

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Pandemi COVID-19 sudah ada sejak awal tahun 2020 dan sekarang mulai berkembang menjadi varian omicron. Pemerintah Indonesia pun sudah mengeluarkan panduan upaya pengendalian dan pencegahan COVID-19. Salah satu upaya yang dapat masyarakat lakukan adalah meningkatkan daya tahan tubuh dengan memulai kehidupan sehat, seperti menjaga kebersihan, menjaga asupan nutrisi, dan mengonsumsi suplemen yang salah satunya dapat berasal dari ramuan bahan alam (Kemenkes RI, 2020).

Berbagai negara telah berusaha mengembangkan obat berbahan dasar alam untuk meningkatkan daya tahan tubuh sebagai upaya dalam menghadapi pandemi COVID-19. Indonesia sendiri sebagai negara yang kaya akan keanekaragaman hayati telah menggunakan bahan alam sebagai salah satu alternatif untuk menjaga kesehatan. Salah satu bahan yang dapat membantu menjaga kesehatan dengan meningkatkan daya tahan tubuh adalah daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) (Yunita, 2021).

Sambiloto memiliki berbagai kandungan senyawa bioaktif, antara lain andrografolida, flavonoid, dan tanin. Studi farmakologi mengatakan bahwa sambiloto memiliki berbagai khasiat, salah satunya adalah antiinflamasi, antimalarial, anti demam, antidiabetes, imunomodulator, antioksidan, dan antivirus. Saran penggunaan dari sambiloto adalah 3-9 g herba kering atau 25-27 g herba segar yang direbus dan diminum 2 kali sehari sebelum makan (Yunita, 2021).

Berdasarkan penelitian Andriani *et al.* (2019), hasil aktivitas antioksidan terbaik dari ekstraksi UAE pada daun belimbing wuluh memiliki IC₅₀ 25,74 ppm. Selain itu, ekstraksi UAE pada daun sirih merah kering ditemukan memiliki IC₅₀ terbaik 6,95 ppm (Hendryani *et al.*, 2015). Sambiloto sendiri memiliki aktivitas antioksidan yang berasal dari andrografolida yang memiliki IC₅₀ 6 ppm dan flavonoid dengan nilai IC₅₀ 88,98 ppm (Rachmani *et al.*, 2018).

Dalam perhitungannya, suatu senyawa dapat dikatakan sangat kuat jika memiliki IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat pada nilai 50-100 ppm, sedang 100-150 ppm, dan terakhir lemah jika bernilai 151-200 ppm (Rachmani *et al.*, 2018). Hal ini membuat daun sambiloto memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

Sambiloto memiliki nama lain *king of bitter* karena rasanya yang pahit. Hal ini membuat banyak orang enggan untuk mengonsumsi sambiloto secara langsung. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan ekstraksi terhadap sambiloto agar dapat diolah lebih lanjut menjadi berbagai produk dalam industri makanan dan minuman untuk mengurangi rasa pahit dari sambiloto. Metode ekstraksi yang digunakan adalah *Ultrasonic-Assisted Extraction* (UAE). UAE adalah metode ekstraksi non termal yang meningkatkan laju transfer massa dan memecahkan dinding sel dengan menghasilkan banyak *microcavity*. Metode ini mempunyai kelebihan, yaitu mempersingkat waktu ekstraksi, mengoptimalkan penggunaan pelarut, dan mencegah hilangnya dalam ekstrak akibat suhu yang tinggi (Handaratri & Yuniati, 2019). Selain itu, pada penelitian Budiastra *et al.* (2020), ditemukan bahwa hasil ekstraksi menggunakan UAE dapat meningkatkan hasil rendemen sebesar 52% dibandingkan maserasi dan juga memberikan mutu kimia yang lebih murni, tetapi mutu fisik, seperti bobot jenis dan warna tetap sama. Oleh karena itu, dalam penelitian ini ingin diketahui perbandingan suhu dan waktu yang optimal dalam melakukan ekstraksi daun sambiloto.

