

**OPTIMASI EKSTRAKSI DAN PENETAPAN KADAR TANIN
DAUN SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*) MENGGUNAKAN
*RESPONSE SURFACE METHODOLOGY***

SKRIPSI

**OLEH
SITI NURAINI
066119099**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2024**

**OPTIMASI EKSTRAKSI DAN PENETAPAN KADAR TANIN
DAUN SAMBUNG NYAWA (*Gynura procumbens*) MENGGUNAKAN
*RESPONSE SURFACE METHODOLOGY***

SKRIPSI

**Skripsi Ini Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Farmasi Pada Program Studi Farmasi Fakultas Matematika Dan
Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Pakuan**

OLEH

SITI NURAINI

066119099



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2024**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Optimasi Ekstraksi dan Penetapan Kadar Tanin Daun
Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Menggunakan
Response Surface Methodology
Nama : Siti Nuraini
NPM : 066119099
Program Studi : Farmasi

Skripsi ini telah disetujui dan disahkan:

Bogor, Juli 2024

Pembimbing Pendamping



Usep Suhendar, M.Si.

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Anna Permanasari, M.Si.

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



Apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.

Dekan FMIPA UNPAK



Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Siti Nuraini

NPM : 066119099

Judul : Optimasi Ekstraksi dan Penetapan Kadar Tanin Daun
Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Menggunakan
Response Surface Methodology

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapat gelar sarjana di perguruan tinggi atau lembaga lain.

Dengan pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila dikemudian hari terdapat gugatan. Penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, Juli 2024



Siti Nuraini

066119099

**PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI
SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Siti Nuraini
NPM : 066119099
Judul : Optimasi Ekstraksi dan Penetapan Kadar Tanin Daun
Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Menggunakan
Response Surface Methodology

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi diatas adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir Skripsi ini.

Demikian ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Bogor, Juli 2024



Siti Nuraini

066119099

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah puji syukur kehadiran Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan hidayah-Nya dan tidak lupa sholawat dan salam senantiasa tercurah limpahkan kepada junjungan besar Nabi Muhammad SAW.

Teruntuk dosen pembimbing saya yaitu ibu Prof. Dr. Anna Permanasari, M.Si. dan bapak Usep Suhendar, M.Si. saya ucapkan terimakasih telah senantiasa sabar dalam membimbing saya, meluangkan waktunya untuk menuntun dan mengarahkan saya dalam proses penyusunan skripsi ini. Semoga kebaikan ibu dan bapak sekalian dibalas oleh Allah S.W.T. dan senantiasa diberikan kemudahan dalam segala urusan aamiin ya rabbal alamin.

Skripsi ini saya persembahkan kepada orang-orang yang senantiasa baik, mendukung serta membantu dalam pembuatan skripsi ini sehingga karya tulis ini dapat terselesaikan dengan semestinya. Pertama dan paling utama saya ucapkan terimakasih kepada orang tua saya (Ibu Oyah Patmawati dan Bapak Mohammad Kasim) yang sudah mendidik saya sehingga saya bisa mencapai ke tahap ini, terimakasih mah, pah sudah cukup sabar menghadapi anakmu yang selalu mengeluh dan terimakasih sudah percaya bahwa anakmu dapat selesai walaupun prosesnya tidak secepat orang-orang lain.

Teruntuk kedua abang saya (Ellen Fachmi Haridas dan Sulaeman), terimakasih sudah memberikan doa, semangat, dan saran dalam penulisan skripsi ini.

Terimakasih kepada Grup Obrolan Tengah Malam (Zahratul Isnaniyah dan Siti Widuri Arassua) yang selalu menemani dalam berbagai kondisi, menghibur, mendukung, mendengarkan keluh kesah, memberi motivasi dan semangat sehingga penulis menyelesaikan skripsi ini dengan segera.

Terimakasih kepada Grup Konco-Koncoku, yang telah banyak menghibur dan menjadi teman bertukar pikiran.

Terimakasih untuk teman-teman seperjuangan, mahasiswa farmasi angkatan 2019 yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan kenangan yang berarti. Semoga diberikan kesehatan, kemudahan, dan kelancaran oleh Allah SWT. Saya menyadari bahwa skripsi ini tidak akan selesai dengan semestinya bila dilakukan sendiri tanpa bantuan orang-orang terbaik di sekitar saya.

Terakhir penulis persembahkan untuk diri sendiri. Terimakasih sudah dapat melewati proses sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik, tetap semangat menghadapi tantangan baru di kemudian hari. *take the risk or lose the change.*

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Siti Nuraini, lahir di Tanjungpinang pada tanggal 14 Februari 2001. Penulis merupakan anak terakhir dari pasangan Bapak Mohammad Kasim dan Ibu Oyah Patmawati. Penulis memulai pendidikan formalnya di TK Ar-Rasyid dan lulus pada tahun 2007, kemudian penulis melanjutkan pendidikan sekolah dasar di SDN 011 Tanjungpinang Barat dan lulus pada tahun 2013. Penulis kemudian melanjutkan pendidikan tingkat menengah pertama di MTsN Tanjungpinang dan lulus pada tahun 2016, kemudian penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah atas di SMAN 5 Tanjungpinang dan lulus pada tahun 2019. Pada tahun 2019 penulis melanjutkan pendidikan tingkat sarjana S1 di Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan dan dinyatakan lulus pada Mei 2024. Selama duduk dibangku perguruan tinggi, penulis mengikuti organisasi Himpunan Mahasiswa Farmasi (HIMAFAR) sebagai anggota.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji serta syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas kebesaran-Nya yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga hasil penelitian yang berjudul **“Optimasi Ekstraksi dan Penetapan Kadar Tanin Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Menggunakan *Response Surface Methodology*”** telah berhasil diselesaikan. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi dari Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan.

Selama melakukan penulisan skripsi ini, penulis telah memperoleh banyak bimbingan, bantuan serta dukungan dari berbagai pihak saat proses penyusunan hasil penelitian tersebut. Sehubungan dengan hal tersebut, penulis ingin mengucapkan terima kasih, kepada:

1. Prof. Dr. Anna Permanasari, M. Si., sebagai pembimbing utama dan Usep Suhendar, M. Si., sebagai pembimbing pendamping.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan dan Ketua Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan.
3. Seluruh jajaran staf dosen dan karyawan di lingkungan Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan.
4. Bapak, Ibu, dan Abang-abang tercinta, yang telah memberikan dukungan, doa, semangat serta kasih sayang hingga saat ini.
5. Rekan-rekan mahasiswa farmasi angkatan 2019.

Penulis menyadari bahwa tulisan masih jauh dari kata sempurna, namun penulis berharap agar tulisan ini dapat memberikan manfaat terhadap semua pihak.

Bogor, Juli 2024

Penulis

RINGKASAN

SITI NURAINI. 066119099. 2024. **Optimasi Ekstraksi dan Penetapan Kadar Tanin Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) menggunakan *Response Surface Methodology***. Di bawah bimbingan: Anna Permanasari dan Usep Suhendar.

Daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) merupakan tanaman yang memiliki berbagai macam khasiat. Tanaman ini mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder salah satunya yaitu tanin. Dalam bidang kesehatan tanin dapat dimanfaatkan sebagai antidiare dan antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi ekstraksi optimum daun sambung nyawa yang efektif sehingga menghasilkan rendemen ekstrak dan kadar tanin yang optimal.

Pengambilan senyawa tanin dilakukan dengan metode remaserasi. Penentuan kondisi optimum menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) dengan rancangan *Central Composite Design* (CCD). Penelitian ini dilakukan menggunakan 2 faktor yaitu konsentrasi etanol (50%, 70% dan 96%) dan komposisi bahan-pelarut (1:10, 1:20 dan 1:30) yang diformulasikan menggunakan perangkat lunak *Design Expert 13*. Parameter mutu ekstrak yang diukur adalah rendemen ekstrak dan kadar tanin.

Kondisi optimum yang diperoleh yaitu pada konsentrasi etanol 70% dan komposisi bahan pelarut 1:20 dengan nilai rentang PI rendemen ekstrak sebesar 14.7028% hingga 15.842% dan kadar tanin sebesar 4.82847% hingga 5.431%.

Kata Kunci: *Gynura procumbens*; *Response Surface Methodology*; *Central Composite Design*; Rendemen Ekstrak; Tanin

SUMMARY

SITI NURAINI. 066119099. 2024. **Optimization of Extraction and Determination of Tannin from Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Leaves using *Response Surface Methodology***. Supervised by Anna Permanasari and Usep Suhendar.

Sambung nyawa (*Gynura procumbens*) leaves are plants those have various benefits. This plant contains various secondary metabolite compounds, one of which is tannin. In the health sector, tannins can be used as antidiarrhea and antioxidant. This research aims to determine optimum extraction conditions for effective sambung nyawa leaves so as to produce optimal levels of extract and tannin yield.

Extraction of tannin compounds was carried out using a remaseration method. Determination of optimum conditions uses the *Response Surface Method* (RSM) with *Central Composite Design* (CCD). This research was carried out using 2 variables, ethanol concentration (50%, 70% and 96%) and composition of materials and solvents (1:10, 1:20 and 1:30) which were formulated using *Design Expert 13* software. The extract quality parameters measured were extract yield and tannins levels.

The optimum conditions obtained were at an ethanol concentration of 70% and composition of materials and solvents 1:20 with PI value range for extract yield of 14.7028% to 15.842% and tannin levels of 4.82847% to 5.431%.

Keywords: *Gynura procumbens*; *Response Surface Methodology*; *Central Composite Design*; **Extract yield; Tannin**

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS.....	iv
PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
RINGKASAN.....	x
SUMMARY.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Hipotesis.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Sambung Nyawa.....	4
2.1.1. Deskripsi Sambung Nyawa.....	4
2.1.2. Kandungan Kimia dan Manfaat Daun Sambung Nyawa.....	4
2.2 Ekstraksi dengan Teknik Remaserasi.....	5
2.3 Tanin.....	6
2.4 Uji Kualitatif Tanin.....	7
2.5 Uji Kuantitatif.....	8
2.5.1. Penetapan Kadar Air.....	8
2.5.2. Penetapan Kadar Abu.....	8

2.5.3. Penetapan Kadar Tanin.....	9
2.6 <i>Response Surface Methodology</i> (RSM)	10
BAB III METODE PENELITIAN.....	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.2 Alat dan Bahan.....	13
3.2.1. Alat.....	13
3.2.2. Bahan.....	13
3.3 Metode Kerja.....	13
3.3.1. Pengumpulan Bahan dan Determinasi Sampel.....	13
3.3.2. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa.....	14
3.3.3. Uji Karakteristik Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa.....	14
3.3.3.1. Penetapan Kadar Air.....	14
3.3.3.2. Penetapan Kadar Abu.....	14
3.3.4. Desain Analisis Optimasi <i>Response Surface Methodology</i> (RSM)...	15
3.3.5. Pembuatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa Berdasarkan Hasil dari Analisis <i>Response Surface Methodology</i> (RSM)	16
3.3.6. Uji Kualitatif Tanin Daun Sambung Nyawa.....	17
3.3.7. Penetapan Kadar Tanin Secara Spektrofotometri.....	17
3.3.7.1. Pembuatan Larutan Reagen Na ₂ CO ₃ 15%.....	17
3.3.7.2. Pembuatan Larutan Standar Induk Asam Tanat.....	17
3.3.7.3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Tanat..	17
3.3.7.4. Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Asam Tanat.....	18
3.3.7.5. Pembuatan Deret Larutan Standar Asam Tanat.....	18
3.3.7.6. Pembuatan Larutan Uji dari 13 Kombinasi Ekstrak Daun Sambung Nyawa Hasil Analisis <i>Response Surface Methodology</i>	18
3.3.7.7. Penetapan Kadar Tanin.....	19
3.3.8. Analisis Data.....	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	20
4.1 Hasil Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman.....	20
4.2 Hasil Pembuatan Serbuk Daun Sambung Nyawa.....	20

4.3 Hasil Uji Karakteristik Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa.....	21
4.3.1. Penetapan Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa.....	21
4.3.2. Penetapan Kadar Abu Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa.....	21
4.4 Hasil Uji Kualitatif Tanin Daun Sambung Nyawa.....	23
4.5 Hasil Desain Analisis Optimasi Rendemen Ekstrak Daun Sambung Nyawa..	24
4.5.1. Hasil Respon Rendemen Ekstrak Daun Sambung Nyawa.....	24
4.5.2. Analisis Hasil Optimasi Rendemen Ekstrak.....	25
4.6 Hasil Desain Analisis Optimasi Kadar Tanin Ekstrak Daun Sambung Nyawa.....	29
4.6.1. Hasil Penetapan Kadar Tanin Daun Sambung Nyawa.....	29
4.6.1.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	30
4.6.1.2. Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum.....	30
4.6.1.3. Hasil Deret Larutan Standar Asam Tanat.....	31
4.6.2. Hasil Respon Kadar Tanin Ekstrak Daun Sambung Nyawa.....	32
4.6.3. Analisis Hasil Optimasi Kadar Tanin.....	34
4.7 Prediksi Titik Optimum Terhadap Respon Rendemen dan Kadar Tanin.....	37
4.8 Hasil Verifikasi Titik Optimum.....	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	40
5.1 Kesimpulan.....	40
5.2 Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Penentuan Variabel Bebas pada Penelitian menggunakan Desain Analisis <i>Response Surface Methodology</i> (RSM)	15
Tabel 2. Kombinasi Perlakuan Desain Analisis <i>Response Surface Methodology</i> (RSM).....	15
Tabel 3. Hasil Pengujian Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa .	21
Tabel 4. Hasil Pengujian Kadar Abu Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa	22
Tabel 5. Hasil Uji Kualitatif Tanin Daun Sambung Nyawa	23
Tabel 6. Hasil Respon Rendemen Ekstrak Daun Sambung Nyawa.....	24
Tabel 7. Nilai <i>Adjusted R²</i> , <i>Predicted R²</i> , dan nilai <i>Lack of fit</i> Rendemen Ekstrak	25
Tabel 8. Hasil Uji ANOVA (<i>Analysis of Variance</i>) Rendemen Ekstrak Daun Sambung Nyawa	26
Tabel 9. Hasil Respon Kadar Tanin Daun Sambung Nyawa	33
Tabel 10. Nilai <i>Adjusted R²</i> , <i>Predicted R²</i> , dan nilai <i>Lack of fit</i> Kadar Tanin	34
Tabel 11. Hasil Uji ANOVA (<i>Analysis of Variance</i>) Kadar Tanin Ekstrak Daun Sambung Nyawa	34
Tabel 12. Solusi Titik Optimum Terpilih.....	37
Tabel 13. Verifikasi Rendemen Ekstrak dan Kadar Tanin	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun Sambung Nyawa (<i>Gynura procumbens</i>)	4
Gambar 2. Struktur Kimia Senyawa Tanin	6
Gambar 3. Struktur Kimia Senyawa (a) Tanin terhidrolisis dan (b) Tanin terkondensasi.....	7
Gambar 4. Reaksi antara Senyawa Fenol dengan Pereaksi <i>Folin Ciocalteu</i>	10
Gambar 5. Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa	21
Gambar 6. Grafik Respon Rendemen terhadap Konsentrasi Etanol dan Komposisi Bahan-pelarut (A) <i>Contour plot</i> dan (B) <i>Surface plot</i> ..	29
Gambar 7. Grafik Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Tanat.....	30
Gambar 8. Grafik Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Asam Tanat terhadap Absorbansi pada Panjang Gelombang 744 nm	31
Gambar 9. Grafik Deret Asam Tanat dengan Variasi Konsentrasi terhadap Absorbansi pada Panjang Gelombang 744 nm	32
Gambar 10. Grafik Respon Kadar Tanin terhadap Konsentrasi Etanol dan Komposisi Bahan-pelarut (A) <i>Contour plot</i> dan (B) <i>Surface plot</i> ..	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian	50
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman	50
Lampiran 3. Rendemen Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa.....	51
Lampiran 4. Kadar Air dan Kadar Abu Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa	52
Lampiran 5. Hasil Rendemen dan Kadar Tanin Ekstrak Daun Sambung Nyawa	54
Lampiran 6. Analisis Model dan ANOVA Terhadap Respon	60
Lampiran 7. Data Verifikasi.....	62
Lampiran 8. Dokumentasi	63

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman sambung nyawa merupakan tanaman yang memiliki berbagai macam khasiat. Secara tradisional tanaman sambung nyawa dapat mengobati ruam, penyakit ginjal dan infeksi kerongkongan. Daun sambung nyawa mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder salah satunya yaitu tanin. Dalam bidang kesehatan tanin diketahui dapat dimanfaatkan sebagai antidiare dan antioksidan (Sunani & Hendriani, 2023).

Senyawa metabolit sekunder biasanya diperoleh dengan melakukan berbagai cara pemisahan dari bahan dasarnya, diantaranya dengan metode ekstraksi. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Salma (2020), metode yang disarankan untuk ekstraksi senyawa tanin yang memiliki sifat tidak tahan panas pada daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) yaitu dengan ekstraksi dingin, pada penelitian tersebut diperoleh nilai kadar tanin sebesar 7,08% b/b pada maserasi dan sebesar 1,74% b/b pada perkolasi. Remaserasi merupakan salah satu metode ekstraksi dingin dan merupakan metode maserasi yang telah dimodifikasi. Pada proses ekstraksi remaserasi terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (DepKes, 2000). Keunggulan metode remaserasi mencakup kesederhanaan dalam cara pelaksanaan dan penggunaan alat, serta kemungkinan kerusakan bahan alam yang minim karena remaserasi melibatkan proses ekstraksi pada suhu rendah.

