4. METODE EKSTRAKSI PEMANIS STEVIA

4.1. Ekstraksi Pemanis Stevia Menggunakan Metode Ekstraksi Konvensional, Ekstraksi Berbantu *Ultrasonic*, dan Ekstraksi Berbantu *Microwave*

Meskipun stevia memiliki tingkat kemanisan yang cukup tinggi namun glikosida steviol memiliki kalori yang rendah, oleh sebab itu tanaman stevia telah digunakan secara luas sebagai pemanis yang terutama cocok untuk penderita diabetes (Puri et al., 2011). Agar stevia dapat digunakan sebagai pemanis maka perlu dilakukan ekstraksi senyawa glikosida steviol yang ada dalam daun stevia. Telah banyak metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstraksi glikosida steviol, namun metode ekstraksi yang paling umum digunakan adalah ekstraksi konvensional menggunakan pelarut (Puri et al., 2012). Metode konvensional terdiri dari *liquid-liquid, solid-liquid* & *solid phase extraction* (SPE), *maceration, infusion, percolation* dan *decoction*, metode reflux, dan metode Soxhlet (Louie et al., 2020). Dengan menggunakan metode tersebut bisa didapatkan hasil yang baik, akan tetapi kebanyakan dari metode konvensional membutuhkan waktu yang lama dan prosesnya yang rumit, selain itu juga membutuhkan banyak pelarut organik yang kurang ramah lingkungan (Németh & Jánosi, 2019).

Vernès et al. (2020) juga menyatakan bahwa ekstraksi konvensional memiliki kelemahan seperti residu beracun, transformasi kimia pada ekstrak, limbah beracun, dan efisiensi ekstraksi yang terbatas. Karena alasan tersebut, dibutuhkan adanya metode baru yang mencegah penggunaan pelarut berbahaya, meningkatkan efisiensi, dan *sustainability*. Hal ini juga terkait dengan prinsip *green chemistry* yang memiliki tujuan penggunaan energi dan sumber daya yang lebih efisien. *Green extraction* dari produk alami didasarkan pada desain proses ekstraksi, pengurangan konsumsi energi dan pelarut petroleum, serta memastikan ekstrak yang dihasilkan aman dan memiliki kualitas yang tinggi (Vernès et al., 2020). Oleh sebab itu, pada masa ini terdapat perkembangan terhadap metode ekstraksi *Ultrasonically assisted extraction* (UAE) dan *Microwave Assisted Extraction*

(MAE). Berikut adalah perbandingan hasil penelitian dengan menggunakan metode konvensional, *Ultrasonically Assisted Extraction*, dan *Microwave Assisted Extraction* dalam mengekstrak steviosida dan rebaudiosida A dari daun stevia yang dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Ekstraksi Daun Stevia Menggunakan Metode yang Berbeda

Bahan	Pelarut	Metode Ekstraksi	Suhu Ekstraksi (°C)	Waktu Ekstraksi (menit)	Power (W)	Frekuensi (kHz)	Senyawa yang terekstrak (% berat kering daun)		Referensi
							Steviosida	Rebaudiosida A	
Daun stevia	Air	*Conventional Extraction*	±100	120	-	-	3.54	2.80	(Liu et al., 2010)
Daun stevia	Air	*Ultrasonically Assisted Extraction*	60	40	60	20	7.37	4.8	(Liu et al., 2010)
Stevia bubuk	Etanol & air	*Conventional Extraction*	20-25	720	-	-	6.54	1.20	(Jaitak et al., 2009)
Stevia bubuk	Etanol & air	*Ultrasonically Assisted Extraction*	35	30	-	-	4.20	1.98	(Jaitak et al., 2009)
Stevia bubuk	Etanol & air	*Microwave Assisted Extraction*	50	1	80	-	8.64	2.34	(Jaitak et al., 2009)
Stevia bubuk	Etanol	*Conventional Extraction*	54	112	-	-	3.24	2.05	(Yilmaz et al., 2020)
Stevia bubuk	Etanol	*Ultrasonically Assisted Extraction*	51	16	540	35	3.52	2.45	(Yilmaz et al., 2020)
Stevia bubuk	Etanol	*Microwave Assisted Extraction*	50	43	700	-	3.40	2.14	(Yilmaz et al., 2020)
Stevia bubuk	Etanol 70%	*Conventional Extraction*	100	24	-	-	8.27	2.44	(Žlabur et al., 2015)

