

STUDI OPTIMASI REAKSI PADA EKSTRAKSI CRUDE GLUKOSAMIN DARI BIJI BUAH SIWALAN (*BORASSUS FLABELLIFER L.*)

*Reaction Optimization Study on Extraction of Crude Glucosamine from Siwalan Fruit's Seeds (*Borassus flabellifer L.*)*

Nur Lailatul Rahmah^{1*}, Ika Atsari Dewi¹, Beauty Suestining D. D¹, Claudia Gadizza P¹,
Danang Triagus S¹, Azzimatul Ihwah¹, Wendra G. Rohmah¹

¹Jurusan Teknologi Industri Pertanian - Fakultas Teknologi Pertanian - Universitas Brawijaya
Jl. Veteran - Malang 65145

*Penulis Korespondensi: email: cahya_leyla@yahoo.com

ABSTRAK

Glukosamin ($C_6H_{13}NO_5$) atau (3R,4R,5S)-3-Amino-6-(hidroksimetil) oksana-2.4.5-triol atau 2-Amino-2-deoksiglukosa merupakan gula amino dan prekursor penting dalam sintesis biokimia. Glukosamin dapat berfungsi sebagai obat osteoarthritis dan rematik. Glukosamin terkandung dalam biji buah siwalan (*Borassus flabellifer L.*) yang banyak tersebar di wilayah Jawa Timur dan Jawa Tengah bagian timur, Madura, Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, dan Sulawesi. Penelitian ini menggunakan metode respon permukaan yaitu Rancangan Komposit Terpusat (Central Composite Design) dengan menggunakan dua faktor yaitu konsentrasi NH_4Cl dan lama perendaman. Penggunaan NH_4Cl 2 M sebagai batas bawah dan 4 M sebagai batas atas, sedangkan waktu ekstraksi selama 6 jam sebagai batas bawah dan 24 jam sebagai batas atas. Kedua faktor tersebut menghasilkan sebanyak 13 perlakuan. Respon dari penelitian ini adalah kadar, pH, dan rendemen glukosamin. Model hubungan pengaruh antara konsentrasi NH_4Cl dan lama waktu perendaman terhadap kadar dan rendemen glukosamin siwalan adalah model linier, sehingga tidak bisa ditentukan solusi optimum untuk masing-masing faktor. Namun yang ditemukan adalah respon terbesar yang terdapat pada konsentrasi NH_4Cl 4 M dan lama perendaman 24 jam dengan kadar glukosamin 858.772 ppm, pH glukosamin 4.383, dan rendemen glukosamin 0.285%. Ekstrak glukosamin hasil respon terbesar ini memiliki ciri fisik larut dalam air, sedikit larut dalam methanol, dan berwarna coklat.

Kata kunci : Biji Buah Siwalan, Garam Ammonium, Glukosamin, Respon Permukaan

ABSTRACT

Glucosamine ($C_6H_{13}NO_5$) or (3R, 4R, 5S)-3-Amino-6-(hydroxymethyl) oksana-2.4.5-triol or 2-Amino-2-deoksiglukosa an amino sugar and an important precursor in the biochemical synthesis. Glucosamine can serve as osteoarthritis and rheumatic drugs. Glucosamine contain the seeds of palm (*Borassus flabellifer L.*) is widely spread in East Java and Central Java eastern part, Madura, Bali, West Nusa Tenggara, East Nusa Tenggara, and Sulawesi. This study uses Response Surface Method, Centralized Composite Design (Central Composite Design), use two factors, NH_4Cl concentration and soaking time. NH_4Cl 2 M used as the lower limit, and 4 M as the upper limit, while the extraction times used were 6 hours as the lower limit and 24 hours as the upper limit. Both these factors resulted in as many as 13 treatments. The responses of this study are the concentration, pH, and yield of glucosamine. In the present study, linear model is more suitable for presenting the relationship between the concentration of NH_4Cl and the immersion time to the effect on the content and yield of glucosamine of siwalan, thus the optimum solution for each factor cannot be determined. However, the greatest response was found at a concentration of NH_4Cl 4 M and 24 hours soaking time with glucosamine levels of 858.772 ppm, at pH 4.383, and yield of glucosamine 0.285%. This extract of glucosamine has physical characteristic, such as soluble in water, slightly soluble in methanol, and brown in color.

Keywords: Palm Fruit Seeds, Ammonium Salts, Glucosamine, Response Surface

PENDAHULUAN

Pohon Siwalan atau disebut juga Pohon Lontar (*Borassus flabellifer* L.) adalah sejenis palma (pinang-pinangan) yang tumbuh di Asia Tenggara dan Asia Selatan. Pohon Lontar menjadi flora identitas propinsi Sulawesi Selatan. Pohon Siwalan atau Lontar tumbuh di daerah kering. Pohon ini dapat dijumpai di Asia Tenggara dan Asia Selatan. Di Indonesia, Pohon Siwalan tumbuh di Jawa Timur dan Jawa Tengah bagian timur, Madura, Bali, Nusa Tenggara Barat, Nusa Tenggara Timur, dan Sulawesi. Siwalan dapat hidup hingga umur 100 tahun atau lebih, dan mulai berbuah pada usia sekitar 20 tahun. Biji buah siwalan dapat dikonsumsi terutama yang muda. Biji yang masih muda itu masih lunak, demikian pula batoknya, bening lunak dan berair (sebenarnya adalah endosperma cair) di tengahnya (Heyne, 1987). Pada biji buah siwalan terkandung gula, gula reduksi, protein, mineral, fosfor, besi, vitamin C dan B1 (Anonim, 2015; Bayton, 2007). Hal ini dikuatkan dengan penelitian Keerthi *et al.* (2009) bahwa ekstrak metanol tepung biji siwalan yang dianalisis dengan $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ menunjukkan adanya *steroidal aglycone (spirostane)* yang berikatan dengan karbohidrat yang terdiri dari residu α -rhamnosyl dan β -pyranosyl, yang sesuai dengan perbandingan spektra data bahwa β -pyranosyl memiliki struktur yang dapat diidentifikasi dengan β -glucosaminosyl (glukosamin).