Pada ekstraksi terdapat berbagai faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi yang meliputi jenis pelarut, konsentrasi pelarut, komposisi bahan-pelarut, waktu ekstraksi, suhu, dan ukuran partikel (Rifai *et al.*, 2018). Ekstraksi dengan pelarut etanol sebagai pelarut universal sangat banyak digunakan (Faizah *et al.*, 2021). Hasil penelitian Putri *et al.* (2015), menyatakan bahwa ekstraksi pada daun dan buah karamunting menggunakan pelarut polar menghasilkan kandungan tanin yang paling tinggi daripada menggunakan pelarut non-polar. Penelitian mengenai ekstraksi dengan beberapa konsentrasi pelarut etanol telah

dilakukan oleh Wardani & Leviana (2010), yaitu ekstraksi serbuk daun jambu biji dengan menggunakan pelarut etanol 50%, 70%, dan 90% memperoleh rendemen secara berturut yaitu 22,07%, 31,85%, 25,13% dengan kadar tanin secara berturut yaitu 23,37%, 14,28%, dan 10,96%. Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh berbagai faktor, termasuk kemampuan cairan ekstraksi untuk mengekstraksi zat aktif yang terkandung dalam simplisia, kelarutan zat aktif dalam cairan ekstraksi yang berbeda, serta sifat kepolaran masing-masing cairan ekstraksi. Selain penggunaan pelarut, komposisi bahan-pelarut juga mempengaruhi ekstraksi seperti pada penelitian yang telah dilakukan Andini *et al.* (2023), ekstraksi serbuk batang kecombrang sebanyak 5 gram dengan menggunakan perbandingan komposisi bahan-pelarut (1:10, 1:20, dan 1:30), kemudian diperoleh rendemen tertinggi pada komposisi 1:30 sebesar 4,44%. Hal tersebut dapat terjadi karena semakin besar rasio antara bahan dan pelarut yang digunakan, semakin tinggi hasil ekstraksi yang dapat diperoleh.

Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi tersebut dapat dioptimasi untuk memperoleh hasil analisis yang optimal. Menurut Maryati *et al.* (2019), *Response Surface Methodology* (RSM) merupakan pendekatan yang sangat efektif dalam memprediksi optimasi ekstraksi. Tujuan dilakukan optimasi agar dapat mengidentifikasi keputusan atau solusi terbaik sehingga dapat menghasilkan hasil yang optimal (Putra, 2012). Pada penelitian ini, digunakan desain eksperimen CCD (*Central Composite Design*) sebagai metode dalam *Response Surface Methodology*. CCD dipilih karena dianggap lebih efisien, mudah diatur dan memungkinkan interpretasi yang lebih baik dalam percobaan optimasi terutama untuk desain dengan dua variabel bebas (Andres *et al.*, 2020). Sedangkan *Box Behnken* digunakan untuk desain yang memiliki tiga atau lebih variabel bebas (Hidayat *et al.*, 2020).

Metode RSM (*Response Surface Methodology*) diterapkan dalam penelitian Permatasari *et al.* (2023), yang melakukan optimasi kondisi ekstraksi daun sambung nyawa dengan memvariasikan konsentrasi etanol, waktu ekstraksi dan rasio bahan-pelarut. Hasilnya menunjukkan bahwa titik optimum tercapai pada konsentrasi etanol 70% dengan waktu ekstraksi 1 jam dan rasio bahan

pelarut 9,8 dengan kandungan total flavonoid yaitu 17,599 mg QE/g dan nilai IC_{50} sebesar 0,211 mg/mL.

Berdasarkan latar belakang di atas, telah dilakukan penelitian optimasi ekstraksi dan penetapan kadar tanin pada daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) menggunakan *Response Surface Methodology*. Penetapan kadar tanin akan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis, kemudian data yang diperoleh akan diolah menggunakan *software Design Expert* dengan rancangan *Central Composite Design* (CCD).

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian bertujuan untuk menentukan kondisi ekstraksi yang diperoleh menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan rancangan *Central Composite Design* (CCD) pada konsentrasi pelarut etanol dan komposisi bahan-pelarut yang optimum berdasarkan rendemen ekstrak dan penetapan kadar tanin ekstrak daun sambung nyawa.

1.3 Hipotesis

Terdapat kondisi ekstraksi yang diperoleh menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan rancangan *Central Composite Design* (CCD) pada konsentrasi pelarut etanol dan komposisi bahan-pelarut yang optimum berdasarkan rendemen ekstrak dan penetapan kadar tanin ekstrak daun sambung nyawa.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sambung Nyawa

2.1.1. Deskripsi Sambung Nyawa

Sambung nyawa (*Gynura procumbens*) merupakan anggota dari genus *Gynura*, famili *Asteraceae* (Riadini *et al.*, 2015). Tanaman ini banyak tersebar di wilayah Asia Tenggara terutama di daerah melayu seperti Thailand dan Malaysia. Di Indonesia, tanaman ini menyebar di daerah Sumatera dan Jawa (Sudarsono *et al.*, 2002).



Gambar 1. Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*)

Sambung nyawa adalah tanaman obat yang berbentuk semak tahunan yang tingginya sekitar 20-60 cm. Batangnya lunak, permukaannya bulat dan berair, memiliki warna ungu kehijauan, berdaun tunggal, berbentuk lonjong, berwarna hijau muda, tepi daun rata atau agak bergelombang dengan panjang 15 cm dan lebar 7 cm, permukaan daun pada kedua sisinya mempunyai bulu-bulu halus, ujung pangkalnya meruncing dan tulanganya menyirip. Sambung nyawa berakar serabut dan juga tidak berbunga (Maryani, 2003).

2.1.2. Kandungan Kimia dan Manfaat Daun Sambung Nyawa

Tanaman sambung nyawa mengandung beberapa kandungan kimia aktif seperti flavonoid, saponin, tanin, steroid atau triterpenoid, fenolik, asam kafeat, asam klorogenat, asam kumarat, asam vanilat, minyak atsiri, dan asam para hidroksi benzoat (Sinaga *et al.*, 2018). Tanaman sambung nyawa secara

tradisional dapat mengobati ruam, penyakit ginjal, infeksi kerongkongan, dan sembelit (Fadli, 2015).

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, daun sambung nyawa dapat digunakan sebagai antipiretik (Rahmi, 2019), antihiperqlikemik yang diprediksi berasal dari senyawa alkaloid, steroid, flavonoid, dan saponin (Agustira *et al.*, 2019), antihiperlipidemia, analgesik (Sinaga *et al.*, 2018), antibakteri yang diprediksi berasal dari senyawa alkaloid (Gulo & Silitonga, 2021), anti-Herpes simplex virus, anti inflamasi, sifat hipertensi darah yang diinduksi ulang (Sinaga *et al.*, 2017) dan antioksidan yang diprediksi berasal dari senyawa flavonoid (Rohmah, 2020).

2.2 Ekstraksi dengan Teknik Remaserasi

Pengambilan bahan aktif dari simplisia tanaman herbal dapat dilakukan dengan metode ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan dari bahan padat maupun cair menggunakan pelarut sebagai bantuan. Pada proses ekstraksi dapat menggunakan berbagai jenis pelarut, mulai dari yang bersifat polar seperti air, etanol, dan metanol, pelarut semipolar seperti etil asetat dan diklorometan, hingga pelarut nonpolar seperti n-heksan, petroleum eter, dan kloroform (Hasanah, 2015 dan Mukhtarini, 2014). Ada beberapa teknik ekstraksi yang biasa digunakan diantaranya teknik remaserasi.

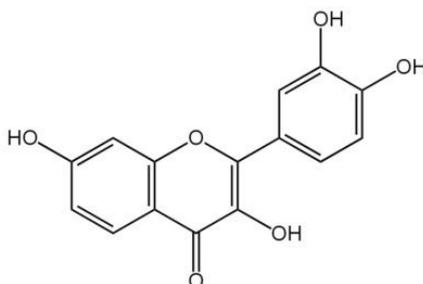
Remaserasi adalah salah satu metode maserasi yang telah dimodifikasi. Maserasi merupakan jenis ekstraksi secara dingin, merupakan teknik ekstraksi yang sederhana dan juga paling mudah. Proses pengerjaan dimulai dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut dan disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya. Kemudian, campuran tersebut dikocok kembali. Waktu maserasi dilakukan antara 4 hingga 10 hari (Voight, 1994). Remaserasi adalah metode ekstraksi yang pada prosesnya terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan langkah-langkah berikutnya (DepKes, 2000). Keunggulan metode remaserasi mencakup kesederhanaan dalam cara pelaksanaan dan penggunaan alat, serta kemungkinan kerusakan bahan alam yang minim karena remaserasi melibatkan proses ekstraksi pada suhu rendah.

Namun, kerugiannya adalah membutuhkan waktu pengerjaan yang lebih lama dan memerlukan jumlah pelarut yang lebih banyak (Ningsih *et al.*, 2015).

Prinsip kerja remaserasi didasarkan pada pelarutan senyawa metabolit sekunder dalam sampel berdasarkan sifat kelarutan pelarut. Proses ini dilakukan pada suhu kamar dan dilindungi dari cahaya, di mana serbuk direndam dalam pelarut yang sesuai selama tiga hari. Selama proses ini, senyawa metabolit sekunder akan ditarik keluar dari serbuk menuju pelarut. Ketika kesetimbangan tercapai, pelarut akan meresap ke dalam sel tanaman melalui dinding sel. Proses difusi terjadi disebabkan karena adanya perbedaan konsentrasi yang terdapat didalam dan diluar sel, yang menyebabkan senyawa metabolit sekunder keluar dari sel dan digantikan oleh cairan pelarut di luar sel yang memiliki konsentrasi lebih rendah. Dalam proses remaserasi, dilakukan penggantian cairan ekstraksi setiap hari selama periode 3 hari. Hal ini dilakukan untuk memastikan penarikan metabolit sekunder mencapai tingkat maksimal (Dewatisari, 2020).

2.3 Tanin

Tanin merupakan senyawa yang mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik (Hidayah, 2016). Tanin umumnya sebagai senyawa polifenol dan dapat membentuk kompleks dengan protein dan membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air (Hayati *et al.*, 2010). Tanin memiliki sifat larut dalam air. Selain itu, tanin juga akan larut dalam pelarut seperti metanol, etanol, aseton, dan pelarut organik lainnya (Browning, 1966). Tanin memiliki rumus struktur sebagai berikut.



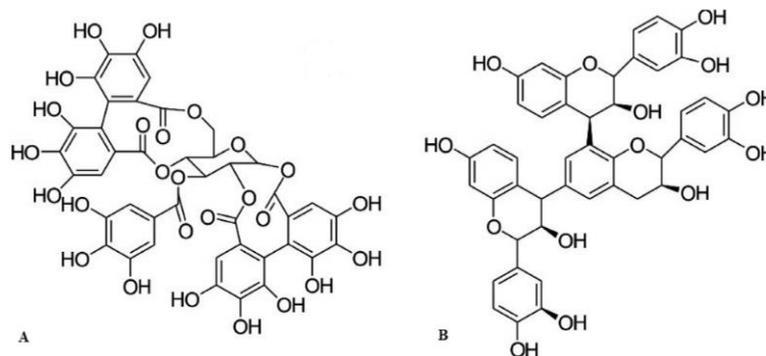
Gambar 2. Struktur Kimia Senyawa Tanin

Tanin adalah senyawa organik yang sangat kompleks. Senyawa ini tersebar hampir di seluruh bagian tumbuhan, termasuk batang, kulit kayu, buah

dan daun (Sajaratud, 2013). Tanin memberikan rasa sepat dan pahit pada beberapa tumbuhan dan buah-buahan. Tanin merupakan polifenol tanaman yang berfungsi mengikat dan mengendapkan protein, selain itu tanin memiliki khasiat sebagai antioksidan dan memiliki sifat atau daya bakteriostatik dan fungistatik (Nofita & Dewangga, 2021).

Secara kimia, terdapat dua jenis utama tanin diantaranya tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi terjadi karena reaksi polimerisasi (kondensasi) antar flavonoid dengan ikatan karbon-karbon berupa *catechin* dan *gallocatechin*, sedangkan tanin terhidrolisis merupakan *polimer gallic* dan *ellagic acid* yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula. Tanin mudah teroksidasi dan dapat dengan mudah diubah menjadi asam tanat, jika terkena air panas atau udara. Asam tanat adalah contoh tanin terhidrolisis (Hidayah, 2016).

Tanin terhidrolisis memiliki ikatan ester atau glikosidik dan cenderung terurai oleh asam. Sementara itu, tanin terkondensasi mengandung inti benzena. Tanin yang berasal dari hijauan, seperti leguminosa, umumnya membentuk tanin terkondensasi, yang memiliki memiliki ikatan kompleks dengan protein yang lebih kuat daripada tanin terhidrolisis. Berikut ini merupakan gambar struktur senyawa kimia tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi.



Gambar 3. Struktur Kimia Senyawa (a) Tanin terhidrolisis dan (b) Tanin terkondensasi (Das *et al.*, 2020)

2.4 Uji Kualitatif Tanin

Hasil proses remaserasi memperoleh zat aktif sehingga dilakukan uji kualitatif. Pendekatan secara penapisan fitokimia mencakup uji kualitatif

kandungan senyawa dalam tumbuhan atau bagian-bagian tumbuhan seperti akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji. Uji kualitatif dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak suatu bahan. Metabolit sekunder merupakan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, terpenoid, saponin, tannin, dan polifenol nya (Asma *et al.*, 2021). Keberadaan senyawa tanin pada suatu larutan dapat ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna hitam kehijauan setelah penambahan FeCl_3 (Sangi *et al.*, 2008). Dan pada penambahan gelatin (protein) pada larutan tanin dapat menimbulkan endapan berwarna putih (Hanani, 2015).

2.5 Uji Kuantitatif

Berdasarkan hasil uji kualitatif, telah ditemukan positif atau negatif senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman tersebut. Untuk mengetahui berapa banyak senyawa metabolit sekunder yang terekstraksi, maka perlu dilakukan uji kuantitatif. Uji kuantitatif pada penelitian ini mencakup penetapan kadar air, penetapan kadar abu, dan penetapan kadar tanin.

2.5.1. Penetapan Kadar Air

Kadar air adalah jumlah air yang terdapat dalam suatu bahan, yang dapat diukur berdasarkan perbedaan antara berat basah dan berat keringnya. Kadar air biasanya dinyatakan dalam persentase (Hanum, 2019). Penentuan kadar air ditentukan dengan dua metode yaitu metode langsung dan tidak langsung. Metode langsung merupakan pengukuran langsung kandungan air, yang meliputi metode pengeringan (*Thermogravimetri*), metode destilasi (*Thermovolumetri*), dan metode kimia. Metode tidak langsung merupakan pengukuran tahanan atau tegangan listrik yang ditimbulkan oleh air dengan mengukur penyerapan gelombang mikro, sonik dan ultrasonik, ataupun dengan mengukur sifat spektroskopi air (Hanum, 2019).

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{berat cawan isi sebelum dipanaskan (g)} - \text{berat cawan isi sesudah dipanaskan (g)}}{\text{bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

2.5.2. Penetapan Kadar Abu

Kadar abu merupakan residu anorganik atau mineral yang terdapat pada suatu bahan pangan yang diperoleh melalui proses pembakaran atau oksidasi

komponen organik bahan pangan. Kadar abu dari suatu produk menunjukkan kandungan mineral yang terdapat dalam bahan tersebut, kemurnian, serta kebersihan dari produk yang dihasilkan (Kristiandi *et al.*, 2021).

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{\text{bobot krus isi sesudah ditanur (g)} - \text{bobot krus kosong (g)}}{\text{bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

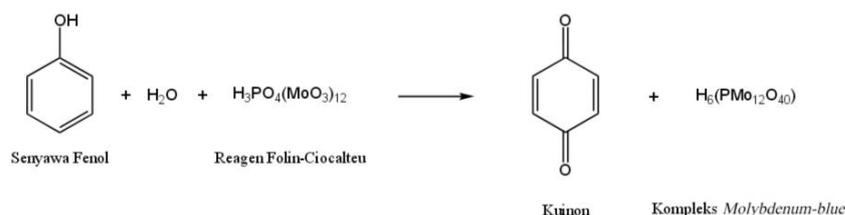
2.5.3. Penetapan Kadar Tanin

Pada penetapan kadar tanin terdapat dua metode yang dapat dilakukan yaitu spektrofotometri UV-Vis dan permanganometri.

2.5.3.1 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah teknik analisis yang menggunakan sumber radiasi UV dan sinar tampak untuk mengukur absorbansi sampel. Prinsip dasarnya adalah mengukur jumlah cahaya yang diserap oleh molekul-molekul dalam larutan, yang kemudian direkam sebagai absorbansi (A). Besarnya absorbansi pada panjang gelombang tertentu berkaitan dengan konsentrasi larutan tersebut (Aini, 2016).

Pada metode ini digunakan *folin ciocalteu* sebagai pereaksi karena dapat bereaksi dengan senyawa fenolik sehingga folin dapat membentuk larutan berwarna. Pereaksi ini mengoksidasi fenolat (garam alkali) atau gugus fenolik-hidroksi dengan mereduksi asam heteropoli (*Fosfomolibdat-fosfotungstat*) yang ada dalam pereaksi *Folin ciocalte*, membentuk suatu kompleks *Molibdenum tungsten*. Senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu hanya dalam suasana basa agar memungkinkan terjadi disosiasi proton pada senyawa fenolik menjadi ion fenolat. Suasana basa yang diperoleh berasal dari penambahan Natrium karbonat (Na_2CO_3) untuk membuat keadaan basa. Semakin tinggi konsentrasi senyawa fenolik, semakin banyak ion fenolat yang akan bereaksi dengan asam heteropoli (*fosfomolibdat-fosfotungstat*) untuk membentuk kompleks *molibdenum tungsten*. Ini menyebabkan, warna biru yang dihasilkan menjadi semakin pekat (Sulistiyani *et al.*, 2011). Berikut ini merupakan reaksi antara senyawa fenol dengan pereaksi *folin ciocalteu*.



Gambar 4. Reaksi antara Senyawa Fenol dengan Pereaksi *Folin Ciocalteu*

Asam tanat merupakan sejenis tanin terhidrolisis, berasal dari turunan polifenol. Seringkali, asam tanat digunakan sebagai senyawa pembanding dalam penentuan kadar tanin total dalam sampel (Pratama *et al.*, 2019). Penggunaan metode ini dilakukan karena lebih peka, mempunyai tingkat ketelitian yang tinggi, memberikan cara yang sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil untuk analisis tanin (Hana *et al.*, 2018).