1.2. Tinjauan Pustaka

1.2.1. Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Sambiloto atau *Andrographis paniculata* Ness., biasanya disebut dengan *King of Bitter*, merupakan tumbuhan yang berukuran relatif kecil, bercabang, dan tahunan yang digolongkan dalam family *Acanthaceae*. Tumbuhan ini banyak ditemui di daerah Asia, termasuk Indonesia, Malaysia, dan Malaysia. Di India sendiri, Sambiloto telah secara luas digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit (Cahyawati, 2021). Sambiloto memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi yang membuat tumbuhan ini dapat tumbuh dan berkembang dengan baik dalam berbagai jenis tanah dan topografi, curah hujan 2000-3000 mm/tahun, dan dapat tumbuh optimal dengan pH tanah 6-7 (netral) (Prihatini *et al.*, 2020). Sambiloto dikenal dengan rasa pahitnya karena senyawa *andrographolide*

yang menjadi senyawa paling banyak ditemukan pada sambiloto (Eriadi *et al.*, 2017). Selain itu, sambiloto juga mengandung *paniculides*, *flavonoid*, *farnesols*, saponin, tanin, dan alkaloid, serta kandungan kimia lain yang ada pada daun sambiloto, yaitu *lactone*, *kalmegin*, dan *paniculin* (Nasution *et al.*, 2018). Sambiloto sendiri dikenal sebagai salah satu tumbuhan yang memiliki efek antikanker, antibakteri, antidiabetes, tekanan darah, analgesic, antiinflamasi, kesehatan reproduksi (Cahyawati, 2021).



Gambar 1. Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*)
Sumber: www.lokalata.id

1.2.2. Klasifikasi Sambiloto

Sambiloto memiliki klasifikasi / taksonomi, sebagai berikut (Yunita, 2021):

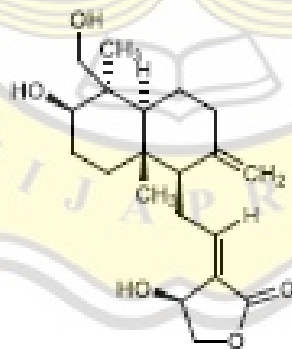
Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Subkelas	: <i>Gamopetalae</i>
Ordo	: <i>Personales</i>
Famili	: <i>Acanthaceae</i>
Genus	: <i>Andrographis</i>
Spesies	: <i>Andrographis paniculata</i> Ness.

1.2.3. Antioksidan

Radikal bebas dihasilkan oleh tubuh dan meningkatkan risiko penyakit kronis, seperti kanker dan penyakit kardiovaskular. Radikal bebas juga dapat merusak sel-sel tubuh, seperti protein, asam nukleat, lemak, dan karbohidrat, yang dapat menjadi faktor dalam berbagai penyakit. Radikal bebas biasanya dihasilkan melalui respirasi aerobik.

Meskipun tubuh manusia menghasilkan enzim antioksidan untuk menetralkan radikal bebas, asupan makanan yang mengandung antioksidan juga disarankan untuk dikonsumsi guna melindungi tubuh dari radikal bebas yang berasal dari makanan (Sani *et al.*, 2015).

Antioksidan adalah zat yang dapat menghambat oksidasi molekul lain dengan memberikan perlindungan dalam menangkap radikal bebas (Haerani *et al.*, 2018). Antioksidan bekerja dengan memberikan elektron, lalu mengikat dan mengakhiri reaksi berantai dari radikal bebas (Ramadhan *et al.*, 2020). Antioksidan yang paling banyak ditemukan pada sambiloto adalah *flavonoid* dan andrografolida (Rachmani *et al.*, 2018). *Andrographolide* adalah senyawa yang tergolong trihidrosilakton dengan rumus molekul $C_{20}H_{30}O_5$. *Andrographolide* adalah salah satu senyawa yang paling banyak ditemukan pada sambiloto dan dengan mudah larut dalam metanol, etanol, piridin, asam asetat, dan aseton. Secara sifat fisiknya, *Andrographolide* memiliki titik leleh $228\text{ }^{\circ}\text{C} - 230\text{ }^{\circ}\text{C}$, spektrum ultraviolet dalam λ maksimal 223 nm (Priyani, 2020). Pada sambiloto, *Andrographolide* dapat ditemukan pada semua bagian tumbuhan dan paling banyak ditemukan pada bagian daun. Kadar senyawa *Andrographolide* yang ditemukan adalah 2,5-4,8% dari berat keringnya (Tiljannah & Sumarmin, 2018).