Stevia bubuk	Air distilasi	*Conventional Extraction*	70	30	-	-	7.47	2.23	(Žlabur et al., 2015)
Stevia bubuk	-	*Ultrasonically Assisted Extraction*	81.2	10	400	24	9.65	3.69	(Žlabur et al., 2015)
Stevia bubuk	Etanol 70%	*Conventional Extraction*	±20-25	45	-	-	4.3	9.9	(Yang et al., 2019)
Stevia bubuk	*Subcritical water*	*Microwave Assisted Extraction*	100	5	-	-	3.9	9.1	(Yang et al., 2019)
Stevia bubuk	*Subcritical water*	*Microwave Assisted Extraction*	120	30	-	-	4.1	9.5	(Yang et al., 2019)
Stevia bubuk	*Subcritical water*	*Microwave Assisted Extraction*	140	1	-	-	4.3	9.7	(Yang et al., 2019)

Keterangan :

- = Tidak dijelaskan

Berdasarkan Tabel 8 tersebut dapat diketahui bahwa steviosida dengan persentase paling tinggi yaitu 9.65% pada penelitian yang dilakukan oleh Žlabur et al. (2015) menggunakan metode *Ultrasonically assisted extraction* (UAE) dan persentase paling rendah yaitu 3.54% menggunakan metode *classical extraction* pada penelitian Liu et al. (2010). Kemudian, persentase rebaudiosida A paling tinggi yaitu 9.9% menggunakan metode *conventional extraction* (Yang et al., 2019) dan persentase paling rendah yaitu 1.20% menggunakan metode *conventional extraction* (Jaitak et al., 2009).

Namun, apabila ditinjau dari waktu ekstraksinya, metode *Ultrasonically Assisted Extraction* (UAE) dan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) memiliki hasil persentase steviosida dan rebaudiosida A yang cukup tinggi dalam waktu singkat dibandingkan dengan *conventional extraction*. Dapat dilihat pada penelitian yang dilakukan oleh Jaitak et al. (2009) menggunakan metode MAE mendapatkan steviosida sebanyak 8.64% dalam waktu 1 menit dan pada suhu ekstraksi 50℃. Penggunaan metode UAE oleh Žlabur et al. (2015) pada waktu yang cukup singkat yaitu 10 menit dengan suhu 81.2℃ mendapatkan persentase steviosida sebesar 9.65%. Sedangkan persentase rebaudiosida A yang cukup tinggi yaitu pada penelitian Yang et al. (2019) sebesar 9.7% dengan menggunakan metode MAE dan waktu ekstraksinya yaitu 1 menit pada suhu 140℃ (menggunakan *subcritical water*). Pada penelitian yang dilakukan oleh Liu et al. (2010) menggunakan metode UAE juga mendapatkan persentase rebaudiosida A yang cukup tinggi yaitu 4.8% dengan waktu ekstraksinya 40 menit pada suhu 60℃.

Dari kelima referensi yang terdapat pada Tabel 8 semua membandingkan antara metode ekstraksi konvensional, UAE, dan MAE. Salah satu hasil penelitian lainnya sebagai contoh yaitu Yilmaz et al. (2020) dengan membandingkan ketiga metode ekstraksi (konvensional, UAE, MAE). Pada metode konvensional dengan waktu ekstraksi 112 menit pada suhu 54℃ persentase steviosida yang didapat sebesar 6.49%

dan rebaudiosida A sebesar 4.11%. Metode selanjutnya yaitu UAE dengan waktu ekstraksi 16 menit pada suhu 51℃ mendapatkan persentase steviosida sebesar 7.04% dan rebaudiosida A sebesar 4.29%. Pada metode MAE dengan waktu ekstraksi 43 menit pada suhu 53℃ mendapatkan persentase steviosida sebesar 6.80% dan rebaudiosida A sebesar 4.28%.

Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan dari Vernès et al. (2020) bahwa metode berbantu ultrasonik dan *microwave* memberikan keuntungan seperti waktu ekstraksi lebih singkat, mengurangi volume pelarut yang digunakan, dan meningkatkan *yield* dari senyawa yang ditargetkan dibandingkan dengan metode konvensional. Selain itu pada metode UAE dinding sel dari bahan dipecah dengan kavitasi akustik ultrasonik sehingga kandungan di dalamnya dapat keluar dengan mudah yang dapat meningkatkan hasil dari ekstraksi, seperti yang telah dinyatakan oleh Altemimi et al. (2015). Sedangkan pada metode MAE terjadi pemanasan air intraseluler yang menyebabkan evaporasi di dalam sel, kemudian terjadi pemecahan dinding sel, dan pelepasan serta kelarutan senyawa dalam pelarut sehingga senyawa yang ingin di ekstrak dapat keluar dengan mudah (Vernès et al., 2020). Gardana et al. (2010) menyatakan bahwa adanya perbedaan kandungan glikosida steviol yang terekstrak juga dapat disebabkan karena berhubungan dengan perbedaan faktor waktu pemanenan, tahap pertumbuhan dari tanaman, dan juga jenis dari lahan yang digunakan untuk menanam. Selain itu, adanya perbedaan hasil pada Tabel 8 tersebut juga dapat disebabkan karena perbedaan jumlah sampel daun stevia serta pelarut yang digunakan oleh masing-masing peneliti.

Luque-García & Luque De Castro (2004) telah membuktikan bahwa waktu ekstraksi ultrasonik lebih singkat dibandingkan dengan ekstraksi Soxhlet untuk menghasilkan jumlah *yield* produk yang sama pada proses ekstraksi lemak dari biji tumbuhan. Lalu, Luque-García & Luque De Castro (2003) dalam jurnalnya yang berjudul "*Ultrasound: a powerful tool for leaching*" juga menyatakan bahwa ekstraksi dengan bantuan

ultrasonik memiliki banyak keunggulan dibandingkan dengan ekstraksi konvensional menggunakan Soxhlet diantaranya mampu menaikkan rendemen produk. Ma et al. (2008) pada penelitiannya juga melakukan ekstraksi hesperidin dari kulit penggan *(citrus reticulata*) dan menyatakan bahwa penggunaan ultrasonik dapat mempersingkat waktu ekstraksi dan akan meningkatkan hasil ekstraksi.

Jaitak et al. (2009) dalam penelitiannya menggunakan metode MAE dan dilakukan pada daya 20-160 W, awalnya *yield* dari steviosida dan rebaudiosida A semakin meningkat dan mencapai maksimum pada 80 W, kemudian *yield* menurun ketika daya dinaikkan menjadi 160 W. Dengan suhu yang digunakan yaitu pada range 10-90°C, dan didapatkan bahwa *yield* dari steviosida dan rebaudiosida A meningkat dan mencapai nilai maksimal pada suhu 50°C. Dari hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa ekstraksi menggunakan metode MAE dipengaruhi oleh daya, suhu, dan waktu yang digunakan saat ekstraksi.

Kavitasi ultrasonik dipengaruhi oleh karakteristik fisik pelarut seperti viskositas, tekanan uap saturasi, dan tegangan permukaan (Wen et al., 2018). Vernès et al. (2020) juga menyatakan suhu yang digunakan saat ekstraksi dapat mempengaruhi kavitasi dengan merubah tekanan uap, viskositas, dan tegangan permukaan dari pelarut. Ketika suhu dekat pada titik didih dari pelarut, gelembung kavitasi lebih mudah terbentuk dibandingkan pada suhu rendah, karena pada suhu rendah kapasitas pemecahan gelembung menjadi berkurang. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian dari Jaitak et al. (2009), Yilmaz et al. (2020), Žlabur et al. (2015) pada Tabel 8 yaitu semakin tinggi suhu yang digunakan maka ekstrak steviosida dan rebaudiosida A yang diperoleh semakin banyak. Suhu tinggi juga meningkatkan laju difusi pelarut dan transfer masa, maka suhu dari pelarut harus dikontrol selama ekstraksi metode berbantu ultrasonik (Wen et al., 2018).