2.5.3.2 Permanganometri

Titration permanganometri adalah metode pengukuran volume larutan yang konsentrasinya diketahui secara pasti, dan membutuhkan reaksi yang sempurna dengan volume yang tepat dari zat yang akan diukur secara akurat. Larutan dengan konsentrasi yang diketahui dengan pasti disebut larutan standar atau larutan baku (Amelia, 2015).

Titration permanganometri didasarkan pada proses oksidasi-reduksi (redoks). Larutan standar yang digunakan adalah kalium permanganat (KMnO₄). KMnO₄ merupakan oksidator yang kuat dan sering digunakan. Larutan baku primer yang umum digunakan dalam titration permanganometri adalah asam oksalat. Untuk menentukan kadar tanin, sampel dilarutkan dengan air, lalu volume tertentu dipipet dan dicampur dengan asam indigo sulfonat sebagai indikator. Selanjutnya, larutan tersebut dititrasi dengan KMnO₄ yang telah distandarisasi menggunakan asam oksalat. Titik akhir titration, yang menunjukkan kadar tanin, ditandai dengan perubahan warna dari warna biru menjadi kuning keemasan (Hana *et al.*, 2018).

2.6 *Response Surface Methodology (RSM)*

Penerapan desain eksperimental statistik terbukti efisien dalam memperoleh informasi yang diperlukan agar dapat memahami hubungan antara variabel independen dan dependen. Salah satu desain eksperimental statistik yang

dapat digunakan yaitu RSM (*Response Surface Methodology*). RSM merupakan pendekatan yang menggabungkan teknik matematika dan statistika untuk membentuk model dan mengevaluasi suatu respon suatu sistem (Firyanto & Mulyaningsih, 2020). Metode ini telah banyak digunakan oleh peneliti untuk memaksimalkan atau meminimalkan berbagai variabel bebas sehingga dapat memprediksi kondisi optimal (Hachani *et al.*, 2020). Keuntungan metode ini yaitu dapat mempermudah pencarian wilayah optimum sehingga suatu eksperimen tidak dilakukan berulang-ulang dan dapat menghemat waktu dan biaya sehingga lebih efektif efisien (Firyanto & Mulyaningsih, 2020).

Optimasi adalah suatu pendekatan terukur yang digunakan untuk mengidentifikasi keputusan terbaik dengan mempertimbangkan berbagai variabel pembangun sistem, baik itu variabel terikat maupun variabel bebas (Putra, 2012). Optimalisasi ini bermanfaat untuk mengurangi jumlah *running factor* sehingga penelitian dapat efektif secara waktu dan juga kondisi saat pengoperasian (Syafaatullah *et al.*, 2021).

Metode RSM memiliki variabel bebas dan variabel respon, yang variabel bebasnya mempengaruhi variabel respon. Sehingga ketika nilai model matematis memenuhi asumsi yang melekat dapat dilihat dan optimasinya menjadi tidak bias (Hadiyat, 2012). Hubungan antara respon dan variabel bebas dapat ditulis dengan $y = f(x_1, x_2, \dots, x_k) + \varepsilon$, yang mana y menunjukkan variabel respon, x_1, x_2, \dots, x_k menunjukkan variabel bebas/faktor, sedangkan ε menunjukkan *error* / kesalahan (Ansari *et al.*, 2021). Secara umum, RSM direpresentasikan melalui grafik, dan untuk membantu visualisasi dari plot permukaan, sering digunakan *contour plot* pada permukaan respons (Setiawan *et al.*, 2017).

RSM memiliki dua metode yang terdiri dari CCD (*Central Composite Design*) dan BBD (*Box Behnken Design*). CCD merupakan jenis RSM yang lebih efisien, lebih mudah mengatur dan menginterpretasikan percobaan optimasi dibandingkan dengan desain lain, juga banyak digunakan untuk mengoptimalkan sejumlah besar parameter. CCD dapat digunakan jika jumlah faktor yang dipelajari 2 atau lebih (Andres *et al.*, 2020). Terdapat beberapa model dalam CCD antara lain yaitu *mean*, *linier*, *quadratic*, *2 factor interaction* (2FI), dan *cubic*.

Titik optimum dalam suatu eksperimen atau proses dapat ditentukan dari nilai *desirability* yang diperoleh. Nilai *desirability* yang mendekati angka 1 menunjukkan bahwa kondisi tersebut dianggap optimal. Pada rancangan *box-behnken* hanya dapat diaplikasikan pada percobaan yang minimal memiliki 3 faktor (Hidayat *et al.*, 2020).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan September hingga Desember 2023, bertempat di Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain Alat Pelindung Diri (APD), alat-alat gelas, aluminium foil, ayakan mesh 40, blender, corong, cawan uap, desikator, kaca arloji, kertas saring, krus porselen, oven (Mettler®), pipet tetes, pipet volume, *rotary evaporator* (IKA® HB 10), spatel logam, spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-730), tanur (Vulcan A-55®), timbangan analitik (LabPRO) dan *waterbath*.

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain daun sambung nyawa, aquadest, etanol 50%, etanol 70%, etanol 96%, NaCl-gelatin (larutan gelatin 10% dalam larutan NaCl 10% dengan perbandingan 1:1), pereaksi besi (III) klorida (FeCl_3) 3%, pereaksi *folin ciocalteu* (Merck), serbuk asam tanat (Merck), dan serbuk natrium karbonat (Na_2CO_3) (Merck).

3.3 Metode Kerja

3.3.1. Pengumpulan Bahan dan Determinasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun sambung nyawa segar yang diperoleh dan dideterminasi di Institut Pertanian Bogor. Determinasi ini dilakukan untuk memastikan kebenaran bahwa daun sambung nyawa yang akan digunakan merupakan daun sambung nyawa yang seragam dan benar.

3.3.2. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

Daun sambung nyawa segar dengan berat 5 kg, dilakukan sortasi basah yang bertujuan untuk menghilangkan pengotor atau bahan-bahan asing, sehingga tidak terbawa pada proses selanjutnya. Kemudian dicuci hingga bersih pada air yang mengalir bertujuan untuk menghilangkan pengotor yang melekat pada daun sambung nyawa. Daun sambung nyawa kemudian ditiriskan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 12 jam. Setelah daun kering, mereka diubah menjadi serbuk menggunakan blender. Serbuk kemudian disaring menggunakan ayakan mesh 40 (Riadini *et al.*, 2015). Kemudian serbuk halus ditimbang dan dihitung rendemen dengan rumus (Kumoro, 2015):

$$\text{Rendemen Serbuk Simplisia} = \frac{\text{bobot serbuk simplisia (g)}}{\text{bobot awal (g)}} \times 100\%$$

3.3.3. Uji Karakteristik Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

3.3.3.1 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan menggunakan metode gravimetri. Serbuk simplisia daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) ditimbang sebanyak 2 gram, lalu dimasukkan sampel yang akan diuji ke dalam cawan penguap yang sudah ditara terlebih dahulu dan dikeringkan dengan cara sampel dimasukkan kedalam oven pada suhu 105°C selama 5 jam, lalu ditimbang hingga bobot konstan. Dalam proses penentuan kadar air, diperlukan bobot konstan yang diperoleh dengan menimbang setiap 1 jam, di mana perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak boleh melebihi 0.25% (DepKes RI, 2020). Selain itu, kadar air dalam sampel tidak boleh melebihi 10% (Depkes RI, 2017). Penentuan kadar air dilakukan secara duplo. Persentase kadar air dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{berat cawan isi sebelum dipanaskan (g)} - \text{berat cawan isi sesudah dipanaskan (g)}}{\text{bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

3.3.3.2 Penetapan Kadar Abu

Penetapan kadar abu dilakukan dengan menggunakan metode gravimetri. Serbuk simplisia daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) ditimbang sebanyak 2 gram, lalu dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah dipijarkan sekaligus

ditara. Setelah itu, krus porselen dipijarkan pada suhu sekitar $\pm 600^{\circ}\text{C}$ hingga arang habis terbakar. Proses ini bertujuan untuk menghancurkan senyawa organik dan turunannya sehingga hanya tersisa unsur mineral dan organik. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang (Depkes RI, 2008). Penentuan kadar abu dilakukan secara duplo, yang berarti pengujian dilakukan dalam dua kali pengulangan untuk memastikan keakuratan hasil. Persentase kadar abu dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(\text{bobot krus isi sesudah ditanur (g)} - \text{bobot krus kosong (g)})}{\text{bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

3.3.4. Desain Analisis Optimasi *Response Surface Methodology* (RSM) (Permatasari *et al.*, 2023, dimodifikasi)

Proses ekstraksi dilakukan berdasarkan hasil dari analisis perangkat lunak *Design Expert 13* dengan menggunakan rancangan percobaan *Central Composite Design* (CCD) dengan faktor konsentrasi etanol (50%, 70% dan 96%) dan komposisi bahan-pelarut (1:10, 1:20 dan 1:30). Diperoleh 13 kombinasi perlakuan.

Tabel 1. Penentuan Variabel Bebas pada Penelitian menggunakan Desain Analisis *Response Surface Methodology* (RSM)

No.	Variabel Bebas	Range dan Level		
		-1	0	1
1.	Konsentrasi Etanol (%)	50	70	96
2.	Komposisi Bahan-pelarut (b/v)	1:10	1:20	1:30

Tabel 2. Kombinasi Perlakuan Desain Analisis *Response Surface Methodology* (RSM)

Std	Run	Konsentrasi Etanol (%)	Komposisi Bahan-pelarut (b/v)
12	1	70	1:20
13	2	70	1:20

Std	Run	Konsentrasi Etanol (%)	Komposisi Bahan-pelarut (b/v)
3	3	50	1:30
4	4	96	1:30
8	5	70	1:30
5	6	50	1:20
9	7	70	1:20
11	8	70	1:20
6	9	96	1:20
1	10	50	1:10
10	11	70	1:20
7	12	70	1:10
2	13	96	1:10

3.3.5. Pembuatan Ekstrak Daun Sambung Nyawa Berdasarkan Hasil dari Analisis *Response Surface Methodology* (RSM) (Riandini *et al.*, 2015, dimodifikasi)

Serbuk daun sambung nyawa masing-masing sebanyak 20 gram yang telah ditimbang, dilakukan ekstraksi menggunakan metode remaserasi dengan penggantian pelarut setiap hari 3 x 24 jam menggunakan variasi konsentrasi etanol 50%, 70%, dan 96% dengan komposisi bahan dan pelarut 1:10, 1:20, dan 1:30 (b/v) berdasarkan hasil 13 kombinasi analisis *Response Surface Methodology* serta dilakukan sesekali pengadukan. Setelah semua filtrat dihasilkan, kemudian disatukan pada satu wadah dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil penguapan kemudian dituangkan ke dalam cawan porselin. Proses penguapan tersebut disempurnakan dengan menggunakan *waterbath* pada suhu 50°C sehingga ekstrak menjadi kental. Selanjutnya, dilakukan perhitungan untuk menentukan rendemen (Depkes, 2017).

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot simplisia (g)}} \times 100\%$$

3.3.6. Uji Kualitatif Tanin Daun Sambung Nyawa

Ekstrak dan serbuk daun sambung nyawa ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu ditambahkan 10 mL aquadest panas dan dipanaskan kurang lebih 1 jam. Setelah dingin, larutan disaring kemudian filtratnya digunakan sebagai larutan uji yang akan digunakan dalam pengujian berikut:

- Larutan uji ditambahkan NaCl-gelatin, yang merupakan campuran larutan gelatin 10 % dalam larutan NaCl 10% dengan perbandingan 1:1. Hasil dianggap positif jika terbentuk endapan berwarna putih.
- Larutan uji ditambahkan larutan FeCl₃ (besi (III) klorida) 3%. Hasil positif jika terjadi warna biru tua atau hijau kehitaman (Hanani, 2015).

3.3.7. Penetapan Kadar Tanin Secara Spektrofotometri (Arifah *et al.*, 2023, dimodifikasi)

3.3.7.1 Pembuatan Larutan Reagen Na₂CO₃ 15%

Sebanyak 15 gram natrium karbonat dilarutkan dalam 100 mL aquadest, kemudian dipanaskan pada suhu 70-80°C dan didinginkan semalam hingga didapat larutan jenuh yang ditandai dengan adanya kristal Na₂CO₃.10H₂O. Setelah proses kristalisasi tersebut kemudian larutan disaring.

3.3.7.2 Pembuatan Larutan Standar Induk Asam Tanat

Standar asam tanat sebanyak 10 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian dilarutkan dalam aquadest sebanyak 100 mL. Larutan tersebut dijadikan sebagai larutan induk dengan konsentrasi standar 100 ppm.

3.3.7.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Tanat

Larutan baku standar induk asam tanat 100 ppm dipipet sebanyak 0.4 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berukuran 10 mL. Selanjutnya, ditambahkan 1 mL reagen *Folin Ciocalteu* ke dalam labu tersebut, diikuti dengan pengocokkan dan diamkan selama 5 menit. Setelah itu, ke dalam larutan tersebut ditambahkan 2 mL larutan Na₂CO₃ 15%, lalu dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian, tambahkan tepat 10 mL aquadest dan ukur λ pada panjang gelombang dalam kisaran 700 hingga 800 nm.

3.3.7.4 Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Asam Tanat

Larutan baku standar induk asam tanat 100 ppm dipipet sebanyak 0.4 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur berukuran 10 mL. Selanjutnya, ditambahkan 1 mL reagen *Folin Ciocalteu* ke dalam labu tersebut, diikuti dengan pengocokkan dan diamkan selama 5 menit. Setelah itu, ke dalam larutan tersebut ditambahkan 2 mL larutan Na_2CO_3 15%, lalu dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 5 menit. Kemudian, tambahkan tepat 10 mL aquadest. Lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dengan interval waktu pengamatan 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 hingga 70 menit.

3.3.7.5 Pembuatan Deret Larutan Standar Asam Tanat

Larutan induk asam tanat dengan konsentrasi 100 ppm dibuat deret standar dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm dengan cara dipipet masing-masing 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; dan 1 mL. Masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan 1 mL reagen *Folin Ciocalteu* ke dalam masing-masing labu, diikuti dengan pengocokkan dan diamkan selama 5 menit. Setelah itu, ke dalam larutan tersebut ditambahkan 2 mL larutan Na_2CO_3 15%, lalu dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya, aquadest ditambahkan hingga tanda batas, dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama waktu optimal. Selanjutnya, amati absorbansi pada panjang gelombang maksimum.

3.3.7.6 Pembuatan Larutan Uji dari 13 Kombinasi Ekstrak Daun Sambung

Nyawa Hasil Analisis *Response Surface Methodology*

Deret Ekstrak daun sambung nyawa ditimbang masing-masing sebanyak 10 mg ekstrak daun sambung nyawa dilarutkan dengan aquadest hingga volume 10 mL. Kemudian masing-masing dimasukkan 1 mL ke dalam labu ukur 10 mL, pada masing-masing labu ditambahkan 1 mL reagen *Folin Ciocalteu* ke dalam masing-masing labu, diikuti dengan pengocokkan dan diamkan selama 5 menit. Setelah itu, ke dalam larutan tersebut ditambahkan 2 mL larutan Na_2CO_3 15%, lalu dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya, aquadest ditambahkan hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen lalu diinkubasi selama waktu optimum. Lalu, amati absorbansi pada panjang gelombang maksimum.

3.3.7.7 Penetapan Kadar Tanin

Kurva standar yang telah dibuat akan menghasilkan data absorbansi yang dapat dihitung menggunakan persamaan linier $y = bx+a$. Setelah itu, data tersebut dapat digunakan untuk menghitung kadar tanin dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Tanin} = \frac{C \text{ (ppm)} \times V \text{ (L)} \times fp \times 10^{-3}}{w \text{ (g)}} \times 100\%$$

Dimana, C = konsentrasi (ppm)

V = volume total ekstrak (L)

fp = Faktor pengenceran

w = berat ekstrak (g)

3.3.8. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil ekstraksi 13 kombinasi perlakuan kemudian diolah menggunakan *Design Expert 13* dengan menggunakan desain eksperimen CCD (*Central Composite Design*) untuk menetapkan kondisi optimum rendemen ekstrak dan kadar tanin dari daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman

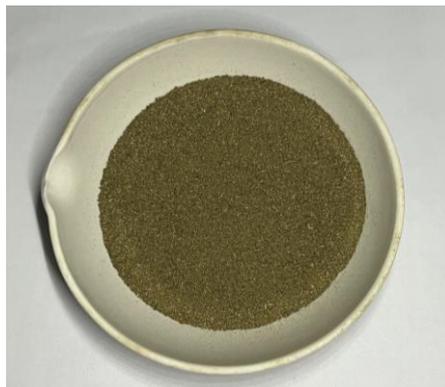
Tanaman yang digunakan dalam penelitian merupakan daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor dengan No. Koleksi BMK0310122016. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengidentifikasi spesies atau jenis tanaman yang digunakan dalam penelitian. Berdasarkan hasil determinasi yang telah dilakukan di Unit Konservasi Budidaya Biofarmaka (UKBB) Pusat Studi Biofarmaka Tropika IPB menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan merupakan tanaman sambung nyawa dengan nama latin *Gynura procumbens* (Lour.) Merr. dan suku *Asteraceae* (Lampiran 2).

4.2 Hasil Pembuatan Serbuk Daun Sambung Nyawa

Bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini yaitu bagian daun dari tanaman sambung nyawa. Pembuatan simplisia daun sambung nyawa bertujuan untuk mempermudah saat ekstraksi sehingga diharapkan dapat menghasilkan ekstraksi yang maksimal. Dilakukan sortasi basah pada 5 kg daun untuk menghilangkan kotoran atau benda asing, dan hasilnya diperoleh daun yang sudah disortasi basah sebanyak 4.5 kg. Selanjutnya daun hasil sortasi basah dicuci dan dilakukan perajangan agar mempermudah proses pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C. Simplisia kering kemudian disortasi kembali untuk memisahkan benda asing yang masih tertinggal serta memisahkan daun yang hangus akibat pemanasan. Selanjutnya, dibuat serbuk dengan menggunakan blender dan dilakukan pengayakan dengan menggunakan *mesh 40* agar ukuran yang diperoleh seragam.