Glukosamin ($\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_5$) atau (3R,4R,5S)-3-Amino-6-(hidroksimetil) oksana-2,4,5-triol atau 2-Amino-2-deoksiglukosa merupakan gula amino dan prekursor penting dalam sintesis biokimia. Glukosamin ditemukan sebagai komponen utama dari rangka luar krustasea, artropoda, dan cendawan (Horton and Wander, 1980). Glukosamin juga ditemukan pada tanaman *Chicorium intybus*, *Daucus carota*, *Helianthus tuberosum*, dan *Beta vulgaris* (Courtois *et al.*, 2008), serta kedelai (Syafri, 2006; Anderson *et al.*, 2005). Konsumsi glukosamin secara oral biasanya digunakan untuk mengurangi gejala osteoarthritis. Sebagai prekursor dari glikoaminoglikan yang menyusun jaringan kartilago sendi, suplementasi glukosamin diharapkan mampu membangun kembali jaringan kartilago dan mengurangi risiko osteoarthritis, walau-

pun efektivitasnya masih diperdebatkan (Lavery *et al.*, 2005; Biggee *et al.*, 2006).

Melihat potensi glukosamin sebagai prekursor obat antiinflamasi (Dhyantari *et al.*, 2015), maka banyak sekali dikembangkan metode ekstraksi glukosamin dari berbagai jenis organisme. Glukosamin dapat diproduksi dengan menambahkan prekursor yaitu garam ammonium seperti ammonium sulfat, ammonium nitrat, ammonium asetat, dan garam ammonium yang lain. Garam ammonium bertindak sebagai prekursor untuk membentuk reaksi kondensasi senyawa gula-nitrogen. Ekstraksi dapat dilakukan dengan menggunakan pelarut air (Courtois *et al.*, 2008).

Glukosamin dari kitin dapat diperoleh melalui hidrolisis dengan HCl (Mojarad *et al.*, 2007). Menurut Ernawati (2012), glukosamin hidroklorida (GlcN HCl) juga dapat diekstraksi dari kitin atau kitosan dengan perlakuan terbaik GlcN HCl diperoleh pada penggunaan HCl 8% (v/v) dengan tekanan maksimum 1 atm selama 1 jam. GlcN HCl hasil penelitian memiliki karakteristik yakni larut sempurna dalam air, berbentuk serbuk berwarna putih kekuningan dengan nilai $L^{\circ}D$ 0.92%, titik leleh 190-192 °C, dan rendemen 69.80%. Spektrum FTIR menunjukkan pola pita serapan gugus fungsi yang mirip antara GlcN HCl hasil hidrolisis dengan standar yang menunjukkan bahwa hidrolisis GlcN HCl dari kitosan berhasil dilakukan. Saefulhadjar *et al.* (2012) juga melakukan penelitian mengenai ekstraksi glukosamin secara biologis dari kitin menggunakan binder amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), potasium sulfat (K_2SO_4), dan sodium hidro sulfat (NaHSO_4). Dosis binder terbaik dalam proses pembentukan glukosamin adalah sebesar 0.3%, pada suhu 60 °C dan waktu proses pengolahan 2 jam. Bahan baku untuk ekstraksi glukosamin dapat berupa garam ammonium dengan konsentrasi mulai dari 4 M dan waktu maserasi antara 10 hingga 120 jam (Courtois *et al.*, 2008). Berdasarkan beberapa penelitian ekstraksi glukosamin, dapat diketahui bahwa garam ammonium dengan konsentrasi tertentu berpotensi dalam pengikatan glukosa dari bahan khususnya dari kitin atau kitosan maupun tanaman membentuk senyawa glukosamin. Ekstraksi glukosamin juga sangat dipengaruhi oleh waktu perendaman garam ammonium. Oleh karena itu, pada penelitian ini dipelajari mengenai op-

timasi ekstraksi glukosamin dari biji buah siwalan menggunakan variasi konsentrasi NH_4Cl dan variasi waktu perendaman.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah biji buah siwalan yang masih muda (biji lunak), akuades, metanol, ammonium klorida (NH_4Cl), asam asetat glasial, dan *glukosamine hidrochloride* Sigma-Aldrich. Alat yang digunakan adalah pisau, timbangan, neraca analitik, loyang, erlenmeyer, oven, loyang, tabung reaksi, kain saring, labu ukur, gelas ukur, aluminium foil, label, tisu, spektrofotometer Genesys 10 UV, pipet tetes, dan *frozen dryer* Christ.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam metode respon permukaan adalah Rancangan Komposit Terpusat (*Central Composite Design*) dengan menggunakan dua faktor yaitu konsentrasi pelarut dan lama waktu ekstraksi. Pada penelitian ini digunakan jenis pelarut Amonium Klorida (NH_4Cl). Supaya memudahkan penjabaran, maka penelitian menggunakan dua faktor, yaitu konsentrasi (NH_4Cl) dan lama waktu perendaman. Pada metode respon permukaan dua faktor, percobaan dilakukan sebanyak 13 perlakuan. Nilai α untuk percobaan dua faktor ($k=2$) dihitung menggunakan rumus $2^{k/4}=2^{2/4}=1.414$. Tahapan untuk menentukan level dari masing-masing faktor dalam percobaan dijelaskan sebagai berikut.