Jaitak et al. (2009) juga menyatakan bahwa efisiensi ekstraksi sampel yang ada di dalam oven *microwave* berbanding lurus dengan daya iradiasi, kemurnian sampel (akar, daun, dan lain-lain), dan pelarut yang digunakan. Pemilihan pelarut yang digunakan untuk MAE tidak hanya berdasarkan dari kelarutan senyawa yang akan diekstrak tetapi juga efisiensi dari pelarut untuk mengkonversi energi gelombang mikro menjadi panas (Vernès et al., 2020). Pelarut polar seperti air, metanol, 2-propanol dapat menyerap gelombang mikro dengan baik karena memiliki *dielectric loss* yang tinggi (Routray & Orsat, 2012). Pelarut non polar seperti heksana merupakan pelarut *microwave transparent*, yang tidak dapat dipanaskan secara langsung oleh *microwave*, tetapi senyawa polar (etanol dan asam) dapat ditambahkan sebagai pengubah untuk meningkatkan penyerapan gelombang mikro. Louie et al. (2020) menyatakan bahwa campuran air dan etanol (60-90%) terbukti dapat menjadi sistem pelarut yang baik untuk ekstraksi flavonoid dari tanaman. Selain itu juga, agar dapat merambat dengan baik, radiasi *microwave* harus digunakan dalam wadah yang sesuai (Vernès et al., 2020).

Pelarut yang digunakan pada penelitian dari kelima referensi di Tabel 8 yaitu etanol, air, campuran etanol dan air, serta *subcritical water*. Penggunaan etanol aman karena telah diklasifikasikan sebagai GRAS dan merupakan *green solvent* (Martins et al., 2016). Mustafa & Turner (2011) juga menyatakan bahwa dalam sebuah studi yang menetapkan pelarut "hijau", menunjukkan bahwa alkohol sederhana (etanol) atau alkana (heptana, heksana) lebih baik untuk lingkungan dibandingkan dioksan, asetonitril, asam, formaldehid, dan tetrahidrofuran. Yang et al. (2019) dalam penelitiannya menggunakan metode MAE dan pelarutnya adalah *subcritical water*. Yang et al (2019) menyatakan bahwa *subcritical water* digunakan untuk mendeskripsikan tahap air dengan suhu antara 100-374°C dan bertekanan cukup tinggi untuk mempertahankan fase cairnya.

Peraturan yang utama dari pemilihan pelarut yaitu "*like dissolves like*", yang mengindikasikan bahwa penggunaan pelarut polar akan melarutkan analit polar sedangkan pelarut non polar akan melarutkan analit non polar (Mustafa & Turner, 2011). Glikosida steviol dapat larut dalam air karena memiliki gugus monosakarida (Samuel et al., 2018). Mustafa and Turner (2011) mengatakan bahwa ketika mengekstraksi analit pada konsentrasi rendah, laju ekstraksi tidak dipengaruhi oleh konsentrasi analit melainkan oleh laju perpindahan massa, oleh karena itu sifat kimia pelarut yang dipilih harus tepat untuk memastikan pelarutan dan pelepasan analit.

Dari Tabel 8 pada penelitian yang dilakukan oleh Žlabur et al. (2015) menggunakan metode ekstraksi konvensional, pelarut yang digunakan yaitu etanol dan air. Hasil menunjukkan bahwa steviosida dan rebaudiosida A yang diekstrak menggunakan pelarut etanol mendapatkan hasil yang lebih tinggi berturut-turut yaitu 8.27% dan 2.44% dibandingkan dengan menggunakan pelarut air distilasi. Mustafa & Turner (2011) menjelaskan bahwa larutan alkohol yang dikombinasikan dengan suhu lingkungan lebih tinggi dan agitasi, lebih efisien untuk mengekstrak senyawa yang berbeda pada tanaman.