Berat serbuk simplisia daun sambung nyawa diperoleh sebanyak 413 gr, dengan persen rendemen sebesar 10.9% (Lampiran 3). Hasil rendemen yang diperoleh pada penelitian ini lebih sedikit dibandingkan dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Prasetyorini *et al.* (2019), dengan nilai sebesar 14.34%. Menurut Felhi *et al.* (2017), rendemen serbuk dipengaruhi oleh berbagai faktor proses, termasuk proses pengeringan berbeda, proses pengayakan yang kurang

baik sehingga dapat menyebabkan beberapa partikel terperangkap dalam media penyaring, serta lokasi tumbuh tanaman yang digunakan (Felhi *et al.*, 2017). Berdasarkan hasil uji organoleptik, serbuk daun sambung nyawa memiliki warna hijau kecoklatan, bentuk serbuk, rasa agak pahit dan memiliki bau khas (Gambar 5).



Gambar 5. Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

4.3 Hasil Uji Karakteristik Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

4.3.1. Penetapan Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

Penetapan kadar air serbuk simplisia daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dilakukan dengan menggunakan metode *gravimetri* yaitu dengan menguapkan air yang ada dalam bahan dengan cara pemanasan, kemudian menimbang bahan sampai mencapai berat yang konstan sehingga menandakan semua air sudah diuapkan. Penetapan kadar air adalah proses pengukuran kandungan air yang ada dalam suatu bahan. Tujuannya adalah untuk menentukan batasan minimal atau kisaran jumlah kadar air dalam bahan tersebut (DepKes RI, 2000). Adanya air dapat memungkinkan mudahnya mikroba berkembang biak sehingga mempengaruhi kesegaran dan umur simpan simplisia tanaman obat (DepKes RI, 1977).

Tabel 3. Hasil Pengujian Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

Parameter	Ulangan	Hasil (%)	Rata-rata (%)
Kadar Air	1	5.80	6.00 ± 0.28
	2	6.20	

Tabel 3. di atas menunjukkan bahwa kadar air serbuk simplisia daun sambung nyawa yang diperoleh sebesar $6.00\% \pm 0.28$ (Lampiran 4). Hasil tersebut membuktikan bahwa hasil yang diperoleh telah memenuhi persyaratan yaitu tidak $> 10\%$ (DepKes RI, 2017). Hasil pada penelitian ini juga tidak berbeda jauh dari penelitian yang telah dilakukan oleh Sari (2019), dengan kadar air yang diperoleh pada serbuk daun sambung nyawa yaitu sebesar 5.99%

4.3.2. Penetapan Kadar Abu Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

Penetapan kadar abu pada serbuk simplisia daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dilakukan untuk mengidentifikasi banyaknya zat anorganik dan mineral yang biasanya ditemukan dalam serbuk simplisia dilakukan dengan menggunakan tanur dengan suhu 600°C . Semakin tinggi kadar abu yang diperoleh dapat menandakan semakin buruk kualitas bahan pangan tersebut. Abu merupakan residu anorganik yang diperoleh dengan pengabuan atau pemanasan pada suhu tinggi $> 450^{\circ}\text{C}$ (Pujiastuti & Kristiani, 2017).

Tabel 4. Hasil Pengujian Kadar Abu Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

Parameter	Ulangan	Hasil (%)	Rata-rata (%)
Kadar Abu	1	6.96	7.08 ± 0.16
	2	7.19	

Tabel 4. di atas menunjukkan nilai kadar abu serbuk simplisia daun sambung nyawa yang diperoleh sebesar $7.08\% \pm 0.16$ (Lampiran 4). Hasil tersebut membuktikan bahwa hasil yang diperoleh telah memenuhi persyaratan dimana persyaratan kadar abu tidak $> 7.2\%$ (DepKes RI, 2017). Hasil pada penelitian ini lebih besar dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Prasetyorini *et al.* (2019), dengan kadar abu yang diperoleh pada serbuk daun sambung nyawa yaitu sebesar 6.33% . Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh lokasi pertumbuhan tanaman yang berbeda, karena kemampuan tanah ditempat lokasi tumbuh yang berbeda menyediakan unsur hara bagi tanaman yang berbeda pula sehingga dapat mempengaruhi komposisi kimia tanaman dan kandungan senyawa (Smith *et al.*, 2023).

4.4 Hasil Uji Kualitatif Tanin Daun Sambung Nyawa

Uji kualitatif atau biasa disebut sebagai pengujian fitokimia merupakan pengujian bertujuan untuk menyelidiki kandungan senyawa aktif pada serbuk dan ekstrak daun sambung nyawa. Penelitian ini menggunakan pereaksi NaCl + Gelatin dan FeCl₃. Ketika sampel direaksikan dengan larutan NaCl + Gelatin akan terbentuk endapan karena tanin merupakan kelompok senyawa polihidroksi fenol yang dapat dibedakan dengan senyawa fenol lainnya karena sifat tanin dapat mengendapkan protein. Penambahan NaCl berguna untuk meningkatkan penggaraman tanin dan gelatin (Datu *et al.*, 2021). Sedangkan ketika sampel direaksikan dengan larutan FeCl₃ akan terbentuk larutan berwarna hijau kebiruan atau biru kehijauan (tanin terkondensasi), sedangkan jika terbentuk larutan berwarna biru kehitaman (tanin terhidrolisis). Perubahan warna pada larutan uji sampel saat ditambahkan larutan FeCl₃ disebabkan oleh gugus hidroksil pada senyawa tanin yang bereaksi dengan ion Fe³⁺ (Qomaliyah *et al.*, 2023).

Tabel 5. Hasil Uji Kualitatif Tanin Daun Sambung Nyawa

Senyawa	Pereaksi	Parameter	Hasil			
			Serbuk simplisia	Ekstrak etanol 50%	Ekstrak etanol 70%	Ekstrak etanol 96%
Tanin	NaCl + Gelatin	Endapan Putih	+	+	+	+
	FeCl ₃	Hijau Kebiruan atau Biru Kehitaman	+	+	+	+

Note: (+) = menunjukkan adanya tanin pada sampel

Tabel 5. menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak daun sambung nyawa positif mengandung senyawa tanin yang ditandai dengan kesesuaian terhadap parameter. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Prasetyorini *et al.* (2019), bahwa daun sambung nyawa mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya tanin.

4.5 Hasil Desain Analisis Optimasi Rendemen Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Optimasi proses ekstraksi daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) dilakukan menggunakan *Response Surface Methodology* dengan tujuan memperoleh respon rendemen ekstrak dan kadar tanin yang optimum menggunakan rancangan *Central Composite Design* (CCD). Menurut Kamboj *et al.* (2022), design ini memiliki keunggulan karena dapat memberikan informasi yang maksimal, meliputi interaksi berbagai parameter dengan jumlah percobaan eksperimen yang minimum. Dengan CCD dihasilkan rancangan percobaan sebanyak 13 perlakuan kombinasi antara konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut.

4.5.1. Hasil Respon Rendemen Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Metode ekstraksi yang dilakukan pada ekstraksi daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) yaitu remaserasi, yang merupakan salah satu metode modifikasi dari maserasi. Metode ekstraksi ini melibatkan penambahan pelarut secara berulang beberapa kali setelah proses penyaringan maserasi pertama (DepKes, 2000). Keunggulan dari metode ekstraksi ini yaitu cara pengerjaan dan peralatan yang sederhana dan mudah untuk diperoleh.

Tabel 6. Hasil Respon Rendemen Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Std	Run	Konsentrasi Etanol (%)	Komposisi Bahan-pelarut (b/v)	Rendemen Ekstrak (%)
12	1	70	20	15.14
13	2	70	20	15.34
3	3	50	30	14.19
4	4	96	30	11.64
8	5	70	30	14.94
5	6	50	20	13.14
9	7	70	20	15.64
11	8	70	20	15.44
6	9	96	20	12.34
1	10	50	10	10.84

Std	Run	Konsentrasi Etanol (%)	Komposisi Bahan-pelarut (b/v)	Rendemen Ekstrak (%)
10	11	70	20	15.29
7	12	70	10	12.34
2	13	96	10	10.29

Tabel 6. di atas menunjukkan pada perlakuan 7 memiliki nilai rendemen ekstrak tertinggi dengan konsentrasi etanol 70% dan komposisi bahan-pelarut 1:20 (b/v) dengan nilai sebesar 15.64% sedangkan pada perlakuan 13 memiliki nilai rendemen ekstrak terendah dengan konsentrasi etanol 96% dan komposisi bahan-pelarut 1:10 (b/v) dengan nilai sebesar 10.29%. Berdasarkan DepKes (2017), rendemen ekstrak kental daun sambung nyawa dengan menggunakan pelarut etanol menghasilkan rendemen tidak < 7.2%.

4.5.2. Analisis Hasil Optimasi Rendemen Ekstrak

Hasil optimasi respon rendemen ekstrak daun sambung nyawa dianalisa dengan menggunakan metode *Response Surface Methodology* dengan rancangan *Central Composite Design* (CCD). Model yang terdapat dalam software *Design Expert 13* yaitu *Linear*, *2FI*, *Quadratic*, dan *Cubic*. Pemilihan model yang tepat dalam analisis respon rendemen ekstrak daun sambung nyawa ditetapkan berdasarkan nilai *Adjusted R²*, *Predicted R²*, dan nilai *Lack of fit* (Tabel 7).

Tabel 7. Nilai *Adjusted R²*, *Predicted R²*, dan nilai *Lack of fit* Rendemen Ekstrak

Source	<i>Adjusted R²</i>	<i>Predicted R²</i>	<i>p-value</i>	
<i>Linear</i>	0.1556	-0.3755	0.0001	
<i>2FI</i>	0.0926	-2.0493	< 0.0001	
<i>Quadratic</i>	0.9686	0.8877	0.0521	<i>Suggested</i>
<i>Cubic</i>	0.9663	-0.3406	0.0205	<i>Aliased</i>

Pada analisis ragam ANOVA (*Analysis of Variance*) dilakukan menggunakan model *Quadratic* untuk melihat tingkat signifikan dan interaksi variabel yang diteliti terhadap respon rendemen ekstrak daun sambung nyawa (Tabel 8).

Tabel 8. Hasil Uji ANOVA (*Analysis of Variance*) Rendemen Ekstrak Daun Sambung Nyawa

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-value</i>	<i>p-value</i>	
Model	43.04	5	8.61	75.02	< 0.0001	<i>significant</i>
A-Konsentrasi Etanol	2.41	1	2.41	20.98	0.0025	
B-Komposisi Bahan-pelarut	8.54	1	8.54	74.44	< 0.0001	
AB	1.02	1	1.02	8.86	0.0206	
A ²	13.52	1	13.52	117.8	< 0.0001	
B ²	5.06	1	5.06	44.09	0.0003	
Residual	0.8032	7	0.1147			
<i>Lack of Fit</i>	0.6652	3	0.2217	6.43	0.0521	<i>not significant</i>
<i>Pure Error</i>	0.138	4	0.0345			
Cor Total	43.84	12				
<i>R-Squared</i>	0.9817		<i>Pred R-Squared</i>	0.8877		
<i>Adj R-Squared</i>	0.9686		<i>Adeq Precision</i>	21.6515		

Berdasarkan pada Tabel 8. di atas, hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa model yang digunakan signifikan. Pengaruh signifikansi suatu faktor dilihat dari *f-value* dan *p-value*. Nilai *f-value* lebih besar dibandingkan dengan nilai *p-value* menunjukkan model memberikan pengaruh nyata terhadap respon. Nilai *p-value* yang diperoleh adalah < 0.0001 atau < 0.01%, yang menunjukkan bahwa peluang persentase kesalahan adalah < 5% atau < 0.05. Sedangkan nilai *Lack of Fit* menghasilkan nilai sebesar 0.0521 (*not significant*), yang menunjukkan bahwa model *quadratic* sudah sesuai dengan data yang ada. Ketika nilai *p-value* > 0.05, model dianggap sesuai. Nilai yang tidak signifikan adalah indikasi yang baik karena menunjukkan kesesuaian antara respon dan model (Keshani *et al.*, 2010). Berdasarkan data tersebut disimpulkan model *quadratic* memiliki pengaruh nyata sehingga dapat digunakan dalam memprediksi optimasi rendemen ekstrak daun sambung nyawa.

Nilai R^2 (koefisien determinasi) pada Tabel 8. di atas diperoleh sebesar 0.9817 yang menyatakan variabel antara konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut memberikan pengaruh sebesar 98.17% terhadap respon rendemen ekstrak

daun sambung nyawa. Sedangkan 1.83% tidak berpengaruh atau dipengaruhi oleh faktor dari luar yang tidak terdapat dalam model. *Adjusted R²* merupakan nilai faktor koreksi dari *R²*. Nilai *adjusted R²* diperoleh sebesar 0.9686 nilai ini menunjukkan hubungan antara variabel yang diteliti terhadap respon yang dihasilkan. Perbedaan nilai *predicted R²* dan *adjusted R²* yang diperoleh sebesar 0.0809, nilai tersebut tidak lebih dari 0.2 sehingga menunjukkan nilai yang diperoleh sudah sesuai. Sehingga nilai tersebut dapat menunjukkan keterkaitan hubungan antara konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut.

Sedangkan nilai *Adeq Precision* menunjukkan perbandingan antara nilai prediksi program dengan kesalahan prediksi yang kemudian diperoleh nilai sebesar 21.6515, dapat dilihat bahwa nilai tersebut dari 4. Sehingga dapat diartikan bahwa model yang disarankan dapat digunakan untuk analisis (Mulyawanti *et al.*, 2016). Hasil analisis ragam ANOVA terhadap respon rendemen ekstrak menghasilkan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Rendemen} = -16.51469 + 0.639710 * \text{Konsentrasi Etanol} + 0.820377 * \text{Komposisi Bahan-pelarut} - 0.002185 * \text{Konsentrasi Etanol} * \text{Komposisi Bahan-pelarut} - 0.004271 * \text{Konsentrasi Etanol}^2 - 0.013534 * \text{Komposisi Bahan-pelarut}^2$$

Persamaan tersebut merupakan persamaan polinomial yang dapat digunakan untuk melihat pengaruh variabel konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut terhadap nilai respon rendemen ekstrak daun sambung nyawa. Dapat disimpulkan bahwa pengaruh yang diberikan faktor konsentrasi etanol terhadap peningkatan respon rendemen ekstrak daun sambung nyawa lebih kecil dibandingkan dengan komposisi bahan-pelarut. Kenaikan atau penurunan nilai respon rendemen dapat dilihat dari koefisien konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut. Koefisien yang bernilai positif (+) akan meningkatkan nilai rendemen ekstrak, sebaliknya nilai koefisien negatif (-) akan menurunkan nilai rendemen ekstrak.

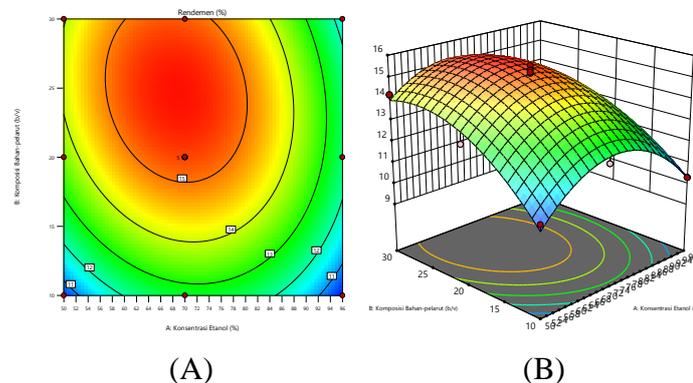
Hasil optimasi menunjukkan terdapat pengaruh antara konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut terhadap rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak tertinggi yang diperoleh sebesar 15.64% pada konsentrasi etanol 70%, sedangkan hasil rendemen ekstrak pada konsentrasi etanol 96% mengalami penurunan.

Kenaikan dan penurunan yang terjadi pada rendemen ekstrak disebabkan oleh perbedaan tingkat polaritas pelarut, sehingga memiliki pelarut memiliki kemampuan berbeda-beda dalam melarutkan bahan dan menarik senyawa aktif. Hal tersebut sejalan dengan hasil penelitian Sari *et al.* (2020), yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi etanol yang lebih tinggi tidak berbanding lurus dengan nilai rendemen ekstrak.

Pada komposisi bahan-pelarut, rendemen ekstrak yang dihasilkan mengalami kenaikan dan juga penurunan pada setiap variasi komposisi. Terlihat pada komposisi bahan pelarut 1:10 (b/v) nilai rendemen yang dihasilkan rendah, kemudian meningkat secara signifikan pada komposisi 1:20 (b/v) dan turun kembali pada komposisi 1:30 (b/v). Hal tersebut menunjukkan bahwa jumlah pelarut yang berlebihan kurang efisien terhadap proses ekstraksi daun sambung nyawa.

Menurut Handayani *et al.* (2017), karena jumlah pelarut yang digunakan semakin besar maka nilai rendemen akan meningkat dikarenakan jumlah pelarut yang tinggi dapat memaksimalkan kontak antar bahan dan pelarut untuk menyerap senyawa yang lebih banyak pada bahan sehingga rendemen menjadi lebih maksimal. Tetapi, setelah melewati titik jenuh larutan, komponen bahan yang terekstrak akan mencapai kejenuhan, yang berarti tidak akan terjadi peningkatan hasil ekstraksi dengan penambahan pelarut tersebut. Hal itu sejalan dengan temuan dalam penelitian yang dilakukan oleh Aulia & Widjanarko (2018).