1. Menentukan rancangan faktorial 2^2 (pengaruh dari dua faktor) sebagai percobaan ordo pertama dan ditetapkan level-level yang akan diteliti sebagai berikut.
 - a. Faktor penambahan konsentrasi pelarut (NH_4Cl) (A) dengan level faktor :
 - Konsentrasi (NH_4Cl) = 2 M ($X_1=-1$)
 - Konsentrasi (NH_4Cl) = 4 M ($X_1=1$)
 - b. Faktor lama waktu perendaman (B) dengan level faktor:
 - Lama waktu perendaman 6 jam ($X_2=-1$)
 - Lama waktu perendaman 24 jam ($X_2=1$)
2. Ditetapkan level-level faktor yang sesuai dengan titik pusat $X_1=0$ dan $X_2=0$. Pada faktor konsentrasi pelarut diketahui levelnya berturut-turut yaitu 2 M ($X_1=-1$), 4 M ($X_1=1$), dan 3 M ($X_1=0$) sebagai titik tengahnya dengan jarak antara level fak-

tor adalah 1 M, sehingga hubungan antara variabel X_1 dengan variabel asli dapat dinyatakan sebagai berikut.

$$X_1 = \frac{A-3}{1}$$

$$A=1X_1+3 \dots\dots\dots (1)$$

Pada faktor lama perendaman, hubungan variabel X_2 dengan variabel asli dapat diketahui dengan cara yang sama sehingga dapat dinyatakan seperti berikut.

$$X_2 = \frac{B-15}{9}$$

$$B=9X_2+15 \dots\dots\dots (2)$$

3. Menentukan level-level faktor yang bersesuaian dengan nilai $-\alpha=-1.414$ dan $\alpha=1.414$ dengan perhitungan melalui hubungan variabel X_1 dan X_2 dengan variabel asli dalam persamaan (1) dan (2).

Berdasarkan persamaan (1) diketahui bahwa apabila $X_1=-1.414$, maka $A=1(-1.414)+3=1.59$ M, sedangkan apabila $X_1=1.414$, maka $A=1(1.414)+3=4.41$ M. Pada persamaan (2) diketahui bahwa untuk $X_2=-1.414$, maka $B=9(-1.414)+15=2.27$ jam, sedangkan untuk $X_2=1.414$, maka $B=9(1.414)+15=27.73$ jam. Pengkodean dan level asli (variabel bebas) rancangan komposit terpusat disajikan pada Tabel 1.

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ekstraksi siwalan dijelaskan sebagai berikut.

1. Persiapan bahan penelitian
Bahan baku penelitian ini adalah biji (endosperma) buah siwalan segar. Bahan baku yang dibutuhkan sekitar 1 kg. Bahan baku tersebut dicuci dengan air bersih dan disisihkan.
2. Pengeringan
Biji siwalan yang telah dibersihkan kemudian dipotong kecil-kecil ukuran 1 cm x 1 cm lalu dioven dengan suhu 115 °C selama 3 jam.
3. Proses ekstraksi
Ekstraksi dilakukan dengan 2 faktor, yaitu konsentrasi NH_4Cl dan waktu perendaman. Berikut penjelasan proses ekstraksinya.
 - a. Keping siwalan yang sudah diperoleh pada langkah kedua ditimbang

Tabel 1. Rancangan percobaan komposit

No	Variabel Kode		Variabel Asli		Respon		
	X_1	X_2	A: Konsentrasi Amonium Klorida (NH_4Cl) (M)	B: Lama waktu perendaman (jam)	Kadar Glukosamin	Rendemen	pH
1	-1	-1	2	6	-	-	-
2	1	-1	4	6	-	-	-
3	-1	1	2	24	-	-	-
4	1	1	4	24	-	-	-
5	0	0	3	15	-	-	-
6	0	0	3	15	-	-	-
7	0	0	3	15	-	-	-
8	0	0	3	15	-	-	-
9	0	0	3	15	-	-	-
10	-1.414	0	1.59	15	-	-	-
11	1.414	0	4.41	15	-	-	-
12	0	-1.414	3	2.27	-	-	-
13	0	1.414	3	27.73	-	-	-

masing-masing 5 gram dengan volume ammonium klorida 50 ml.

b. Masing-masing keping siwalan yang sudah ditimbang kemudian dimasukkan erlenmeyer dan direndam dengan pelarut ammonium klorida (NH_4Cl) dengan berbagai konsentrasi pada suhu ruang.

c. Campuran yang ada di erlenmeyer kemudian dibiarkan dan dilakukan proses perendaman suhu ruang sesuai waktu yang sudah diatur pada Tabel 1.

d. Setelah proses perendaman selesai, campuran disaring, dan diambil residunya.

e. Residu (keping siwalan) yang dihasilkan kemudian diekstrak dengan menggunakan air 20 ml selama 3 jam, lalu disaring dan diambil filtratnya. Filtrat dikeringkan dengan *frozen dryer* selama 24 jam dengan suhu -47.4°C .

4. Analisis hasil
 Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dilakukan pH, rendemen, kelarutan dalam metanol, dan kadar glukosamin menggunakan spektrofotometer UV.
5. Analisis data
 Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan program *Design-Expert* DX 7.1.6.