Selain itu juga, pada penelitian yang dilakukan oleh Jaitak et al. (2009) menggunakan pelarut campuran yaitu etanol dan air. Penggunaan pelarut campuran dapat meningkatkan hasil ekstraksi dengan meningkatkan kelarutan dan interaksi dari analit yang ditargetkan dengan pelarut ekstraksi (Arapsitas et al., 2008; Mukhopadhyay & Panja, 2008). Mustafa & Turner (2011) juga menyatakan penggunaan pelarut campuran selama ekstraksi penting untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi. Pelarut pertama akan meningkatkan kelarutan dari analit sedangkan pelarut lainnya akan meningkatkan desorpsi analit, pada konteks ini air biasanya penting untuk membantu pemutusan ikatan matriks dan matriks-analit (hidrogen) (Mustafa & Turner, 2011).

4.2. Kelebihan dan Mekanisme Metode Ekstraksi Berbantu Ultrasonik dan *Microwave*

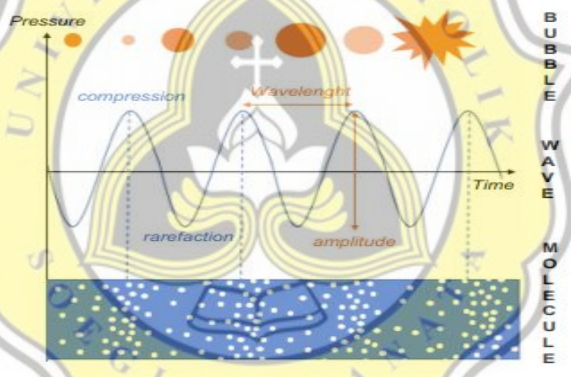
Metode ekstraksi berbantu ultrasonik bersifat *non-destructive* dan *non-invasive* sehingga dapat dengan mudah diadaptasikan ke berbagai aplikasi (Sholihah, 2017). Žlabur et al. (2015) menyatakan bahwa metode ultrasonik merupakan metode dalam fase cair yang mengandalkan mekanisme kavitasi. Gelombang ultrasonik merambat pada cairan pada frekuensi rendah yaitu antara 20 kHz hingga 100 kHz. Gelombang akustik menyebabkan pengempisan dan pengembangan bagian padat pada makanan yang menimbulkan gelombang kavitasi pada fase cair dalam makanan (Žlabur et al., 2015). Penggunaan metode berbantu ultrasonik tidak berpengaruh pada komponen bioaktif pada produk makanan yang diolah menggunakan ultrasonik (Ignat et al., 2011), sehingga tepat digunakan untuk ekstraksi dari senyawa yang memiliki struktur kimia bervariasi (Žlabur et al., 2015).

Metode berbantu ultrasonik dan *microwave* dipertimbangkan sebagai teknik hijau (*green techniques*) yang memberikan kelebihan seperti waktu ekstraksi lebih singkat, mengurangi volume pelarut yang digunakan, dan meningkatkan *yield* dari senyawa yang ditargetkan dibandingkan dengan metode konvensional (Vernès et al., 2020). Selain itu UAE juga memiliki beberapa keuntungan seperti fleksibilitas peralatan, mudah dioperasikan, efisiensi biaya, penurunan suhu yang digunakan, reproduktivitas tinggi, peningkatan dalam transfer massa, dan *eco-friendly* (Liu et al., 2010). Louie et al. (2020) juga menyatakan bahwa UAE memiliki kelebihan dapat dengan mudah dipasangkan dengan metode ekstraksi lainnya. Waktu ekstraksi, komposisi pelarut, dan daya yang digunakan merupakan 3 faktor utama yang mempengaruhi efisiensi dari ekstraksi menggunakan UAE (Louie et al., 2020).