Gambar 6. merupakan hasil visualisasi dari pengaruh variabel konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut dalam bentuk respon *contour plot* dan *surface plot* terhadap rendemen ekstrak yang ditandai dengan perubahan warna. Semakin biru suatu daerah maka nilai respon yang diperoleh akan semakin rendah dan apabila daerah tersebut semakin merah maka nilai respon yang diperoleh semakin tinggi (Fauzi *et al.*, 2022). Grafik dengan area warna merah menunjukkan nilai rendemen ekstrak tertinggi yang didapatkan pada konsentrasi etanol 70% dan komposisi bahan-pelarut 1:20 (b/v).



Gambar 6. Grafik Respon Rendemen terhadap Konsentrasi Etanol dan Komposisi Bahan-pelarut (A) *Contour plot* dan (B) *Surface plot*

4.6 Hasil Desain Analisis Optimasi Kadar Tanin Ekstrak Daun Sambung Nyawa

4.6.1. Hasil Penetapan Kadar Tanin Daun Sambung Nyawa

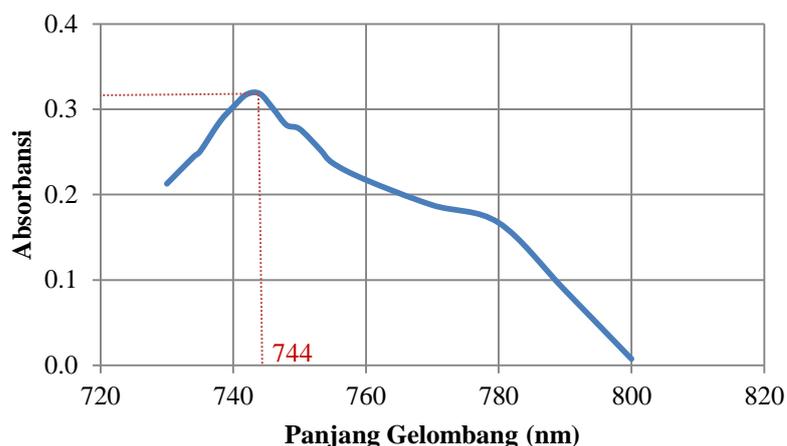
Kadar tanin merupakan jumlah senyawa tanin yang terdapat dalam ekstrak. Pada penelitian ini penetapan kadar tanin dilakukan dengan menggunakan asam tanat sebagai standar dan *Folin Ciocalteu* sebagai pereaksi, metode ini dilakukan pengamatan berdasarkan serapan cahaya dari larutan yang berwarna menggunakan alat Spektrofotometri UV-Vis.

Asam tanat merupakan salah satu golongan tanin terhidrolisis yang biasa digunakan sebagai standar untuk menentukan kadar tanin dan juga merupakan suatu senyawa polifenol alami yang mengandung gugus hidroksi fenolik dan gugus karboksil (Irianty & Yenti, 2014). Sementara itu, pereaksi *Folin Ciocalteu* merupakan reagen pembentuk warna. Pembentukan warna yang terjadi berdasarkan reaksi reduksi oksidasi, dimana tanin sebagai reduktor. Folin ciocalteu sebagai oksidator, tanin yang teroksidasi akan mengubah *fosfomolibdat* dalam folin ciocalteu menjadi *fosfotungstat* yang berwarna biru yang dapat menyerap sinar pada daerah panjang gelombang ultraviolet visibel. Na_2CO_3 bertujuan untuk membuat suasana basa agar terjadi reaksi reduksi folin oleh gugus hidroksil dari polifenol di dalam sampel dan akan membentuk kompleks *molybdenum-tungsten* berwarna biru (Noviyanty *et al.*, 2020).

4.6.1.1. Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Tanat

Penentuan panjang gelombang maksimum ini dilakukan dengan standar asam tanat. Pengukuran ini dilakukan agar meminimalisir kesalahan saat pembacaan serapan karena jika sampel yang diukur tidak pada gelombang maksimumnya akan mengakibatkan hasil yang didapat kurang maksimum pula (Fajrina *et al.*, 2016). Penentuan panjang gelombang asam tanat dilakukan dengan konsentrasi 4 ppm pada rentang panjang gelombang 700 - 800 nm (Nofita & Dewangga, 2021). Sehingga didapatkan panjang gelombang maksimumnya yaitu 744 nm dengan nilai absorbansi 0.3183, panjang gelombang maksimum ini mengartikan bahwa pada panjang gelombang 744 dapat menghasilkan absorbansi maksimum pada spektrofotometri UV-Vis (Gambar 7).

Hasil yang diperoleh tersebut tidak berbeda jauh dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Fajrianti (2020) yang melakukan penetapan kadar tanin pada biji kopi robusta malang dengan menggunakan asam tanat dan folin denis dengan panjang gelombang maksimum yaitu 745.5 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh, kemudian digunakan untuk mengukur serapan pada kurva baku asam tanat. Data lengkap terkait panjang gelombang maksimum terdapat pada Lampiran 5.



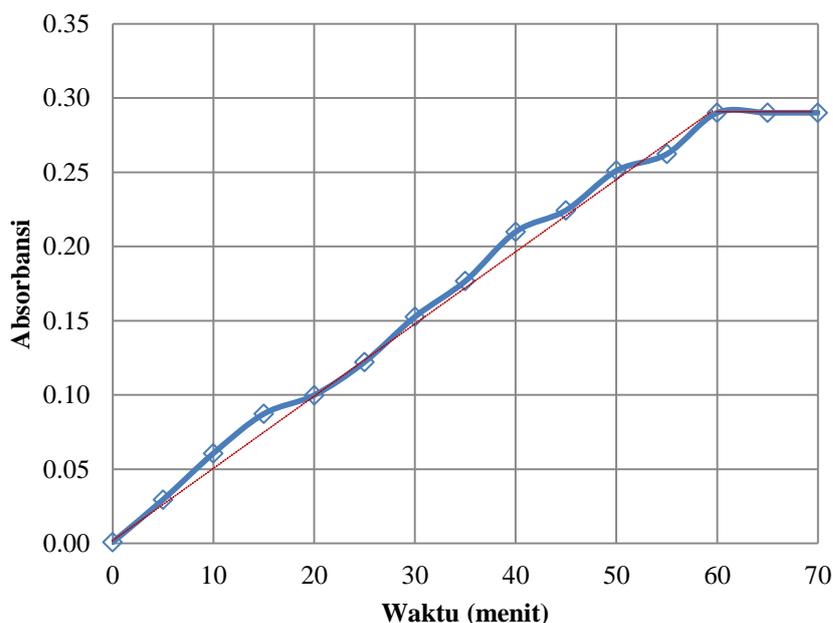
Gambar 7. Grafik Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam Tanat

4.6.1.2. Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Asam Tanat

Penentuan waktu inkubasi dilakukan untuk menentukan waktu yang dibutuhkan senyawa untuk bereaksi dengan maksimal sehingga dapat memberikan

intensitas warna yang maksimal dan nilai serapan yang relatif stabil yang ditandai dengan semakin kecil selisihnya atau bahkan hasilnya sama maka akan semakin optimal dan stabil.

Penentuan waktu inkubasi pada penelitian ini dilakukan setiap interval 5 menit, dimulai dari menit ke-5 hingga menit ke-70, dan diperoleh waktu inkubasi optimum pada menit ke-60 seperti yang terlihat pada Gambar 8. Hal ini menunjukkan bahwa pada jangka waktu tersebut asam tanat dan pereaksi folin telah bereaksi secara optimal yang ditandai dengan serapan yang konstan. Hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan penelitian Nofita & Dewangga (2021), yang memperoleh waktu inkubasi optimum pada menit ke-65. Perbedaan dapat disebabkan karena asam tanat yang digunakan berbeda serta kestabilan nilai serapan suatu senyawa, yang juga mempengaruhi kestabilan warna yang dihasilkan.



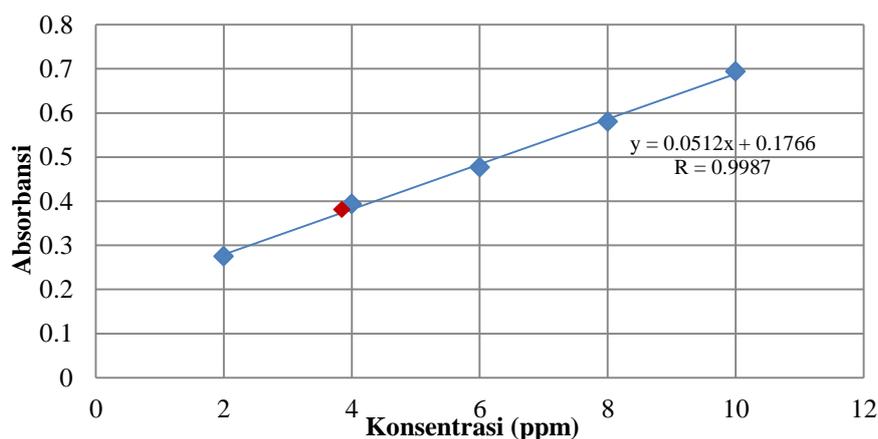
Gambar 8. Grafik Hasil Penentuan Waktu Inkubasi Optimum Asam Tanat terhadap Absorbansi pada Panjang Gelombang 744 nm

4.6.1.3. Hasil Deret Larutan Standar Asam Tanat

Data dari panjang gelombang maksimum dan waktu inkubasi optimum yang diperoleh, kemudian digunakan untuk membuat deret konsentrasi standar pada 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Tujuan pembuatan kurva baku adalah untuk

mengidentifikasi hubungan antara konsentrasi asam tanat dengan serapannya melalui persamaan regresi linier yang dihasilkan sehingga dapat membantu untuk menentukan kadar tanin dalam suatu sampel serta memastikan keakuratan data yang diperoleh (Fajrina *et al.*, 2016).

Hasil dari penentuan deret standar asam tanat menunjukkan persamaan regresi linier $y = 0.0512x + 0.1766$ dengan nilai koefisien determinasi (r) sebesar 0.9987, hasil ini sudah mendekati nilai satu yang artinya bahwa persamaan regresi tersebut linear (Gambar 9). Data lengkap terkait deret standar asam tanat terdapat pada Lampiran 5.



Gambar 9. Grafik Deret Asam Tanat dengan Variasi Konsentrasi terhadap Absorbansi pada Panjang Gelombang 744 nm

4.6.2. Hasil Respon Kadar Tanin Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Penetapan kadar tanin ekstrak daun sambung nyawa dilakukan dengan metode ekstraksi remaserasi dengan perbedaan konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut.

Tabel 9. Hasil Respon Kadar Tanin Daun Sambung Nyawa

Std	Run	Konsentrasi Etanol (%)	Komposisi Bahan-pelarut (b/v)	Kadar Tanin (%)
12	1	70	20	5.0269
13	2	70	20	5.2524
3	3	50	30	3.1231
4	4	96	30	3.6737
8	5	70	30	4.6011
5	6	50	20	3.1473
9	7	70	20	5.2868
11	8	70	20	5.2734
6	9	96	20	3.8878
1	10	50	10	2.7530
10	11	70	20	5.1439
7	12	70	10	4.2029
2	13	96	10	3.2831

Hasil Tabel 9. di atas merupakan optimasi dari perbedaan konsentrasi etanol (50%, 70%, 96%) dan komposisi bahan-pelarut (10, 20, 30 (b/v)) dimana konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut berpengaruh pada proses ekstraksi. Pada Tabel 9. hasil kadar tanin ekstrak kental daun sambung nyawa pada perlakuan 7 memperoleh nilai kadar tanin tertinggi dengan konsentrasi etanol 70% dan komposisi bahan-pelarut 1:20 (b/v) dengan nilai sebesar 5.2868%, sedangkan nilai kadar tanin ekstrak terendah diperoleh pada perlakuan 10 dengan konsentrasi etanol 50% dan komposisi bahan-pelarut 1:10 (b/v) dengan nilai sebesar 2.7530%. Hasil yang diperoleh lebih kecil dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Salma (2020), yang memperoleh kadar tanin sebesar 7.08% b/b. Perbedaan tersebut dapat terjadi disebabkan perbedaan jumlah serbuk simplisia yang digunakan saat melakukan proses ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, dan perbedaan proses pengentalan ekstrak.

4.6.3. Analisis Hasil Optimasi Kadar Tanin

Optimasi respon kadar tanin pada ekstrak daun sambung nyawa ditetapkan berdasarkan hasil Pemilihan model yang tepat dalam analisis respon rendemen ekstrak daun sambung nyawa ditetapkan berdasarkan nilai *Adjusted R²*, *Predicted R²*, dan nilai *Lack of fit* (Tabel 10).

Tabel 10. Nilai *Adjusted R²*, *Predicted R²*, dan nilai *Lack of fit* Kadar Tanin

<i>Source</i>	<i>Adjusted R²</i>	<i>Predicted R²</i>	<i>p-value</i>	
<i>Linear</i>	-0.1518	-0.82	0.0001	
<i>2FI</i>	-0.2798	-3.0339	< 0.0001	
<i>Quadratic</i>	0.9642	0.8857	0.0815	<i>Suggested</i>
<i>Cubic</i>	0.9512	-0.9452	0.0202	<i>Aliased</i>

Analisis ragam ANOVA (*Analysis of Variance*) dilakukan menggunakan model *Quadratic* untuk melihat tingkat signifikan dan interaksi variabel yang diteliti terhadap respon kadar tanin ekstrak daun sambung nyawa (Tabel 11).

Tabel 11. Hasil Uji ANOVA (*Analysis of Variance*) Kadar Tanin Ekstrak Daun Sambung Nyawa

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-value</i>	<i>p-value</i>	
Model	10.53	5	2.11	65.61	< 0.0001	<i>significant</i>
A-Konsentrasi Etanol	0.5528	1	0.5528	17.22	0.0043	
B-Komposisi Bahan-pelarut	0.2237	1	0.2237	6.97	0.0334	
AB	0.0001	1	0.0001	0.0028	0.9594	
A ²	6.04	1	6.04	188.15	< 0.0001	
B ²	0.8673	1	0.8673	27.02	0.0013	
Residual	0.2247	7	0.0321			
<i>Lack of Fit</i>	0.1759	3	0.0586	4.81	0.0815	<i>not significant</i>
<i>Pure Error</i>	0.0487	4	0.0122			
Cor Total	10.75	12				
<i>R-Squared</i>	0.9791		<i>Pred R-Squared</i>	0.8857		
<i>Adj R-Squared</i>	0.9642		<i>Adeq Precision</i>	20.5194		

Berdasarkan pada Tabel 11. di atas, hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa model yang digunakan signifikan. Pengaruh signifikansi suatu faktor dilihat dari *f-value* dan *p-value*. Nilai *f-value* lebih besar dibandingkan dengan nilai *p-value* menunjukkan model memberikan pengaruh nyata terhadap respon. Nilai *p-value* yang diperoleh adalah < 0.0001 atau $< 0.01\%$, yang menunjukkan bahwa peluang persentase kesalahan adalah $< 5\%$ atau < 0.05 . Sedangkan nilai *Lack of Fit* menghasilkan nilai sebesar 0.0815 (*not significant*), yang menunjukkan bahwa model *quadratic* sudah sesuai dengan data yang ada. Ketika nilai *p-value* > 0.05 , model dianggap sesuai. Nilai yang tidak signifikan adalah indikasi yang baik karena menunjukkan kesesuaian antara respon dan model. Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan model *quadratic* memiliki pengaruh yang *significant*, sehingga dapat digunakan untuk memprediksi optimasi kadar tanin dalam ekstrak daun sambung nyawa.

Nilai R^2 (koefisien determinasi) pada Tabel 11. diperoleh hasil sebesar 0.9791 yang menyatakan variabel antara konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut memberikan pengaruh sebesar 97.91% terhadap respon kadar tanin ekstrak daun sambung nyawa. Sedangkan 2.09% tidak berpengaruh atau dipengaruhi oleh faktor dari luar yang tidak terdapat dalam model. Nilai *adjusted* R^2 diperoleh sebesar 0.9642, nilai ini menunjukkan hubungan antara variabel yang diteliti terhadap respon yang dihasilkan. Perbedaan nilai *predicted* R^2 dan *adjusted* R^2 yang diperoleh sebesar 0.0785, nilai tersebut tidak lebih dari 0.2 sehingga menunjukkan nilai yang diperoleh sudah sesuai.

Sedangkan nilai *Adeq Precision* menunjukkan perbandingan antara nilai prediksi program dengan kesalahan prediksi yang kemudian diperoleh nilai sebesar 20.5194, dapat dilihat bahwa nilai tersebut dari lebih besar dari 4 sehingga dapat digunakan untuk analisis (Mulyawanti *et al.*, 2016). Hasil analisis ragam ANOVA terhadap respon kadar tanin menghasilkan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Kadar Tanin} = -13.57903 + 0.429565 * \text{Konsentrasi Etanol} + 0.241989 * \text{Komposisi Bahan-pelarut} + 0.000020 * \text{Konsentrasi Etanol} * \text{Komposisi Bahan-pelarut} - 0.002855 * \text{Konsentrasi Etanol}^2 - 0.005604 * \text{Komposisi Bahan-pelarut}^2$$

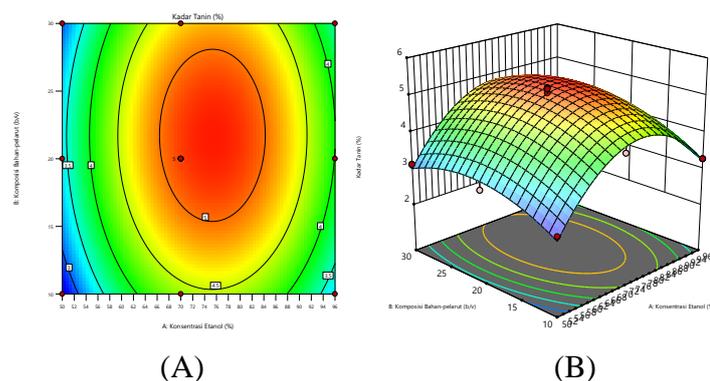
Berdasarkan persamaan polinomial tersebut disimpulkan bahwa pengaruh yang diberikan faktor konsentrasi etanol terhadap peningkatan respon kadar tanin ekstrak daun sambung nyawa lebih besar dibandingkan dengan komposisi bahan-pelarut. Kenaikan atau penurunan nilai respon kadar tanin dapat dilihat dari koefisien konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut. Koefisien yang bernilai positif (+) akan meningkatkan nilai kadar tanin ekstrak, sebaliknya akan menurun jika nilai koefisien negatif (-).