Gambar 2. Struktur Kimia Andrografolida
Sumber: Kementerian Kesehatan RI, 2017

Dalam mendeteksi antioksidan, salah satu metode yang digunakan adalah metode *diphenyl picryl hydrazine* (DPPH). Metode DPPH biasanya dipilih karena memiliki keuntungan, yaitu mudah, cepat, peka, dan memerlukan sedikit sampel (Rachmani *et al.*, 2018). Prinsip kerja dari metode DPPH adalah menghitung jumlah pengurangan

intensitas warna ungu dari DPPH yang berbanding lurus dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH. Hal ini merupakan reaksi antara molekul 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl dengan atom hidrogen yang berasal dari sampel sehingga membentuk senyawa 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl dan terjadilah peluruhan warna oleh DPPH dari ungu menjadi kuning. Dalam perhitungannya, suatu senyawa dapat dikatakan sangat kuat jika memiliki IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat pada nilai 50-100 ppm, sedang 100-150 ppm, dan terakhir lemah jika bernilai 151-200 ppm. Andrografolida, salah satu antioksidan yang paling banyak ditemukan di sambiloto, memiliki IC_{50} bernilai 6 ppm (Rachmani *et al.*, 2018). Hal ini membuat sambiloto memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan menjadi antioksidan.

1.2.4. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa antioksidan yang dapat menghambat penyakit degeneratif akibat radikal bebas. Flavonoid juga berfungsi sebagai anti bakteri, anti inflamasi, anti thrombosis, dan anti alergi. Flavonoid adalah senyawa yang larut dalam air dan dapat diekstraksi menggunakan etanol 70%. Apabila senyawa ini ditambahkan dengan basa atau ammonia, maka flavonoid dapat berubah warna. Hal ini membuat flavonoid mudah dideteksi menggunakan kromatogram (Rais, 2015). Pengujian yang dilakukan untuk flavonoid didasarkan pada efektivitas dari flavonoid dalam menangkap radikal dan mengkelat ion logam (Widyawati *et al.*, 2014).

Dalam uji yang dilakukan oleh Rachmani *et al.* (2018) juga ditemukan bahwa kandungan flavonoid yang ada pada sambiloto memiliki nilai IC_{50} 88,98 ppm yang dapat digolongkan sebagai aktivitas antioksidan yang kuat. Dalam proses pengujiannya, flavonoid dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi yang membuat pita serapan menjadi kuat pada *range* spektrum ultraviolet dan sinar tampak (Aminah *et al.*, 2017). Lalu sebagai larutan standar dapat dipilih menggunakan kuersetin karena kuersetin adalah salah satu flavonoid dari golongan flavonol yang dapat membentuk senyawa kompleks antara $AlCl_3$ dengan gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bersebelahan dengan flavon dan flavonol (Trinovita *et al.*, 2019).

