mencapai 3.06%.

KESIMPULAN

Diperoleh aktivitas antioksidan tertinggi yaitu 52.81% pada lama waktu ekstraksi 6 menit dan nisbah akuades-serbuk simplisia daun sirsak sebesar 1:78. Hasil analisa persentase rendemen ekstrak menggunakan analisis RSM diduga memiliki waktu ekstraksi 6.3 menit dan nisbah akuades – simplisia serbuk daun sirsak 1:78.2 menghasilkan rendemen yang optimum sebanyak 64.07%. Aktivitas antioksidan optimal pada nilai IC₅₀ sebesar 52.8 µg mL⁻¹ diduga pada waktu ekstraksi 4.3 menit dan nisbah sample dan pelarut air 1:78.2. Hasil verifikasi rendemen dan aktivitas antioksidan terjadi penyimpangan masing-masing sebesar 2.48% dan 4.43%.

DAFTAR PUSTAKA

- BPOM. (2014). Persyaratan Mutu Obat Tradisional. *Badan Pengawas Obat Dan Makanan*, 1–25.
- Budiarti, A., Ulfah, M., & Oktania, F. A. (2016). Aktivitas Antioksidan Fraksi Kloroform Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Identifikasi Kandungan Senyawa Kimianya. *Prosiding SNST Ke-5 Fakultas Teknik Universitas Wahid Hasyim Semarang*, 2006, 7–12.
- Cardoso, L. C., Serrano, C. M., Quintero, E. T., López, C. P., Antezana, R. M., & De La Ossa, E. J. M. (2013). High pressure extraction of antioxidants from *Solanum stenotomum* peel. *Molecules*, 18(3), 3137–3151. <https://doi.org/10.3390/molecules18033137>
- Chaves, J. O., de Souza, M. C., da Silva, L. C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P. C., Machado, A. P. da F., Forster-Carneiro, T., Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A. V., Barbero, G. F., & Rostagno, M. A. (2020). Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. *Frontiers in Chemistry*, 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.507887>
- Chowdhury, S. S., Tareq, A. M., Tareq, S. M., Farhad, S., & Sayeed, M. A. (2021). Screening of antidiabetic and antioxidant potential along with phytochemicals of *Annona* genus: a review. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s43094-021-00300-9>
- Cornelia, M., Natania, K., Cahyana, H., & Sutiyono, E. (2019). Encapsulation of Soursop (*Annona muricata* Linn.) Leaf Tea Extract Using Natural Mucilage. *Reaktor*, 19(1), 26–33. <https://doi.org/10.14710/reaktor.19.1.26-33>
- Damasuri, A. R., Sholikhah, E. N., & Mustofa. (2020). Cytotoxicity of ((E)-1-(4-aminophenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one)) on HeLa cell line. *Indonesian Journal of Pharmacology and Therapy*, 1(2), 54–59. <https://doi.org/10.22146/ijpther.606>
- Faustin, S. D., Selestin, D., & Njintang, Y. N. (2017). Aqueous Extraction Optimization of the Antioxidant and Antihyperglycemic Components of *Boscia Senegalensis* Using Central Composite Design Methodology. *Food Science & Nutrition*, 3(1), 1–7. <https://doi.org/10.24966/fsn-1076/100015>
- Gavamukulya, Y., Wamunyokoli, F., & El-Shemy, H. A. (2017). *Annona muricata*: Is the natural therapy to most disease conditions including cancer growing in our backyard? A systematic

review of its research history and future prospects. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(9), 835–848. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.08.009>

- Góral, I., & Wojciechowski, K. (2020). Surface activity and foaming properties of saponin-rich plants extracts. *Advances in Colloid and Interface Science*, 279, 102145. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102145>
- Hannachi, H., Benmoussa, H., Saadaoui, E., Saanoun, I., Negri, N., & Elfalleh, W. (2019). Optimization of ultrasound and microwave-assisted extraction of phenolic compounds from olive leaves by response surface methodology. *Research Journal of Biotechnology*, 14(7), 28–37.
- Hasan, A. E. Z., Mangunwidjaja, D., Sunarti, T. C., Suparno, O., & Setiyono, A. (2016). Antibreast cancer activity of nanopropolis Indonesia on induced mammary gland tumor by dmba in virgin sprague-dawley rats. *Biotropia*, 23(1), 35–41. <https://doi.org/10.11598/btb.2016.23.1.473>
- Hasmila, I., Natsir, H., & Soekamto, N. H. (2019). Phytochemical analysis and antioxidant activity of soursop leaf extract (*Annona muricata* Linn.). *Journal of Physics: Conference Series*, 1341(3). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1341/3/032027>
- Huang, H. W., Cheng, M. C., Chen, B. Y., & Wang, C. Y. (2019). Effects of high pressure extraction on the extraction yield, phenolic compounds, antioxidant and anti-tyrosinase activity of Djulis hull. *Journal of Food Science and Technology*, 56(9), 4016–4024. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03870-y>
- Ince, A. E., Şahin, S., & Şümnü, S. G. (2013). Extraction of phenolic compounds from melissa using microwave and ultrasound. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37(1), 69–75. <https://doi.org/10.3906/tar-1201-1>
- Indriyanti, E., Purwaningsih, Y., & Wigati, D. (2017). Skrining Fitokimia dan Standarisasi. *Cendekia Eksakta*, 3(2), 20–25.
- Khan, S. A., Aslam, R., & Makroo, H. A. (2019). High pressure extraction and its application in the extraction of bio-active compounds: A review. *Journal of Food Process Engineering*, 42(1), e12896. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfpe.12896>
- Koocheki, A., Taherian, A. R., Razavi, S. M. A., & Bostan, A. (2009). Response surface methodology for optimization of extraction yield, viscosity, hue and emulsion stability of mucilage extracted from *Lepidium perfoliatum* seeds. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2369–2379. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.06.014>
- Kristanti, Y., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2019). Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1), 94. <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i01.p11>
- Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 162750. <https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Liu, K. (2019). Effects of sample size, dry ashing temperature and duration on determination of ash content in algae and other biomass. *Algal Research*, 40, 101486. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101486>
- Montgomery, D. C. (2013). Design and Analysis of Experiments Eighth Edition. Arizona State University. In *Copyright* (Vol. 2009, Issue 2005).
- Mustofa, S., Alfa, N., Wulan, A. J., Rakhmanisa, S., Biokimia, B., Molekular, B., Fisiologi, D., &