6. Analisis hasil optimum
 Hasil solusi optimum dari hasil komputasi dengan menggunakan *Design-Expert* DX 7.1.6 dilakukan pengujian kelarutan dalam methanol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon Kadar Glukosamin

Hasil analisis kadar glukosamin ekstrak biji buah siwalan disajikan pada Tabel 2. Tabel 2 menunjukkan hubungan antara konsentrasi NH_4Cl dengan waktu perendaman terhadap kadar glukosamin biji buah siwalan. Kadar glukosamin tertinggi diperoleh dari konsentrasi NH_4Cl 1.59 M dan waktu perendaman 15 jam yaitu sebesar 964 ppm. Kadar glukosamin terkecil diperoleh dari perlakuan konsentrasi NH_4Cl 4 M dan waktu perendaman 24 jam sebesar 856 ppm. Data respon kadar glukosamin yang diperoleh digunakan dalam analisis statistika untuk mengoptimasi variable proses yaitu konsentrasi NH_4Cl dengan waktu perendaman. Berdasarkan *Design Expert* DX 7.1.6, yaitu tabel *Sequential Model Sum of Squares* diperoleh bahwa model data yang sesuai adalah model linier. Ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value}=0.0003<0.05$. Hal

Tabel 2. Data respon kadar glukosamin

No	Variabel Kode		Variabel Asli		Respon Kadar Glukosamin (ppm)
	X_1	X_2	A: Konsentrasi Ammonium Klorida (NH_4Cl) (M)	B: Waktu perendaman (jam)	
1	-1	-1	2	6	946.00
2	1	-1	4	6	890.50
3	-1	1	2	24	920.00
4	1	1	4	24	856.00
5	0	0	3	15	894.00
6	0	0	3	15	875.50
7	0	0	3	15	923.50
8	0	0	3	15	913.00
9	0	0	3	15	909.50
10	-1.414	0	1.59	15	964.00
11	1.414	0	4.41	15	884.50
12	0	-1.414	3	2.27	943.50
13	0	1.414	3	27.73	875.50

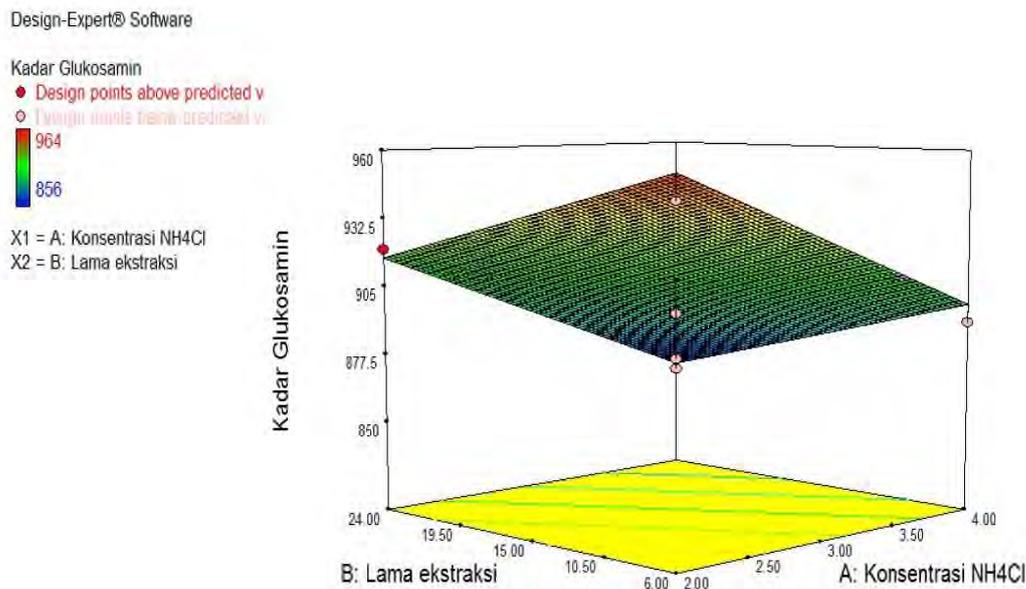
ini didukung pula dengan nilai *lack of fit test* sebesar $0.8231 > 0.05$ yang berarti model sesuai dengan model linier. Pada tabel model *summary of statistic* menunjukkan bahwa nilai *R-squared* 80.81% yang berarti bahwa sebesar 80.81% model didukung data.

Berdasarkan hasil analisis ragam, diketahui bahwa kedua faktor yaitu konsentrasi NH_4Cl dan lama perendaman berpengaruh signifikan terhadap kadar glukosamin. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai *p-value* masing-masing faktor 0.0003 dan 0.0046 yang keduanya < 0.05 sehingga kedua faktor pengaruhnya signifikan terhadap respon. Namun, interaksi antara kedua faktor tidak signifikan. Grafik yang menunjukkan respon kadar glukosamin dari faktor konsentrasi NH_4Cl dan lama perendaman disajikan pada Gambar 1. Hasil analisis *Design Expert* DX 7.1.6 menunjukkan persamaan garis kadar glukosamin yang dihasilkan adalah kadar glukosamin = $1026.96 - 28.99 \times \text{konsentrasi } \text{NH}_4\text{Cl} - 2.18 \times \text{waktu perendaman}$, dengan nilai $R^2 = 80.81\%$.

Berdasarkan persamaan garis linear yang menunjukkan gradient negatif dan grafik model linear pada Gambar 1, diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi NH_4Cl maka kadar glukosamin semakin rendah. Hal ini berarti kombinasi antara konsentrasi NH_4Cl tidak dapat memberi-

kan hasil kadar glukosamin yang diharapkan. Diduga bahwa konsentrasi NH_4Cl yang digunakan terlalu rendah. Penggunaan NH_4Cl diduga karena pada konsentrasi yang sama, jumlah ion NH_4^+ pada NH_4Cl lebih sedikit (yaitu hanya satu ion NH_4^+) jika dibandingkan menggunakan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ yang memiliki dua ion NH_4^+ . Hal ini menyebabkan kondensasi gula-nitrogen tidak berjalan optimal. Kadar glukosamin sangat ditentukan oleh prekursor atau *binder* garam ammonium dalam hal ini NH_4Cl sehingga diperlukan konsentrasi NH_4Cl tinggi untuk mengadakan ikatan dengan glukosa sehingga dihasilkan kadar glukosamin yang optimum. Hal ini sesuai dengan Courtois *et al.* (2008) yang menyebutkan bahwa dari beberapa garam ammonium, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan konsentrasi 4 M yang memiliki pengaruh sebagai prekursor paling baik. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemungkinan konsentrasi NH_4Cl 4 M hanya berkontribusi dalam setengah reaksi pembentukan glukosamin dibandingkan dengan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Oleh karenanya, minimal dibutuhkan 8 M agar memperoleh hasil yang baik.