1.2.5. *Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)*

Salah satu metode ekstraksi yang tergolong modern saat ini adalah *Ultrasonic-assisted extraction (UAE)*. UAE adalah metode ekstraksi non termal yang meningkatkan laju transfer massa dan memecahkan dinding sel dengan menghasilkan banyak *microcavity*. Hal ini akan mempersingkat waktu yang dibutuhkan dan mengoptimalkan pelarut yang digunakan. Selain mempersingkat waktu dan mengoptimalkan pelarut, UAE juga dapat membantu menjaga struktur ekstrak sehingga tidak terjadi kerusakan saat dikeluarkan dari matriks. Penggunaan UAE dilakukan pada suhu yang rendah sehingga mencegah hilangnya senyawa yang memiliki titik didih rendah (Handaratri & Yuniati, 2019). Metode UAE telah digunakan dalam berbagai proses ekstraksi senyawa fitokimia, seperti alkaloid, flavonoid, protein, polisakarida, minyak esensial, antioksidan, dan pigmen warna (Widyasanti *et al.*, 2018). Menurut penelitian dari Budiastra *et al.* (2020), hasil ekstraksi dengan metode UAE mampu meningkatkan hasil rendemen sebesar 52% dibandingkan metode maserasi. Selain itu, ekstraksi dengan UAE juga menghasilkan mutu kimia yang lebih murni dibandingkan metode maserasi, tetapi menghasilkan mutu fisik, yaitu bobot jenis dan warna yang sama.

Penelitian penggunaan UAE dalam ekstraksi sambiloto pernah dilakukan oleh Rao & Rathod (2015). Dalam penelitian tersebut, ditemukan bahwa ekstraksi yang memberikan hasil terbaik menggunakan ultrasonik dengan frekuensi 22 kHz, *power* 134 W, suhu 40 °C dan didapatkan dalam waktu 10 menit dengan perbandingan rasio pelarut 1:40 menggunakan etanol 50%. Hasil yang didapatkan adalah 27,97 mg andrografolida/g sampel dan perbandingan dengan hasil ekstraksi oleh *soxhlet* selama 4 jam adalah 65,87%. Pada penelitian lain oleh (Rubi *et al.* (2020) dengan rasio pelarut 1:15 dan suhu 40 °C ditemukan waktu optimal ekstraksi adalah 10 menit.



Gambar 3. *Ultrasonic Bath*

1.2.6. Suhu dan Waktu Ekstraksi

Salah satu faktor yang mempengaruhi ekstraksi adalah suhu. Secara umum, hasil ekstraksi akan bertambah besar dengan bertambah tingginya suhu. Hal ini dikarenakan peningkatan suhu dapat meningkatkan kelarutan senyawa di dalam pelarut, mengurangi viskositas dan densitas pelarut yang mengakibatkan peningkatan laju perpindahan massa. Hal ini membuat hasil ekstraksi meningkat (Rao & Rathod, 2015). Namun, peningkatan suhu yang terjadi juga harus diperhatikan karena suhu yang terlalu tinggi akan membuat senyawa dalam hasil ekstraksi rusak (Yuliantari *et al.*, 2017). Suhu optimal yang ditemukan oleh Rao & Rathod (2015) adalah 40 °C. Pada suhu diatas 40 °C tidak ditemukan adanya peningkatan yang signifikan pada hasil ekstraksi.

Faktor kedua adalah waktu. Semakin lama waktu sonikasi yang digunakan, maka kontak semakin banyak kandungan senyawa ekstrak yang terdifusi dengan pelarut (Rifkia & Prabowo, 2020). Jumlah ekstrak akan bertambah hingga menjadi kontan di saat kondisi sudah mencapai kesetimbangan (Buanasari *et al.*, 2019). Namun, semakin lama waktu yang digunakan dapat menyebabkan penurunan total flavonoid akibat degradasi flavonoid (Rifkia & Prabowo, 2020). Berdasarkan penelitian Rao & Rathod, (2015) dan Rubi *et al.* (2020), waktu yang optimal digunakan dalam melakukan ekstraksi ultrasonik pada sambiloto adalah 10 menit. Penurunan hasil ekstraksi ditemukan pada waktu lebih dari 10 menit.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perbandingan suhu dan waktu terhadap hasil ekstraksi daun sambiloto dengan menggunakan metode ultrasonik.