Hasil optimasi menunjukkan terdapat pengaruh antara konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut terhadap kadar tanin. Kadar tanin tertinggi yang diperoleh sebesar 5.2868% pada konsentrasi etanol 70%, setelah mengalami peningkatan konsentrasi etanol kadar tanin mengalami penurunan kembali. Penurunan tersebut terjadi karena kesesuaian polaritas pelarut dapat berpengaruh terhadap kemampuan pelarut dalam mengekstrak senyawa tanin. Yuswi (2017) melaporkan bahwa kesamaan tingkat kepolaran antara suatu zat dan pelarutnya akan meningkatkan proses ekstraksi senyawa yang ada didalamnya. Hal ini diperkuat dengan penelitian Afrizal *et al.* (2019), bahwa kandungan tanin akan meningkat ketika diekstraksi menggunakan pelarut yang mempunyai polaritas yang sama.

Pada komposisi bahan-pelarut, kadar tanin yang dihasilkan peningkatan dan penurunan pada setiap variasi komposisi. Kadar tanin tertinggi diperoleh pada komposisi bahan-pelarut 1:20 (b/v), diduga pada komposisi tersebut telah mencapai titik optimum. Saat mencapai titik optimum, pelarut memiliki polaritas yang sama dengan senyawa yang diekstrak hingga mencapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa di dalam pelarut dengan senyawa yang terdapat di dalam bahan sehingga didapatkan kadar tanin tertinggi. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Lestari *et al.* (2014), yang menyatakan bahwa terjadinya penurunan kadar tanin disebabkan karena menurunnya kesesuaian polaritas.

Gambar 7. merupakan hasil visualisasi dari pengaruh variabel konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut dalam bentuk respon *contour plot* dan *surface plot* terhadap kadar tanin ekstrak yang ditandai dengan perubahan warna. Semakin

biru suatu daerah maka nilai respon yang diperoleh akan semakin rendah dan apabila daerah tersebut semakin merah maka nilai respon yang diperoleh semakin tinggi (Fauzi *et al.*, 2022). Titik optimum tercapai ketika pelarut dan senyawa tanin yang diekstraksi memiliki polaritas yang sama sehingga menghasilkan kadar tanin yang semakin tinggi hingga mencapai titik optimum. Titik optimum merupakan titik tertinggi yang berupa perubahan dari grafik naik menjadi turun.



Gambar 7. Grafik Respon Kadar Tanin terhadap Konsentrasi Etanol dan Komposisi Bahan-pelarut (A) *Contour plot* dan (B) *Surface plot*

4.7 Prediksi Titik Optimum Terhadap Respon Rendemen dan Kadar Tanin

Setelah dilakukan analisis terhadap respon dari faktor konsentrasi etanol dan komposisi bahan-pelarut sehingga mendapatkan hasil rendemen dan kadar tanin tertinggi, kemudian dilakukan penentuan solusi kondisi optimum dari proses ekstraksi dengan menggunakan *software Design Expert 13* untuk menghasilkan respon rendemen ekstrak dan kadar tanin yang sesuai dengan kriteria yang diinginkan (Tabel 12).

Tabel 12. Solusi Titik Optimum Terpilih

Parameter	Standar Prediksi
Konsentrasi Etanol (%)	70
Komposisi Bahan-pelarut (b/v)	20
Rendemen Ekstrak (%)	15.2724
Kadar Tanin (%)	5.12973
Desirability	1.000

Target kriteria faktor yang dipilih dalam penentuan solusi titik optimum didasarkan pada hasil analisis rendemen ekstrak dan kadar tanin yang dilakukan dengan RSM, yang menunjukkan bahwa respon rendemen ekstrak dan kadar tanin optimum diperoleh pada perlakuan dengan menggunakan konsentrasi etanol 70% dan komposisi bahan-pelarut 1:20 (b/v) dengan *desirability* sebesar 1.000, memiliki nilai rendemen ekstrak sebesar 15.2724% dan nilai kadar tanin sebesar 5.12973%. Solusi titik optimum yang dihasilkan memiliki nilai *desirability* sebesar 1 yang menunjukkan bahwa akurasi (ketepatan hasil) solusi yang diperoleh dari kriteria nilai *desirability* sudah optimal karena nilai *desirability* yang semakin mendekati 1 menunjukkan nilai ketepatan prediksi optimasi semakin tinggi dan akurat (Rusli *et al.*, 2023).

4.8 Hasil Verifikasi Titik Optimum

Hasil optimasi yang diperoleh dilakukan verifikasi sebanyak 3 kali pengulangan. Uji verifikasi merupakan pembuktian solusi yang disarankan RSM sehingga dapat melihat kebenaran dari data yang diperoleh (Yuliwati *et al.*, 2022).

Tabel 13. Verifikasi Rendemen Ekstrak dan Kadar Tanin

Respon	95% PI low for Mean	95% PI high for Mean	Predicted Mean	Hasil Verifikasi	Selisih (%)	Akurasi (%)
Rendemen Ekstrak (%)	14.7028	15.842	15.2724	15.3	0.0276	100.1807
Kadar Tanin (%)	4.82847	5.431	5.12973	5.1981	0.0684	101.3324

Tabel 13. menunjukkan nilai rendemen ekstrak dan kadar tanin berturut-turut sebesar 15.3% dan 5.1981% dengan tingkat akurasi masing-masing sebesar 100.1807% dan 101.3324%. Nilai akurasi yang diperoleh menunjukkan kedekatan antara prediksi dengan hasil verifikasi yang dilakukan, nilai yang diperoleh sudah cukup tinggi artinya model untuk memprediksi rendemen ekstrak dan kadar tanin memiliki tingkat akurasi yang baik ($< 2\%$). Selisih nilai rendemen ekstrak dan kadar tanin prediksi dengan hasil verifikasi yang diperoleh masing-masing kurang dari 5% yaitu 0.0276% dan 0.0684% artinya solusi serta model yang disarankan RSM sudah sesuai dan dapat diterima.

Hasil verifikasi yang diperoleh juga berada pada rentang *95% PI low for Mean dan 95% PI high for Mean* sehingga solusi yang disarankan tetap bisa diterima dengan selang kepercayaan 95% dan dapat diaplikasikan untuk memperoleh hasil rendemen ekstrak dan kadar tanin yang optimal (Prabudi *et al.*, 2018).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kondisi ekstraksi optimum yang diperoleh daun sambung nyawa (*Gynura procumbens*) terdapat pada konsentrasi etanol 70% dan komposisi bahan-pelarut 1:20 (b/v) dengan nilai rentang PI rendemen ekstrak sebesar 14.7028% hingga 15.842% dan kadar tanin sebesar 4.82847% hingga 5.431%.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, untuk ke depannya dapat melakukan ekstraksi daun sambung nyawa dengan menggunakan konsentrasi etanol 70% dan komposisi bahan-pelarut 1:20 (b/v). Hasil ini diperoleh dengan menggunakan metode pengeringan yaitu *rotary evaporator*. Kelemahan yang dihadapi pada penggunaan metode ini adalah sedikitnya jumlah filtrat yang dihasilkan, sehingga membuat ekstrak yang dihasilkan mudah menempel pada labu *rotary*. Direkomendasikan penggunaan metode pengeringan ekstrak *freeze drying* untuk mempermudah proses pengeringan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afrizal, M., Gunawan, V. S., Fitriyani, M. N., Atmaja, J. A. J. and Niawanti, H. 2019. Pengaruh perbandingan rasio pelarut etanol air terhadap kadar tannin (*Averrhoa bilimbi*) dengan metode ekstraksi maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi V*. 2(1). pp. 136–141.
- Agustira, A., Darwis, I., Graharti, R. and Angraini, D. I. 2019. Tanaman sambung nyawa (*Gynura procumbens*) sebagai antihiperqlikemi. *Medula*. 9(2). pp. 240–244.
- Aini, N. 2016. *Penentuan Kadar Alkaloid pada Ekstrak Daun Tanaman menggunakan Metode NIR dan Kemometrik*. [Skripsi]. Jember : Universitas Jember.
- Amelia, F. R. 2015. Penentuan jenis tanin dan penetapan kadar tanin dari buah bungur muda (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) secara spektrofotometri dan permanganometri. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 4(2). pp. 1–20.
- Andini, S., Kumala, S., Setyahadi, S., Stiani, S. N. and Yusransyah. 2023. Optimasi rasio volume pelarut dan waktu ekstraksi terhadap rendemen ekstrak batang kecombrang (*Etilingera eltiior*) serta profil metabolit sekunder menggunakan LC-MS/MS. *Medical Sains : Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 8(1). pp. 299-307.
- Andres, A. I., Petron, M. J., Lopez, A. M. and Timon, M. L. 2020. Optimization of extraction conditions to improve phenolic content and in vitro antioxidant activity in craft brewers' spent grain using *Response Surface Methodology* (RSM). *Foods*. 9(10). pp. 1–13.
- Ansari, M. Z., Sofi, G., Hamiduddin, Alhmad, H., Basri, R. and Alam, A. 2021. Optimization of the whole extract of Zarawand Mudaharaj (*Aristolochia rotunda* L .) root by *Response Surface Methodology* (RSM). *CellMed*. 11(3). pp. 1–9.
- Arifah, F. N., Fitria, F. & Putri, D. E. 2023. Analisis kadar tanin pada ekstrak etanol daging buah maja (*Aegle marmelos* (L.) Corr)) asal mlati mojo kediri. *Jurnal Pharma Bhakta*. 3(2). pp. 66–73.
- Asma, A., Agustiawan, D., Salsabila, P., Setianingsih, S., Septiana, Rahayu, S., Prayoga, T., Debora, V. R. and Pratiwi, E. 2021. *Uji Kualitatif Fitokimia*. Pontianak.
- Aulia, L. P. & Widjanarko, S. B. 2018. Optimasi proses ekstraksi daun sirsak (*Annona muricata* L) metode MAE (*Microwave Assisted Extraction*) dengan respon aktivitas antioksidan dan total fenol. *Jurnal Agroindustri*

Halal. 4(1). pp. 79–87.

- Browning, B. L. 1966. *Methods of Wood Chemistry*. Vol I, II. New York: Interscience Publishers.
- Das, A. K., Islam, M. N., Faruk, M. O., Ashaduzzaman, M. and Dungani, R. 2020. Review on tannins: extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*. Elsevier B.V., 135(October). pp. 58–70.
- Datu, F. N. S., Hasri. & Pratiwi, D. E. 2021. Identifikasi dan uji kestabilan tanin dari daging biji pangi (*Pangium edule* Reinw.) sebagai bahan pewarna alami. *Jurnal Chemica*. 22(1). pp. 29-34.
- Departemen Kesehatan RI [DepKes RI]. 1977. *Materia Medika Indonesia Jilid I*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan RI [DepKes RI]. 2000. *Parameter Standarisasi Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI [DepKes RI]. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI [DepKes RI]. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi V*. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI [DepKes RI]. 2020. *Farmakope Indonesia Edisi VI*. Jakarta.
- Dewatisari, W. F. 2020. Perbandingan pelarut kloroform dan etanol terhadap rendemen ekstrak lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain.) menggunakan metode maserasi. In: *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi COVID-19*. Makassar: Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. pp. 127–132.
- Fadli, M. Y. 2015. Benefits of sambung nyawa (*Gynura procumbens*) substance as anticancer. *J Majority*. 4(5). pp. 50–53.
- Faizah, A. N., Kundarto, W. & Sasongko, H. 2021. Uji aktivitas antipiretik kombinasi ekstrak etanol herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dan daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* L.) pada mencit yang diinduksi ragi. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. 6(3). pp. 275–286.
- Fajrianti, A. 2020. *Penetapan Kadar Tanin dan Potensi Sebagai Antikanker Payudara Sel MCF-7 dari Biji Kopi Robusta Malang (Coffee canephora Pierre.)*. [Skripsi]. Bogor: Universitas Pakuan.
- Fajrina, A., Jubahar, J. & Sabirin, S. 2016. Penetapan kadar tanin pada teh celup

- yang beredar dipasaran secara spektrofotometri uv-vis. *Jurnal Farmasi Higea*. 8(2). pp. 133–142.
- Farida, R. & Nisa, F. C. 2015. Ekstraksi antosianin limbah kulit manggis metode *Microwave Assisted Extraction* (lama ekstraksi dan rasio bahan : pelarut). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(2). pp. 362–373.
- Fauzi, R. A., Widyasanti, A., Perwitasari, S. D. N. and Nurhasanah, S. 2022. Optimasi proses pengeringan terhadap aktivitas antioksidan bunga telang (*Clitoria ternatea*) menggunakan metode respon permukaan. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 23(1). pp. 9–22.
- Felhi, S., A. Daoud, H. Hajlaoui, K. Mnafigui, N. Gharsallah, and A. Kadri. 2017. Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Ecballium elaterium* seeds and peels fruits. *Food Science and Technology Campinas*. Vol: 37(3): 483-492.
- Firyanto, R. & Mulyaningsih, M. F. S. 2020. Ekstraksi kopi robusta menggunakan pelarut heksana dan etanol. *Jurusan Teknik Kimia*. pp. 14–15.
- Gulo, A. & Silitonga, P. M. 2021. The effect of sambung nyawa leaf extract (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) on hemoglobin of rats induced by *Escherichia coli* bacteria. *Indonesian Journal of Chemical Science and Technology*. 4(2). pp. 88–95.
- Habibi, Y. 2020. Validasi metoda destruksi basah dan destruksi kering pada penentuan logam timbal (Pb) dan kadmium (Cd) dalam tanaman rumput. *Integrated Lab Journal*. 1(1). pp. 25-31.
- Hachani, S., Boukhalkhal, S., Ahmed, Z. B., Harrat, M., Silva, A. M. S. and Yousfi, M. 2020. Exploiting *Response Surface Methodology* (RSM) as a novel approach for the optimization of phenolic and antioxidant activity of date palm fruit. *Chemistry & Chemical Technology*. 14(4). pp. 572–582.
- Haloui, T., Farah, A., Lebrazi, S., Fadil, M. and Alaoui, A. B. 2018. Application of response surface methodology for the optimization of hydro-distillation extraction of *Pistacia lentiscus* L. essential oil. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 8(1). pp. 050–054.
- Hana, C. M., Sunyoro & Rohmat, N. 2018. Penetapan kadar tanin dari kulit buah pisang raja masak (*Musa paradisiaca* L.) secara spektrofotometri uv-vis. *MOTORIK*. 13(26). pp. 28–39.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hal: 85-56.
- Handayani, S., Wirasutisna, K. R. & Insanu, M. 2017. Penapisan fitokimia dan karakterisasi simplisia daun jambu mawar. 5(3). p. 10.

- Hanum, G. R. 2019. *Kimia Amami (Analisa Makanan Minuman)*. Edited by S. Budi Sartika M.Pd and M. T. Multazam S.H., M.Kn. UMSIDA Press.
- Hasanah, N. 2015. Aktivitas antioksidan etanol daun salam. *Jurnal Pena Medika*. 5(1). pp. 55–59.
- Hayati, E. K., Fasyah, A. G. & Sa'adah, L. 2010. Fraksinasi dan identifikasi senyawa tanin pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Jurnal Kimia*. 4(2). pp. 193–200.
- Hidayah, N. 2016. Pemanfaatan senyawa metabolit sekunder tanaman (tanin dan saponin) dalam mengurangi emisi metan ternak ruminansia. *Jurnal Sain Peternakan Indonesia*. 11(2). pp. 89–98.
- Hidayat, I. R., Zuhrotun, A. & Sopyan, I. 2020. Design-Expert Software sebagai alat optimasi formulasi sediaan farmasi. *Majalah Farmasetika*. 6(1). pp. 99–120.
- Irianty, R. S. & Yenti, S. R. 2014. Pengaruh perbandingan pelarut etanol-air terhadap kadar tanin pada sokletasi daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb). *Sagu*. 13(1). pp. 1–7.
- Kamboj, A. Chopra, R. Singh, R. Saxena, V. and Kumar GV, P. 2022. Effect of pulsed electric field parameters on the alkaline extraction of valuable compounds from perilla seed meal and optimization by central composite design approach. *Applied Food Research*. 2(2). pp. 1-10.
- Keshani, S., Luqman, C. A., Nourouzi, M. M., Russly, A. R. and Jamilah, B. 2010. Optimization of concentration process on pomelo fruit juice using *response surface methodology* (RSM). *International Food Research Journal*. 17(3). pp. 733–742.
- Kristiandi, K., Rozana, Junardi and Maryam, A. 2021. Analisis Kadar Air, Abu, Serat dan Lemak Pada Minuman Sirop Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. microcarpa). *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*. 9(2). pp. 165–171.
- Kumoro. 2015. *Teknologi ekstraksi senyawa bahan aktif dari tanaman obat*. Yogyakarta : Penerbit Plantaxi.
- Maryani, H. 2003. *Khasiat dan Manfaat Daun Dewa dan Sambung Nyawa*. Jakarta : AgroMedia Pustaka.
- Maryati, Y., Susilowati, A., Aspiyanto, Mulyani, H., Artanti, N. and Budiari, S. 2019. Evaluation of antioxidant activity of formulated functional drinks derived from katuk (*Sauropus androgynous*) leaf extracts: optimization using *Response Surface Methodology* (RSM). *AIP Conference Proceedings*. pp. 1-11.