- Kedokteran, F. (2019). Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Bakau Minyak (*Rhizophora apiculata*) Etanol 95 % terhadap Arteri Koronaria Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan Galur Sprague dawley yang Dipaparkan Asap Rokok. *Jurnal Kedokteran Universitas Lampung*, 3(1), 28–33. <http://juke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/JK/article/view/2200>
- Mutakin, M., Fauziati, R., Fadhillah, F. N., Zuhrotun, A., Amalia, R., & Hadisaputri, Y. E. (2022). Pharmacological Activities of Soursop (*Annona muricata* Lin.). *Molecules*, 27(4), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules27041201>
- Orak, H. H., Bahrisefit, I. S., & Sabudak, T. (2019). Antioxidant activity of extracts of soursop (*Annona muricata* L.) leaves, fruit pulps, peels, and seeds. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 69(4), 359–366. <https://doi.org/10.31883/pjfn/112654>
- Putra, I. K. W., Putra, G. P., & Wrasati, L. P. (2020). Pengaruh Perbandingan Bahan dengan Pelarut dan Waktu Maserasi terhadap Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 8(2), 167. <https://doi.org/10.24843/jrma.2020.v08.i02.p02>
- Saifullah, M., Akanbi, T. O., McCullum, R., & Van Vuong, Q. (2022). Optimization of commercial microwave assisted-extraction conditions for recovery of phenolics from lemon-scented tee tree (*Leptospermum petersonii*) and comparison with other extraction techniques. *Foods*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/foods11010050>
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. In E. Shalaby (Ed.), *Antioxidants*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.85270>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Stéphane, F. F. Y., Jules, B. K. J., Batiha, G. E.-S., Ali, I., & Bruno, L. N. (2012). Extraction of Bioactive Compounds from Medicinal Plants and Herbs. In *Intech* (p. 13). <http://dx.doi.org/10.1039/C7RA00172J%0A>
- Sumarni, W., Sudarmin, S., & Sumarti, S. S. (2019). The scientification of jamu: A study of Indonesian's traditional medicine. *Journal of Physics: Conference Series*, 1321(3). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1321/3/032057>
- Utami, Y. P., Umar, A. H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum*). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), 32–39.
- Wahab, S. M. A., Jantan, I., Haque, M. A., & Arshad, L. (2018). Exploring the leaves of *Annona muricata* L. as a source of potential anti-inflammatory and anticancer agents. *Frontiers in Pharmacology*, 9(JUN), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00661>
- Wang, W. H., Li, W. L., Chen, C. Y., Chang, M. Y., Huang, S. L., Shih, C. H., & Lin, Y. S. (2022). Antioxidant ability of *Chenopodium formosanum* extracted using an ethanol–ammonium sulfate two-phase system. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s40538-022-00283-6>
- Wu, S. J., Chen, Y. W., Wang, C. Y., & Shyu, Y. T. (2017). Anti-inflammatory properties of high pressure-assisted extracts of *Grifola frondosa* in lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 macrophages. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(3), 671–678. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.13320>
- Yudharini, G. A. K. F., Suryawan, & Wartini, N. M. (2016). Pengaruh perbandingan bahan

dengan pelarut dan lama ekstraksi terhadap rendemen dan karakteristik ekstrak pewarna dari buah pandan (*Pandanus tectorius*). *Jurnal Rekaya Dan Manajemen Argoindustri*, 4(3), 36–46.

Yulianingtyas, A., & Kusmartono, B. (2016). Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) Optimization of Solvent Volume and Maceration Time on Extraction of Flavonoids From *Averrhoa Bilimbi* Leaves. *Jurnal Teknik Kimia*, 10(2), 58–64.

Zambrano, M. V., Dutta, B., Mercer, D. G., MacLean, H. L., & Touchie, M. F. (2019). Assessment of moisture content measurement methods of dried food products in small-scale operations in developing countries: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 88(December 2018), 484–496. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.006>

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>