Gambar 1 menunjukkan bahwa semakin tinggi waktu perendaman (dalam hal ini sebagai waktu kontak antara kepingan sivalan dengan NH_4Cl), maka kadar glukosamin semakin rendah. Diduga karena waktu



Gambar 1. Model grafik kadar glukosamin

yang dibutuhkan dalam pengikatan gugus amina dari amonium klorida terhadap molekul glukosa dalam membentuk glukosamin kurang maksimal. Selain itu, diduga batas atas waktu perendaman prekursor dengan keping siwalan kurang sehingga belum semua gugus amina menggantikan gugus OH. Menurut Courtois *et al.* (2008), jika waktu pemanasan terlalu singkat atau suhunya terlalu rendah, maka pembentukan glukosamin tidak akan efisien dan akan lambat. Selain itu, pemilihan waktu ekstraksi harus disesuaikan dengan jenis tanaman, sebagai contoh waktu yang disarankan pada suatu tanaman adalah 12 -50 jam.

Derajat Keasaman (pH) Glukosamin

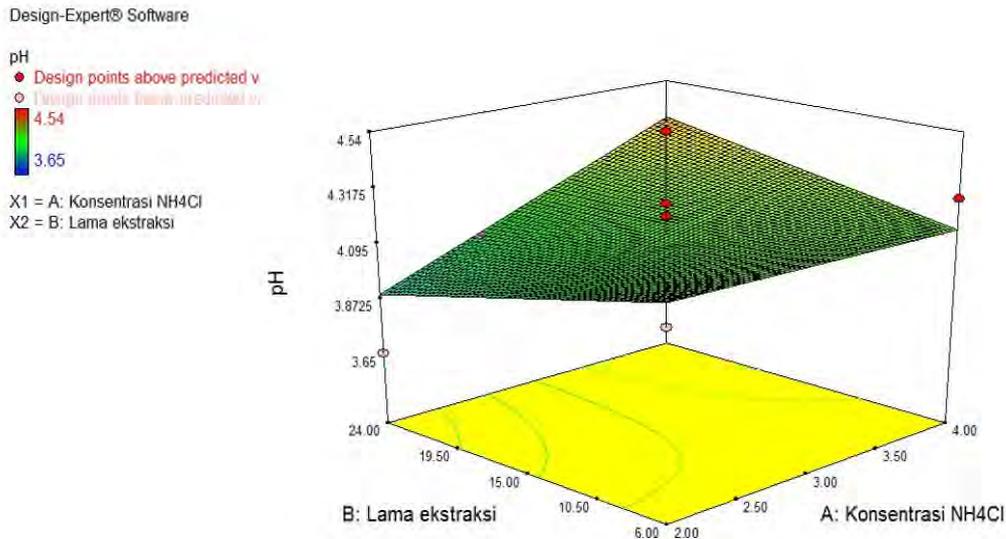
Hasil analisis derajat keasaman (pH) glukosamin ekstrak biji buah siwalan disajikan pada Tabel 3. Tabel 3 menunjukkan hubungan antara konsentrasi NH₄Cl dengan waktu perendaman terhadap derajat keasaman (pH) glukosamin biji buah siwalan. Glukosamin dengan pH tertinggi diperoleh dari konsentrasi NH₄Cl 3 M dan lama maserasi 15 jam yaitu sebesar 4.54. Kadar glukosamin terkecil diperoleh dari perlakuan konsentrasi NH₄Cl 2 M dan lama maserasi 24 jam sebesar 3.65. Data respon dari respon pH glukosamin yang diperoleh kemudian digunakan dalam analisis statistika untuk

mengoptimasi variabel proses yaitu konsentrasi NH₄Cl dengan waktu perendaman. Berdasarkan *Design Expert* DX 7.1.6, yaitu tabel *Sequential Model Sum of Squares* diperoleh bahwa model data yang sesuai adalah model interaksi dua faktor. Hal ini didukung pula dengan nilai *lack of fit test* sebesar 0.6090 > 0.05 yang berarti model sesuai dengan model interaksi dua faktor. Dari tabel model *summary of statistic* menunjukkan bahwa nilai *R-squared* 31.11% yang berarti bahwa sebesar 31.11% model didukung data.

Berdasarkan hasil analisis ragam, diketahui bahwa kedua faktor yaitu konsentrasi NH₄Cl dan waktu perendaman pengaruhnya tidak signifikan terhadap pH glukosamin. Hal ini ditunjukkan dengan nilai *p-value* masing-masing faktor 0.147 dan 0.8689 yang keduanya > 0.05.

Grafik yang menunjukkan respon kadar glukosamin dari faktor konsentrasi NH₄Cl dan lama ekstraksi disajikan pada Gambar 2. Hasil analisis *Design Expert* DX 7.1.6, maka persamaan garis pH glukosamin yang dihasilkan adalah $\text{pH glukosamin} = +4.47 - 0.096 * \text{konsentrasi NH}_4\text{Cl} - 0.044 * \text{lama ekstraksi} + 0.014 * \text{konsentrasi NH}_4\text{Cl} * \text{lama ekstraksi}$, dengan nilai $R^2 = 31.11\%$.