Ji et al. (2006) menyatakan bahwa gelombang ultrasonik mampu meningkatkan difusi pelarut dalam suatu zat, dimana pengaruh gelombang kavitasi yang dihasilkan tidak hanya di sekitar partikel tetapi juga langsung ke titik pusat zat tersebut. Hal tersebut

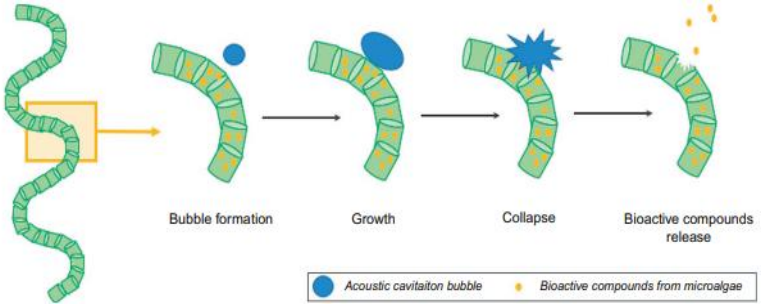
juga dijelaskan oleh Vernès et al. (2020) bahwa ketika daya ultrasonik mencapai pada ambang batas, gelembung kecil akan terbentuk karena adanya tekanan negatif menyebabkan gaya tarik molekul pada media selama *rarefaction cycle*. Gelombang ultrasonik menyebabkan gelembung kavitasi, yang ukurannya bervariasi dengan frekuensi gelombang suara. Frekuensi ultrasonik dan intensitas berperan dalam kavitasi, frekuensi yang biasa digunakan antara 20 hingga 40 kHz (Vernès et al., 2020).

Adanya *rectified diffusion* menyebabkan gelembung semakin besar selama *rarefaction cycle* dan menyusut selama fase kompresi (Vinatoru et al., 2017). Ketika gelembung telah mencapai diameter kritisnya, gelembung akan pecah pada saat siklus kompresi, yang menyebabkan pelepasan energi dalam jumlah besar (Gambar 8).



Gambar 8. Parameter Ultrasonik Terkait dengan Peristiwa Kavitasi
(Vernès et al., 2020)

Knorr et al. (2004) menyatakan bahwa jumlah energi yang dilepaskan oleh kavitasi tergantung pada kinetik dari pertumbuhan gelembung dan pemecahan gelembung. Proses pemecahan gelembung kavitasi dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Proses Pemecahan Gelembung Kavitasi

(Vernes et al., 2020)

Sedangkan dalam metode *Microwave Assisted Extraction* (MAE), molekul dipanaskan oleh gelombang mikro melalui konduksi ionik dan rotasi dipol (Vinatoru et al., 2017; Azzouz & Ballesteros, 2015). Dipol merupakan molekul dengan ikatan polar yang disebabkan oleh perbedaan elektronegativitas antar atom (Vernès et al., 2020). Konduksi ionik mengacu pada migrasi elektroforetik yang diinduksi dari pembawa muatan seperti ion dan elektron dibawah pengaruh medan listrik yang dihasilkan oleh *microwave*, perpindahan ini menyebabkan adanya gesekan antara ion yang bergerak dengan media yang akhirnya akan menghasilkan panas (Vernès et al., 2020). Selain itu juga, rotasi dipol terjadi ketika molekul dipolar menyesuaikan dirinya dengan medan listrik bolak balik.

Pergerakan dipol tersebut menyebabkan tumbukan antar dipol dengan molekul di sekitarnya sehingga menciptakan panas, karena itu energi listrik dikonversi menjadi energi kinetik dengan transmisi panas dari dalam sistem ke luar sistem, tidak seperti panas konvensional (Vernès et al., 2020). Transfer panas oleh iradiasi gelombang mikro juga dapat menyebabkan evaporasi dari air dalam sel, yang memberikan tekanan yang sangat besar dari dalam matriks biologis (Louie et al., 2020; Vernès et al., 2020). Perubahan tekanan tersebut dapat merusak membran sel, mempercepat penetrasi pelarut, dan pelepasan senyawa intraseluler sehingga rendemen yang didapat setelah proses ekstraksi akan semakin meningkat. Kebalikan dari panas konvensional dimana

panas ditransfer dari media pemanas ke bagian dalam sampel, pada MAE panas disebarkan secara volumetrik di dalam media yang diradiasi (Vernès et al., 2020).