- Mukhtarini. 2014. Ekstraksi, pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. VII(2). pp. 361–367.
- Mulyawanti, I., Budijanto, S. & Yasni, S. 2016. Optimasi formula dan struktur mikroskopik pasta bebas gluten berbahan dasar Puree ubi jalar ungu dan tepung kacang hijau. *Jurnal Agritech*. 36(1). pp. 15–22.
- Ningsih, G., Utami, S. R. & Nugrahani, R. A. 2015. Pengaruh lamanya waktu ekstraksi remaserasi kulit buah durian terhadap rendemen saponin dan aplikasinya sebagai zat aktif anti jamur. *KONVERSI*. pp. 8–16.
- Nofita, D. & Dewangga, R. 2021. Optimasi perbandingan pelarut etanol air terhadap kadar tanin pada daun matoa (*Pometia pinnata* J.R & G. Forst) secara spektrofotometri. *Chimica et Natura Acta*. 9(3). pp. 102–106.
- Noviyanty, Y., Hepiyansori & Agustian, Y. 2020. Identifikasi dan penetapan kadar senyawa tanin pada ekstrak daun biduri (*Calotropis gigantea*) metode spektrofotometri uv-vis. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 6(1). pp. 57–64.
- Permatasari, D., Purwati, A. I., Bahua, H. and Supriyono, A. 2023. Optimization of extraction condition of *Gynura procumbens* extract enriched with flavonoid and antioxidant compounds using *Response Surface Methodology*. *Journal of the Turkish Chemical Society Section A: Chemistry*. 10(2). pp. 425–434.
- Prabudi, M., Nurtama, B. & Purnomo, E. H. 2018. Aplikasi *Response Surface Methodology* (RSM) dengan historical data pada optimasi proses produksi burger. *Jurnal Mutu Pangan*. 5(2). pp. 109–115.
- Prasetyorini, Rahmadini, A. & Utami, F. N. 2019. Uji antibakteri ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) Merr.) dan daun tapak liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap *Salmonella thypi*. *Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar dan Lingkungan Hidup*. 19(1). pp. 1–11.
- Pratama, M., Razak, R. & Rosalina, V. S. 2019. Analisis kadar tanin total ekstrak etanol bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) menggunakan metode spektrofotometri uv-vis. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 6(2). pp. 368–373.
- Pujiastuti, A. & Kristiani, M. 2017. Hard candy sari buah tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) sebagai antioksidan alami. *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika*. pp. 9–19.
- Putra, A. R. P. 2012. *Optimasi produksi lipase dengan variasi konsentrasi substrat dan suhu melalui fermentasi rendam Rhodotorula Mucilaginosa (YUICC422) menggunakan respon surface methodology*. [Skripsi]. Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Universitas Indonesia.

- Putri, A. A., Mulkiya, K. & Sadiyah, E. R. 2015. Pengaruh perbedaan pelarut ekstraksi terhadap kadar senyawa yang berpotensi memiliki aktivitas analgetik dari daun dan buah karamunting (*Rhodomyrtus toemosa* (Aiton) Hassk.). *Prosiding Farmasi*. pp. 150–156.
- Qomaliyah, E. N., Indriani, N., Rohma, A. and Islamiyati, R. 2023. Skrining fitokimia, kadar total flavonoid dan antioksidan daun cocor bebek. *Curr. Biochem.* 10(1). pp. 1-10.
- Rahmi, S. 2019. Pemanfaatan ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.) sebagai antipiretik pada tikus putih jantan. pp. 1797–1803.
- Riadini, R. K., Sidharta, B. B. R. & Pranata, F. S. 2015. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* (Lour.)Merr.) berdasarkan perbedaan metode ekstraksi dan umur panen. *Ind J Pharm.* 1. pp. 1–16.
- Rifai, G., Widarta, I. W. R. & Nocianitri, K. A. 2018. Pengaruh jenis pelarut dan rasio bahan dengan pelarut terhadap kandungan senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak biji alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*. 7(2). pp. 22-32.
- Rohmah, L. S. 2020. *Uji Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi Etanol, Etil Asetat, Dan N-Heksana Dari Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa Gynura procumbens (Blume) Miq. Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil)*. Yayasan Al Fathah.
- Rusli, Z., Yulianita & Amalia, N. P. 2023. Optimasi *Ultrasound Assisted Extraction* senyawa flavonoid dari daun meniran menggunakan *Natural Deep Eutectic Solvent*. *FITOFARMAKA : Jurnal Ilmiah Farmasi*.13(2). pp. 122–130.
- Sajaratud, D. 2013. *Pembuatan Tanin Dari Buah Pinang*. [Skripsi]. Fakultas Ilmu Tarbiyah Dan Keguruan Institut Agama Islam Negeri. Sumatera Utara.
- Salma, A. 2020. *Perbandingan Kadar Tanin pada Daun Gynura Procumbens dari Teknik Ekstraksi Maserasi dan Perkolasi*. [Skripsi]. Universitas Negeri Sebelas Maret.
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I. and Makang, V. M. A. 2008. *Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara*. *Chemistry Progress*. 1(1). pp. 47-53.
- Sari, B. L., Triastinurmiatiningsih, T. & Haryani, T. S. 2020. Optimasi metode *Microwave-Assisted Extraction* (MAE) untuk menentukan kadar flavonoid total alga coklat *Padina australis*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 16(1). pp. 38–49.
- Sari, V. N. 2019. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sambung Nyawa*

(*Gynura procumbens* (Lour) Merr) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah dan Histopatologi Pankreas Pada Tikus yang Diinduksi Aloksan. [Skripsi thesis]. Universitas Setia Budi Surakarta.

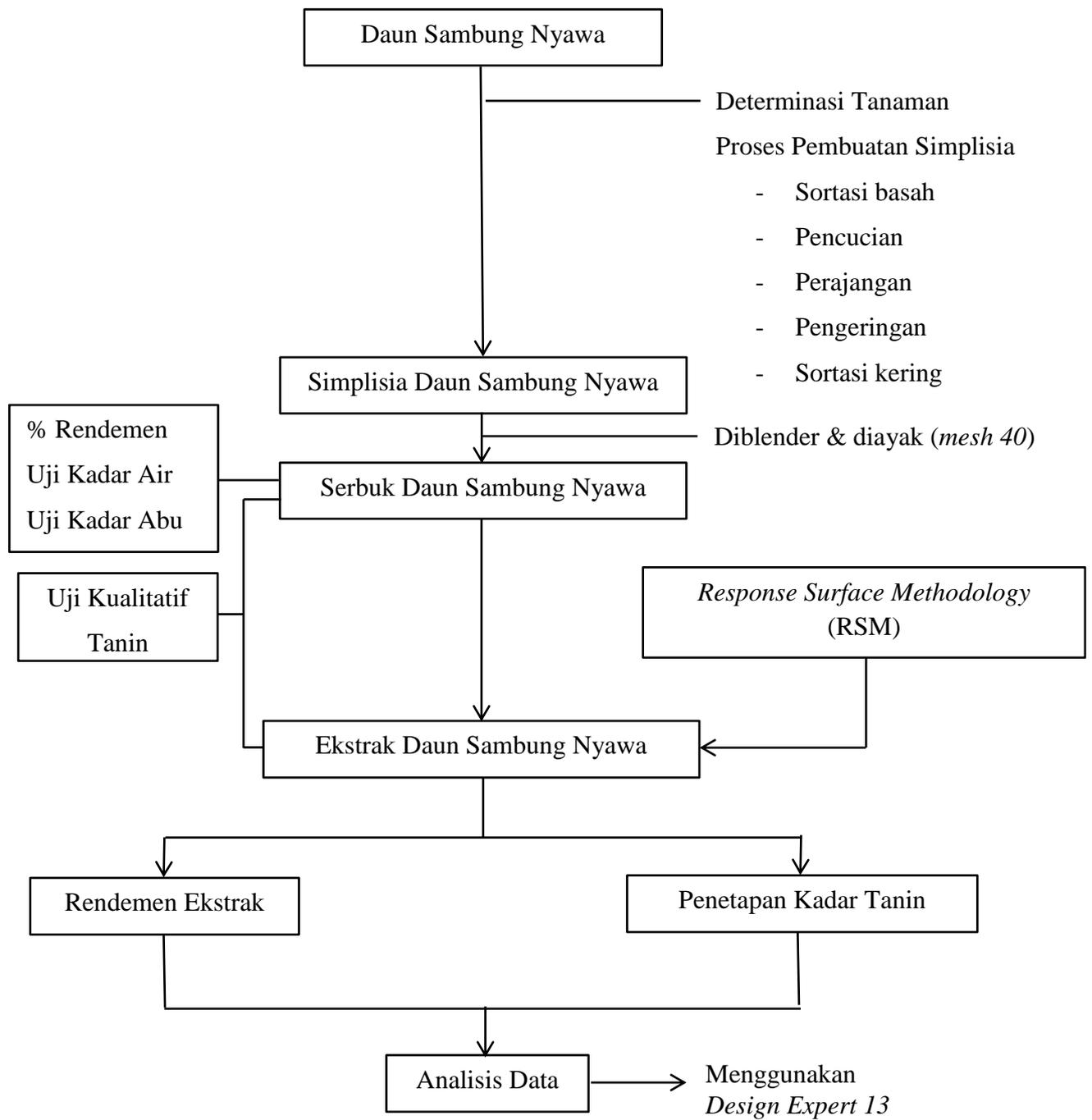
- Setiawan, W., Azhari & Sylvia, N. 2017. Optimasi proses pembuatan biodiesel dari minyak biji jarak kepyar (*Ricinus communis* L.) dengan metode ekstraksi reaktif. *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*. 6(1). pp. 45–54.
- Sinaga, M. S., Ariska, R. & Defriska, P. 2018. The utilization of sambung nyawa (*Gynura procumbent* [Lour]. Merr) leaves extracts as an antioxidant for coconut oil by using ethanol solvent. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. pp. 1–6.
- Sinaga, M. S., Siagian, P. D. & Ariska, R. 2017. Pemanfaatan ekstrak daun sambung nyawa (*Gynura procumbens* [Lour]. Merr) sebagai antioksidan pada minyak kelapa menggunakan pelarut metanol. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 6(2). pp. 41–47.
- Smith, A., Liline, S. & Sahetapy, S. 2023. Analisis kadar abu pada salah merah (*Salacca edulis*) di desa riring dan desa buria kecamatan taniwel kabupaten seram bagian barat, provinsi maluku. *BIOPENDIX: Jurnal Biologi, Pendudukan & Terapan*. 10(1). pp. 51-57.
- Sudarsono, Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I. A. and Purnomo, A. 2002. *Tumbuhan Obat II (Hasil Penelitian Sifat-Sifat dan Penggunaan)*. Yogyakarta : Pusat Studi Obat Tradisional. Universitas Gajah Mada.
- Sulistiyani, Y., Andrianto, S., Indraswati, N. and Ayucitra, A. 2011. Ekstraksi senyawa fenolik dari limbah kulit kacang tanah (*Arachis hypogea* L) sebagai antioksidan alami. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*. 10(3). pp. 112–119.
- Sunani, S. & Hendriani, R. 2023. Review article: classification and pharmacological activities of bioactive tannins. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*. 3(2). pp. 130–136.
- Syafaatullah, A. Q., Variyana, Y., Rohmah, N., Mufaidah, I. and A'yun, A. Q. 2021. Optimization of *ultrasound-assisted extraction* parameters from *Indigofera tinctoria* L using *response surface methodology*. *Journal of Research and Technology*. 7(2). pp. 175–186.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V*. University Press, Yogyakarta.
- Wardani, A. T. & Leviana, F. 2010. Pengaruh cairan penyari terhadap rendemen dan kadar tanin ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.). *Jurnal Farmasi Indonesia*. 7(2). pp. 57–61.
- Yuliwati, E., Winaldo, R. & Kharismadewi, D. 2022. Optimasi gasifikasi ampas

tebu menggunakan design expert 11 untuk memaksimalkan rasio syngas. *Distilasi*. 7(1). pp. 28–40.

Yuswi, N. C. R. 2017. Ekstraksi antioksidan bawang dayak (*Eleutherine palmifolia*) dengan metode *ultrasonic bath* (kajian jenis pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 5(1). pp. 71–79.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET, DAN TEKNOLOGI
INSTITUT PERTANIAN BOGOR

Pusat Studi Biofarmaka Tropika (Trop BRC)
 Gedung CRC Lantai 2
 Kawasan STP IPB Taman Kencana
 Jl. Taman Kencana No. 3 Bogor 16128
 Telepon (0251) 8373561
 Facsimile (0251) 8347525
 bfarmaka@gmail.com biofarmaka.ipb.ac.id

Nomor : 507/IT3.L.P13/TA.00.03/M/B/2023
 Lampiran : -
 Perihal : Sampel Simplisia

Bogor, 13 Desember 2023

Kepada Yth.
 Siti Nuraini (066119099)
 Program Studi Farmasi
 Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
 Universitas Pakuan

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan surat mengenai sampel daun sambung nyawa dari Unit Konservasi Budidaya Biofarmaka (UKBB) Pusat Studi Biofarmaka Tropika IPB, adalah sebagai berikut:

No. Koleksi	Nama Tanaman	Nama Latin	Suku
BMK0310122016	Sambung nyawa	<i>Gynura procumbens</i> (Lour.) Merr.	Asteraceae

Demikian, semoga bermanfaat bagi saudara.

Pusat Studi Biofarmaka Tropika IPB
 Kepala,

Prof. Dr. Irmanida Batubara, SSi, MSi
 NIP. 197508072005 01 2 001

1. Arsip

Lampiran 3. Rendemen Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

Berat daun sebelum disortasi : 5000 gram

Berat daun sesudah disortasi : 4500 gram

Berat simplisia kering : 2850 gram

Berat serbuk simplisia : 413 gram

Perhitungan Rendemen Serbuk Simplisia

$$\text{Rendemen Serbuk Simplisia} = \frac{413 \text{ gram}}{4500 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 10.9 \%$$

Lampiran 4. Kadar Air dan Kadar Abu Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

A. Kadar Air Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

Ulangan	Bobot Sampel (g)	Bobot Cawan Kosong (g)	Cawan + Sampel (Cawan isi sebelum pemanasan (g))	Bobot Akhir (Cawan isi sesudah pemanasan (g))	Kadar Air (%)	Rata-Rata (%)	RPD (%)
1	2.0036	68.0798	70.0834	69.987	5.8046	6.0031 ± 0.2809	6.6164
				69.9767			
				69.969			
				69.9671			
2	2.0075	55.6615	57.669	57.5688	6.2017		
				57.5546			
				57.5457			
				57.5445			

*Nilai RPD (*Relative Percent Difference*) atau perbedaan persen relatif menunjukkan nilai memenuhi syarat yaitu < 10% (Habibi, 2020).

Perhitungan Kadar Air

$$\text{Ulangan 1 : \% Kadar Air} = \frac{70.0834 \text{ gram} - 69.9671 \text{ gram}}{2.0036 \text{ gram}} \times 100\% = 5.8046\%$$

$$\text{Ulangan 2 : \% Kadar Air} = \frac{57.669 \text{ gram} - 57.5445 \text{ gram}}{2.0075 \text{ gram}} \times 100\% = 6.2017\%$$

B. Kadar Abu Serbuk Simplisia Daun Sambung Nyawa

Ulangan	Bobot Sampel (g)	Bobot Krus Kosong (g)	Krus + Sampel (Sebelum pemanasan (g))	Bobot Akhir (Bobot krus + abu (g))	Kadar Abu (%)	Rata-Rata (%)	RPD (%)
1	2.0167	37.8174	39.8341	37.9596	6.9619	7.0757 ± 0.1610	6.6164
				37.9578			
2	2.0196	42.2621	44.2817	42.4087	7.1895		
				42.4073			

*Nilai RPD (*Relative Percent Difference*) atau perbedaan persen relatif menunjukkan nilai memenuhi syarat yaitu < 10% (Habibi, 2020).