Berdasarkan Gambar 2, diketahui bahwa konsentrasi NH₄Cl dan lama ekstraksi atau maserasi pengaruhnya tidak signifikan terhadap



Gambar 2. Model grafik pH glukosamin

pH yang berarti semua perlakuan perlakuan dapat menghasilkan pH yang sama. Dari hasil penelitian ini, pH glukosamin semua perlakuan telah masuk standar rentang pH glukosamin HCl yaitu antara 3.5-5 (Shaoxing Biotech Chemical, 2015).

Respon Rendemen Glukosamin

Hasil analisis rendemen glukosamin ekstrak biji buah siwalan disajikan pada Tabel 4. Tabel 4 menunjukkan hubungan antara konsentrasi NH_4Cl dengan waktu perendaman terhadap rendemen glukosamin biji buah siwalan. Rendemen glukosamin tertinggi diperoleh dari konsentrasi NH_4Cl 4.41 M dan waktu perendaman 15 jam yaitu sebesar 0.285%. Kadar glukosamin terkecil diperoleh dari perlakuan konsentrasi NH_4Cl 2 M dan waktu perendaman 6 jam sebesar 0.101%. Data respon dari respon rendemen glukosamin yang diperoleh kemudian digunakan dalam analisis statistika untuk mengoptimasi variabel proses yaitu konsentrasi NH_4Cl dengan waktu perendaman. Berdasarkan *Design Expert DX 7.1.6*, yaitu tabel *Sequential Model Sum of Squares* diperoleh bahwa model data yang sesuai adalah model linier, yang ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value}=0.0003<0.05$. Hal ini didukung pula dengan nilai *lack of fit test* sebesar $0.5797>0.05$, yang berarti model sesuai

dengan model linier. Pada tabel model *summary of statistic* menunjukkan bahwa nilai *R-squared* 79.67% yang berarti bahwa sebesar 79.67% model didukung data.

Berdasarkan hasil analisis ragam, diketahui bahwa hanya konsentrasi NH_4Cl berpengaruh signifikan terhadap rendemen glukosamin. Ditunjukkan dengan nilai $p\text{-value}$ $0.0001<0.05$ sehingga faktor tersebut pengaruhnya signifikan terhadap respon. Namun, lama maserasi dan interaksi antara kedua faktor tidak signifikan. Grafik yang menunjukkan respon rendemen glukosamin dari faktor konsentrasi NH_4Cl dan lama ekstraksi disajikan pada Gambar 3. Hasil analisis *Design Expert DX 7.1.6*, maka persamaan garis kadar glukosamin yang dihasilkan adalah rendemen Glukosamin= $-0.011229+0.0626*\text{konsentrasi NH}_4\text{Cl}+1.93049\text{E-}003*\text{lama ekstraksi}$, dengan nilai $R^2=79.67\%$.

Pada Gambar 3 tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi NH_4Cl maka rendemen glukosamin yang dihasilkan semakin tinggi. Rendemen glukosamin ini diperoleh dari perbandingan antara massa glukosamin pada ekstrak dengan massa siwalan basah. Gambar 3 dan Tabel 4 menunjukkan rendemen glukosamin siwalan masih tergolong kecil yaitu berkisar antara 0.101 - 0.285% jika dibandingkan dengan akar chicory kering yang mencapai 1.100% (Courtois *et al.*, 2008). Semakin tinggi kon-

Tabel 3. Data respon derajat keasaman (pH) glukosamin

No	Variabel Kode		Variabel Asli		pH Glukosamin
	X_1	X_2	A: Konsentrasi Ammonium Klorida (NH_4Cl) (M)	B: Waktu Perendaman (jam)	
1	-1	-1	2	6	4.09
2	1	-1	4	6	4.28
3	-1	1	2	24	3.65
4	1	1	4	24	4.35
5	0	0	3	15	4.21
6	0	0	3	15	4.54
7	0	0	3	15	4.08
8	0	0	3	15	3.95
9	0	0	3	15	4.26
10	-1.414	0	1.59	15	4.21
11	1.414	0	4.41	15	4.24
12	0	-1.414	3	2.27	3.98
13	0	1.414	3	27.73	4.26