Perhitungan Kadar Abu

$$\text{Ulangan 1 : \% Kadar Abu} = \frac{37.9578 \text{ gram} - 37.8174 \text{ gram}}{2.0167 \text{ gram}} \times 100\% = 6.9619\%$$

$$\text{Ulangan 2 : \% Kadar Abu} = \frac{42.4073 \text{ gram} - 42.2621 \text{ gram}}{2.0196 \text{ gram}} \times 100\% = 7.1895\%$$

Lampiran 5. Hasil Rendemen dan Kadar Tanin Ekstrak Daun Sambung Nyawa

A. Rendemen Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Std	Run	Konsentrasi Etanol (%)	Komposisi Bahan-pelarut (b/v)	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Simplisia (g)	Rendemen Ekstrak (%)
12	1	70	20	3.03	20.014	15.14
13	2	70	20	3.07	20.012	15.34
3	3	50	30	2.84	20.011	14.19
4	4	96	30	2.33	20.018	11.64
8	5	70	30	2.99	20.017	14.94
5	6	50	20	2.63	20.013	13.14
9	7	70	20	3.13	20.015	15.64
11	8	70	20	3.09	20.008	15.44
6	9	96	20	2.47	20.012	12.34
1	10	50	10	2.17	20.011	10.84
10	11	70	20	3.06	20.015	15.29
7	12	70	10	2.47	20.012	12.34
2	13	96	10	2.06	20.018	10.29

Contoh Perhitungan Rendemen Ekstrak

Run 1 :

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{3.03 \text{ gram}}{20.014 \text{ gram}} \times 100\% = 15.14\%$$

B. Kadar Tanin Ekstrak Daun Sambung Nyawa

1. Pembuatan Larutan Reagen Natrium Karbonat (Na_2CO_3) 15%

$$\frac{15 \text{ gr}}{100 \text{ mL}} = 15\% = 15 \text{ gr}/100 \text{ mL}$$

2. Pembuatan Larutan Standar Induk Asam Tanat (100 ppm)

$$100 \text{ ppm} \rightarrow \frac{10 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} = \frac{10000 \mu\text{g}}{100 \text{ mL}}$$

3. Pembuatan Deret Larutan Standar Asam Tanat
 - a. Larutan Asam Tanat dengan Konsentrasi 2 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,2 \text{ mL (pipet dari larutan 100 ppm)}$$

b. Larutan Asam Tanat dengan Konsentrasi 4 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 4 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ mL (pipet dari larutan 100 ppm)}$$

c. Larutan Asam Tanat dengan Konsentrasi 6 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 6 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,6 \text{ mL (pipet dari larutan 100 ppm)}$$

d. Larutan Asam Tanat dengan Konsentrasi 8 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 8 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ mL (pipet dari larutan 100 ppm)}$$

e. Larutan Asam Tanat dengan Konsentrasi 10 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 10 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL (pipet dari larutan 100 ppm)}$$

4. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Sambung Nyawa

13 Ekstrak → dibuat larutan induk 1000 ppm

$$1000 \text{ ppm} \rightarrow \frac{10 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} = \frac{10000 \mu\text{g}}{10 \text{ mL}}$$

Larutan Ekstrak Daun Sambung Nyawa 100 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

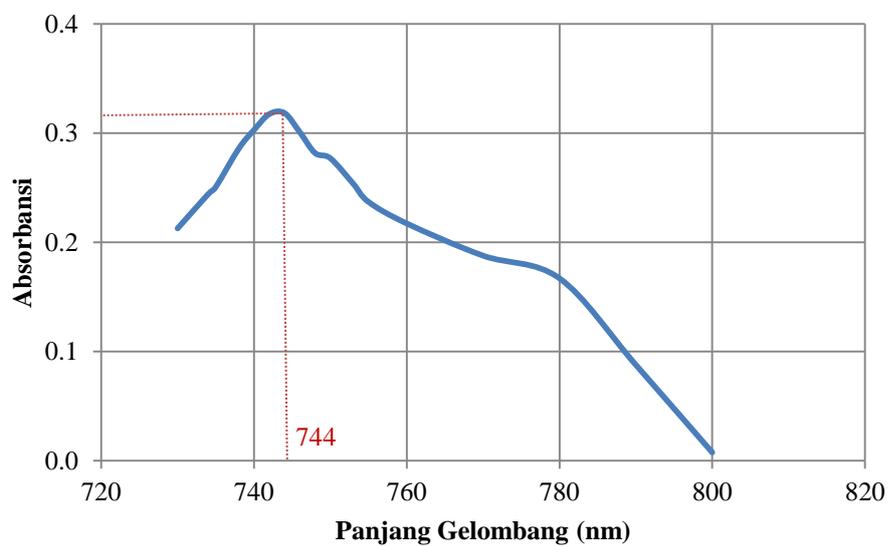
$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 10 \text{ mL} \times 100 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL (pipet dari larutan 1000 ppm)}$$

5. Panjang Gelombang Maksimum Asam Tanat

Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
730	0.2126
735	0.2505
738	0.2856
740	0.3028
742	0.3173
744	0.3183
746	0.3008
748	0.2816
750	0.2769
753	0.2535
755	0.2369
760	0.2172
770	0.1877
780	0.1669
790	0.0877
800	0.0075

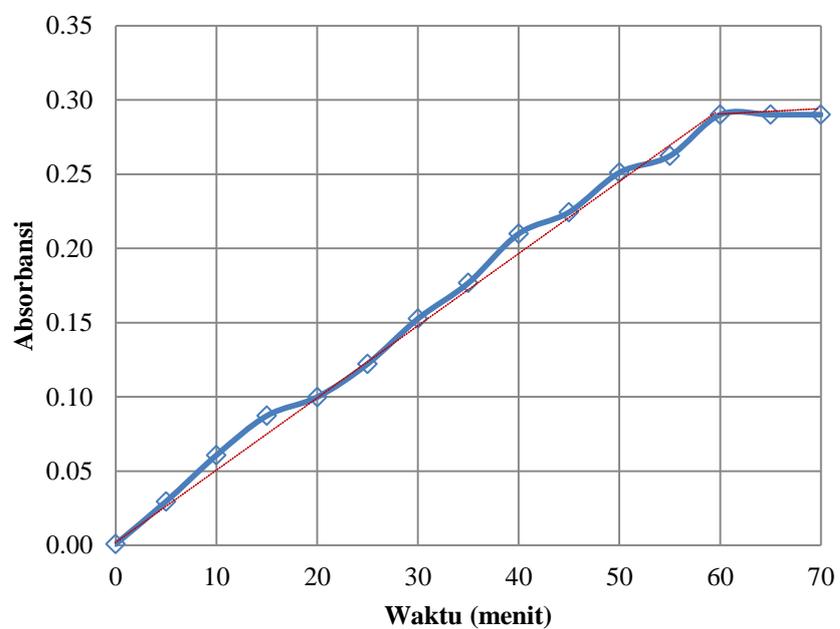
6. Grafik Panjang Gelombang Maksimum Asam Tanat



7. Waktu Inkubasi Optimum Asam Tanat

Waktu (Menit)	Absorbansi
0	0.0009
5	0.0295
10	0.0607
15	0.0873
20	0.0999
25	0.1222
30	0.1526
35	0.1767
40	0.2099
45	0.2244
50	0.2510
55	0.2622
60	0.2901
65	0.2901
70	0.2901

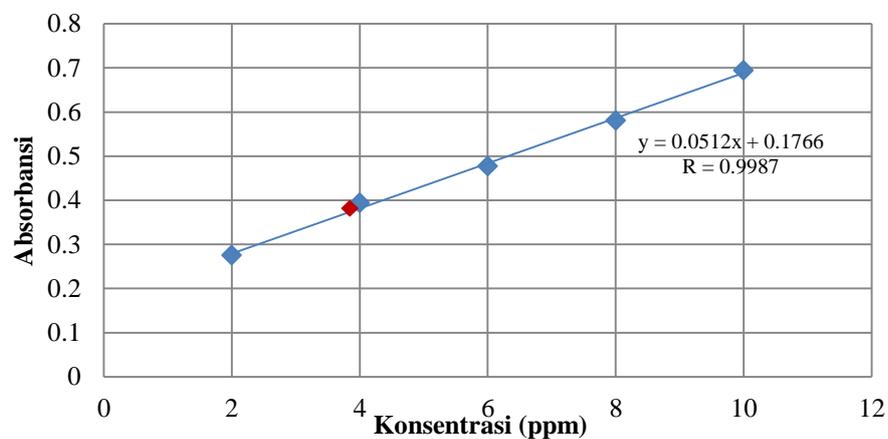
8. Grafik Waktu Inkubasi Optimum Asam Tanat



9. Penentuan Deret Larutan Standar Asam Tanat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
2	0.2749
4	0.3938
6	0.4769
8	0.5804
10	0.6938

10. Grafik Deret Larutan Standar Asam Tanat



11. Kadar Tanin Ekstrak Daun Sambung Nyawa

Std	Run	Komposisi						Bobot Sampel (g)	Kadar Tanin (%)
		Konsentrasi Etanol (%)	Bahan-pelarut (b/v)	Abs.	C (g/L)	V (L)	fp		
12	1	70	20	0.4417	0.0052			0.0103	5.0269
13	2	70	20	0.4509	0.0054			0.0102	5.2524
3	3	50	30	0.3445	0.0033			0.0105	3.1231
4	4	96	30	0.3741	0.0039	0.01	10	0.0105	3.6737
8	5	70	30	0.4216	0.0048			0.0104	4.6011
5	6	50	20	0.3458	0.0033			0.0105	3.1473
9	7	70	20	0.4527	0.0054			0.0102	5.2868

Std	Run	Konsentrasi Etanol (%)	Komposisi Bahan-pelarut (b/v)	Abs.	C (g/L)	V(L)	fp	Bobot Sampel (g)	Kadar Tanin (%)
11	8	70	20	0.4547	0.0054			0.0103	5.2734
6	9	96	20	0.3876	0.0041			0.0106	3.8878
1	10	50	10	0.3246	0.0029			0.0105	2.7530
10	11	70	20	0.4426	0.0052	0.01	10	0.0101	5.1439
7	12	70	10	0.4047	0.0045			0.0106	4.2029
2	13	96	10	0.3531	0.0034			0.0105	3.2831

Contoh Perhitungan Kadar Tanin

$$y = 0.0512x + 0.1766$$

Run 1 :

$$C = \frac{0.4417 - 0.1766}{0.0512} = 5.1777 \text{ ppm}$$

$$\% \text{ Tanin} = \frac{5.1777 \text{ ppm} \times 0.01 \text{ L} \times 10 \times 10^{-3}}{0.0103 \text{ g}} \times 100\% = 5.0269\%$$

Lampiran 6. Analisis Model dan ANOVA Terhadap Respon

A. Rendemen Ekstrak

a) Nilai *Adjusted R²*, *Predicted R²*, dan nilai *Lack of fit*

<i>Source</i>	<i>Adjusted R²</i>	<i>Predicted R²</i>	<i>p-value</i>	
<i>Linear</i>	0.1556	-0.3755	0.0001	
<i>2FI</i>	0.0926	-2.0493	< 0.0001	
<i>Quadratic</i>	0.9686	0.8877	0.0521	<i>Suggested</i>
<i>Cubic</i>	0.9663	-0.3406	0.0205	<i>Aliased</i>

b) ANOVA (*Analysis of Variance*)

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-value</i>	<i>p-value</i>	
Model	43.04	5	8.61	75.02	< 0.0001	<i>significant</i>
A-Konsentrasi Etanol	2.41	1	2.41	20.98	0.0025	
B-Komposisi Bahan-pelarut	8.54	1	8.54	74.44	< 0.0001	
AB	1.02	1	1.02	8.86	0.0206	
A ²	13.52	1	13.52	117.8	< 0.0001	
B ²	5.06	1	5.06	44.09	0.0003	
Residual	0.8032	7	0.1147			
<i>Lack of Fit</i>	0.6652	3	0.2217	6.43	0.0521	<i>not significant</i>
<i>Pure Error</i>	0.138	4	0.0345			
Cor Total	43.84	12				
<i>R-Squared</i>	0.9817		<i>Pred R-Squared</i>	0.8877		
<i>Adj R-Squared</i>	0.9686		<i>Adeq Precision</i>	21.6515		

Rendemen = -16.51469 + 0.639710*Konsentrasi Etanol + 0.820377*Komposisi Bahan-pelarut - 0.002185 *Konsentrasi Etanol *Komposisi Bahan-pelarut - 0.004271*Konsentrasi Etanol² - 0.013534*Komposisi Bahan-pelarut²

B. Kadar Tanin

a) Nilai *Adjusted R²*, *Predicted R²*, dan nilai *Lack of fit*

<i>Source</i>	<i>Adjusted R²</i>	<i>Predicted R²</i>	<i>p-value</i>	
<i>Linear</i>	-0.1518	-0.82	0.0001	
<i>2FI</i>	-0.2798	-3.0339	< 0.0001	
<i>Quadratic</i>	0.9642	0.8857	0.0815	<i>Suggested</i>
<i>Cubic</i>	0.9512	-0.9452	0.0202	<i>Aliased</i>

b) ANOVA (*Analysis of Variance*)

<i>Source</i>	<i>Sum of Squares</i>	<i>df</i>	<i>Mean Square</i>	<i>F-value</i>	<i>p-value</i>	
Model	10.53	5	2.11	65.61	< 0.0001	<i>significant</i>
A-Konsentrasi Etanol	0.5528	1	0.5528	17.22	0.0043	
B-Komposisi Bahan-pelarut	0.2237	1	0.2237	6.97	0.0334	
AB	0.0001	1	0.0001	0.0028	0.9594	
A ²	6.04	1	6.04	188.15	< 0.0001	
B ²	0.8673	1	0.8673	27.02	0.0013	
Residual	0.2247	7	0.0321			
<i>Lack of Fit</i>	0.1759	3	0.0586	4.81	0.0815	<i>not significant</i>
<i>Pure Error</i>	0.0487	4	0.0122			
Cor Total	10.75	12				
<i>R-Squared</i>	0.9791		<i>Pred R-Squared</i>	0.8857		
<i>Adj R-Squared</i>	0.9642		<i>Adeq Precision</i>	20.5194		

Kadar Tanin = -13.57903 + 0.429565*Konsentrasi Etanol + 0.241989*Komposisi Bahan-pelarut + 0.000020 *Konsentrasi Etanol *Komposisi Bahan-pelarut - 0.002855*Konsentrasi Etanol² - 0.005604*Komposisi Bahan-pelarut²

Lampiran 7. Data Verifikasi

A. Rendemen Ekstrak

Konsentrasi Etanol (%)	Komposisi Bahan-Pelarut (b/v)	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Simplisia (g)	Rendemen Ekstrak (%)	Rata-Rata (%)
70	20	3.06	20.013	15.29	15.3
		3.08	20.015	15.39	
		3.04	20.017	15.19	

B. Kadar Tanin

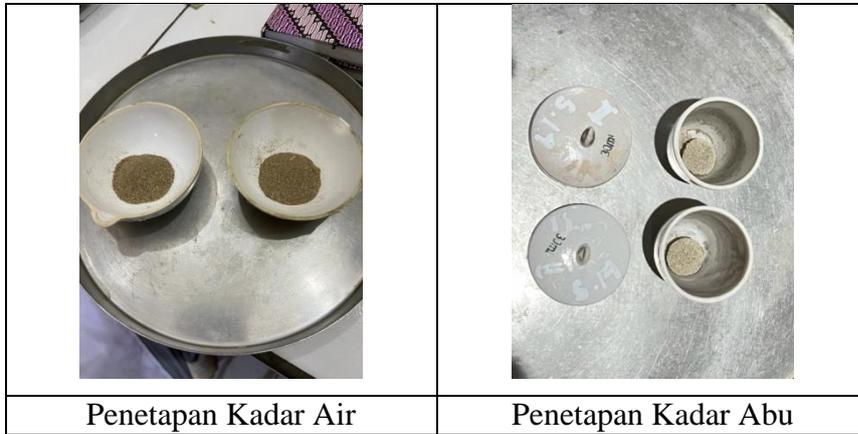
Konsentrasi Etanol (%)	Komposisi Bahan-Pelarut (b/v)	Abs.	C (g/L)	V (L)	fp	Bobot Sampel (g)	Kadar Tanin (%)	Rata-Rata (%)
70	20	0.457	0.0055	0.01	10	0.0102	5.3692	5.1981
		0.444	0.0052			0.0104	5.0218	
		0.451	0.0054			0.0103	5.2033	

C. Data Verifikasi

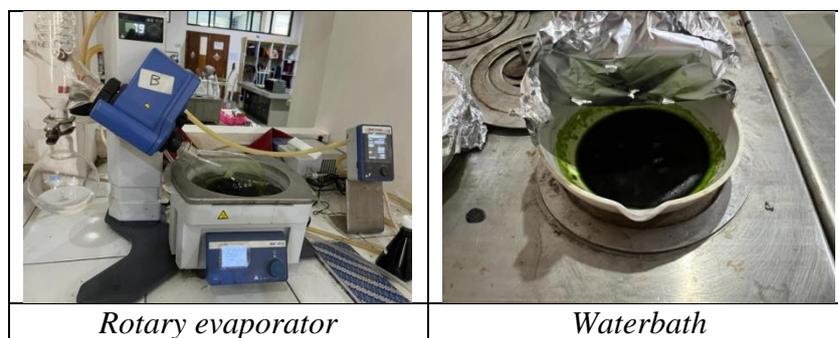
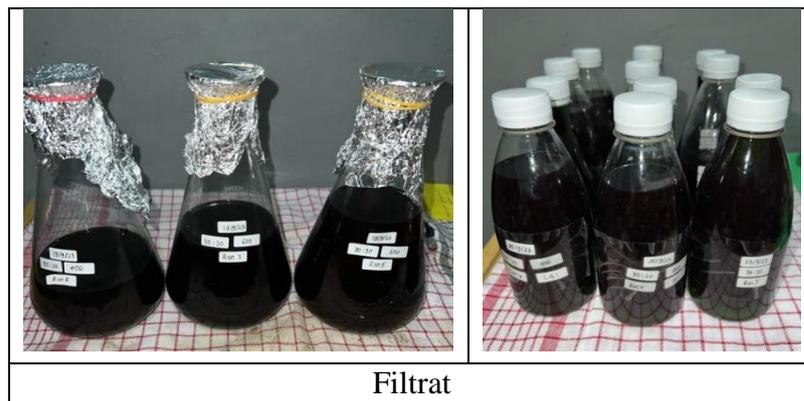
Respon	95% PI low for Mean	95% PI high for Mean	Predicted Mean	Hasil Verifikasi	Selisih (%)	Akurasi (%)
Rendemen Ekstrak (%)	14.7028	15.842	15.2724	15.3	0.0276	100.1807
Kadar Tanin (%)	4.82847	5.431	5.12973	5.1981	0.0684	101.3324

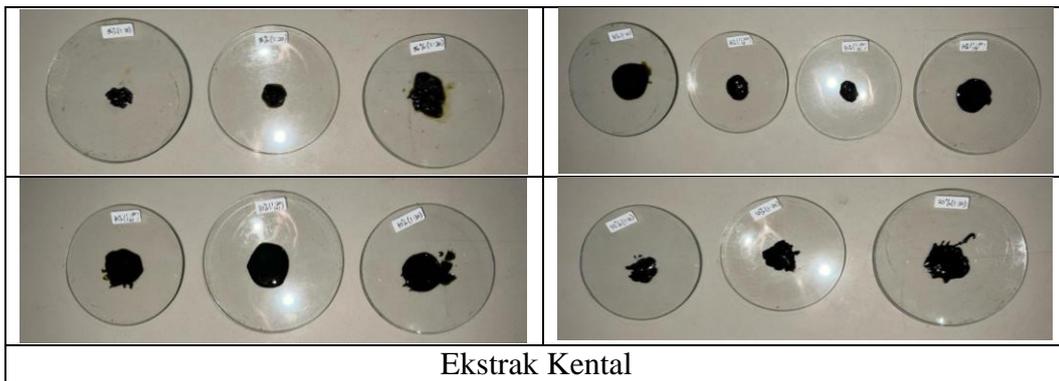
Lampiran 8. Dokumentasi

1. Kadar Air dan Kadar Abu



2. Pembuatan Ekstrak





3. Penetapan Kadar Tanin