Design-Expert® Software

Rendemen Glukosamin

● Design points above predicted v

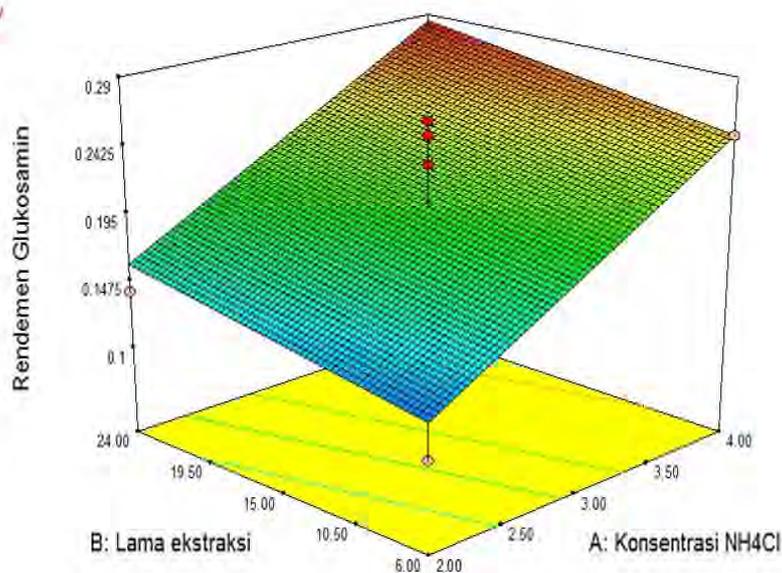
○

0.29

0.1

X1 = A: Konsentrasi NH_4Cl

X2 = B: Lama ekstraksi



Gambar 3. Model grafik kadar glukosamin

Tabel 4. Data respon rendemen glukosamin

No	Variabel Kode		Variabel Asli		Respon Rendemen Glukosamin (%)
	X_1	X_2	A: Konsentrasi Ammonium Klorida (NH_4Cl) (M)	B: Waktu Perendaman (jam)	
1	-1	-1	2	6	0.101
2	1	-1	4	6	0.246
3	-1	1	2	24	0.138
4	1	1	4	24	0.254
5	0	0	3	15	0.258
6	0	0	3	15	0.192
7	0	0	3	15	0.227
8	0	0	3	15	0.252
9	0	0	3	15	0.204
10	-1.414	0	1.59	15	0.118
11	1.414	0	4.41	15	0.285
12	0	-1.414	3	2.27	0.156
13	0	1.414	3	27.73	0.225

sentraasi NH_4Cl maka kadar glukosamin semakin tinggi begitupula dengan rendemennya. Tingginya konsentrasi glukosamin menyebabkan semakin banyak garam amonium yang melakukan ikatan dengan glukosa sehingga semakin banyak glukosamin yang terekstrak. Gambar 3 menunjukkan bahwa waktu perendaman tidak menunjukkan kenaikan yang signifikan pada rendemen, tetapi waktu maserasi lebih berpengaruh pada kadar glukosamin ekstrak. Waktu perendaman terkecil bisa menghasilkan rendemen tinggi jika kadar glukosamin ekstrak tinggi dan sebaliknya. Hasil penelitian ini sesuai dengan Mojarad *et al.* (2007), bahwa rendemen sangat dipengaruhi oleh konsentrasi asam dan waktu reaksi.

Batas bawah konsentrasi NH_4Cl adalah 2 M dan batas atasnya 4 M, sedangkan batas atas lama ekstraksi atau maserasi adalah 6 jam dan batas atasnya 24 jam. Pada kisaran tersebut ingin diperoleh kadar dan rendemen glukosamin maksimum sedangkan pH masuk standar. Agar mencapai hasil tersebut, maka dasar penentuan batas atas dan bawah respon adalah dari hasil penelitian Courtois *et al.* (2008), dimana kadar glukosamin adalah 11000 ppm dan rendemen 1.1%. Adapun pH yang diinginkan pada pe-

nelitian ini adalah masuk standard yaitu 3.5 – 5 (Anonim, 2015). Penentuan tujuan, batas atas dan bawah serta tingkat kepentingan dapat dilihat pada Tabel 5.

Berdasarkan Tabel 5 dan Gambar 4, pada penelitian ini tidak diperoleh solusi optimum, namun hanya menunjukkan respon terbesar dan prediksi hasil komputasi menggunakan *Design Expert DX 7.1.6* seperti tersaji pada Tabel 6. *Desirability* mencerminkan bentangan yang diinginkan untuk masing-masing respon dan menentukan derajat ketepatan hasil solusi optimal. Semakin mendekati nilai satu, *desirability* semakin tinggi nilai ketepatan optimasinya (Anderson and Patrick, 2005; Rasyid *et al.*, 2016; Bezzera *et al.*, 2008). Hal tersebut dikarenakan *desirability* yang dihasilkan pada penelitian ini cukup kecil yaitu hanya sebesar 0.142 atau 14.2% dan dua respon dari 3 respon menunjukkan model linear maka penelitian ini tidak menghasilkan solusi optimum. Ketiadaan solusi optimum pada penelitian ini, maka tidak dapat dilakukan verifikasi data.

Model respon terbesar pada Tabel 6 diperoleh dengan memilih *desirability* tertinggi. Respon terbesar yang diperoleh pada penelitian ini terdapat pada konsentrasi NH_4Cl 4 M dan lama ekstraksi atau maserasi 24 jam dengan kadar glukosamin 858.772

Tabel 5. Batas optimasi respon kadar, pH, dan rendemen glukosamin

Kriteria	Nama	Tujuan	Batas		Kepentingan
			Bawah	Atas	
Faktor	Konsentrasi NH ₄ Cl (M)	Is in range	2	4	3 (penting)
Faktor	Lama Ekstraksi (jam)	Is in range	6	24	3 (penting)
Respon	Kadar Glukosamin (ppm)	Maximize	0	11000	3 (penting)
Respon	Rendemen (%)	Maximize	0	1.1	3 (penting)
Respon	pH	Is in range	3.5	5	3 (penting)

Tabel 6. Model respon terbesar hasil komputasi *design-expert* DX 7.1.6

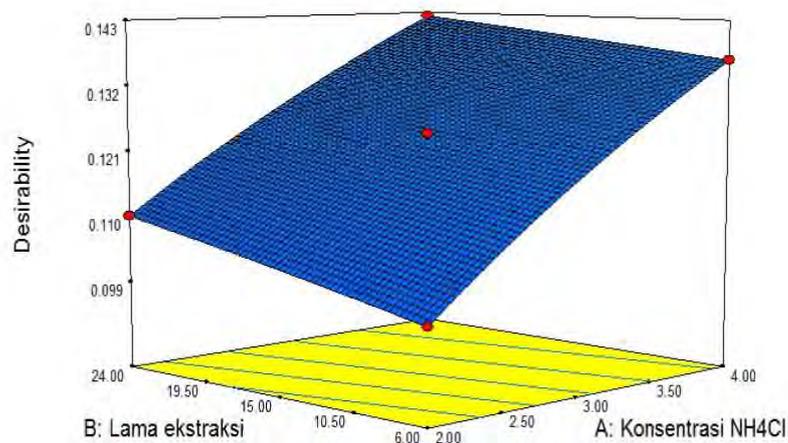
Kriteria	Nama	Nilai
Faktor	Konsentrasi NH ₄ Cl (M)	4
Faktor	Lama Ekstraksi (jam)	24
Respon	Kadar Glukosamin (ppm)	858.772
Respon	Rendemen (%)	0.285
Respon	pH	4.383
<i>Desirability</i>	-	0.142

Design-Expert® Software

Desirability



X1 = A: Konsentrasi NH₄Cl
 X2 = B: Lama ekstraksi



Gambar 4. Model respon terbesar

ppm, pH glukosamin 4.383 dan rendemen glukosamin 0.285%. Hal ini sesuai dengan penelitian Courtois *et al.* (2008) bahwa konsentrasi minimum (4 M) garam ammonium sangat berpengaruh terhadap ekstraksi glukosamin dan waktu ekstraksi minimum 10 jam akan dapat mengoptimalkan ekstraksi glukosamin. Selain itu, kecilnya rendemen dan kadar glukosamin dipengaruhi oleh kandungan glukosamin pada bahan dan kemampuan penetrasi garam ammonium pada tanaman.

Ekstrak glukosamin hasil respon terbesar ini memiliki ciri fisik larut dalam air, sedikit larut dalam methanol, dan berwarna coklat. Dapat diketahui bahwa glukosamin larut dalam air. Hal ini sesuai dengan ciri fisik glukosamin yang memiliki kelarutan yang baik pada air. Oleh karena itu, dapat dengan mudah diekstraksi dengan pelarut air (Horton dan Wander, 1980). Demikian pula dengan kelarutan dalam methanol, glukosamin larut dalam methanol. Namun pada penelitian ini, ekstrak glukosamin kotor sedikit larut dalam methanol, yang artinya masih terdapat pengotor selain glukosamin pada ekstrak. Ekstrak glukosamin juga memiliki warna coklat. Hal ini juga memberikan alasan bahwa masih banyak pengotor pada ekstrak.

SIMPULAN

Model hubungan pengaruh antara konsentrasi NH_4Cl dan lama waktu perendaman terhadap kadar dan rendemen glukosamin siwalan adalah model linier, sehingga tidak bisa ditentukan solusi optimum untuk masing-masing faktor. Namun yang ditemukan adalah respon terbesar yang terdapat pada konsentrasi NH_4Cl 4 M dan lama perendaman 24 jam dengan kadar glukosamin 858.772 ppm, pH glukosamin 4.383 dan rendemen glukosamin 0.285%. Ekstrak glukosamin hasil respon terbesar ini memiliki ciri fisik larut dalam air, sedikit larut dalam methanol, dan berwarna coklat.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, MJ, and Patrick JW. 2005. *RSM Simplified Optimizing Processes Using Response Surface Mathodes for Design Experiments*. Productivity Press, New York
- Anderson, J, W, Nicolosi, R, J, Borzelleca, J, F. 2005. Glucosamine effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy. *J. Food and Chemical Toxicology*. 43:187-201
- Anonim. 2015. Manfaat Buah Siwalan Bagi Kesehatan. Dilihat 13 April 2015. <http://www.manfaatbuah.asia/buah/kandungan-nutrisi-dan-manfaat-buah-siwalanlontar-untuk-kesehatan/>
- Bayton, R, P. 2007. A revision of *Borassus L (Areaceae)*. *Kew Bulletin*. 62(4):561-585
- Bezerraa, M, A, Santelli a, R, E, Oliveiraa, E, P, Villar, L, S, Escalera´a, L, A. 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*. 76:965-977
- Biggee, B, A, Blinn, C, M, McAlindon, T, E, Nuite, M, Silbert, J, E. 2006. Low levels of human serum glucosamine after ingestion of glucosamine sulphate relative to capability for peripheral effectiveness. *Ann Rheum Dis*. 65(2):222-226
- Courtois, D, Stephane, M, and Eric, G. 2008. *Production of glucosamine from plant species*. United States Patent 8378090 B2
- Dhyantari, O, Milala, C, T, Widyaningsih, T, D. 2015. Efek antiinflamasi dari ekstrak glukosamin ceker ayam pada tikus wistar jantan yang diinduksi karagenan. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(3):888-895
- Ernawati. 2012. Pembuatan Glukosamin Hidroklorida (GlcN HCl) dengan Metode Autoklaf. Skripsi. IPB. Bogor
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid 1*. Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta
- Horton, Derek, and Wander, JD. 1980. *The Carbohydrates Vol 1B*. Academic Press, New York
- Keerthi, A, A, P, Jansz, E, R, Ekanayake, S, and Premakumara, G, A, S. 2009. The Synergistic Neurotoxins of Palmirah (*Borassus flabellifer*). *Int. J. Biol. Chem. Sci*. 3(2):255-265
- Laverty, S, Sandy, J, D, Celeste, C, Vachon, P, Marier, J, F, Plaas, A, H. 2005. Synovial fluid levels and serum pharmacokinetics in a large animal model following treatment with oral glucosamine at clinically relevant doses. *Arthritis Rheum*. 52(1):181-191

- Mojarrad, J, S, Nemati, M, Valizadeh, H, Ansarin, M, Bourbour, S. 2007. Preparation of glucosamine from exoskeleton of shrimp and predicting production by response surface methodology. *J. Agric. Food. Chem.* 55(6):2246-2250
- Rasyid, M, F, A, Salim, M, S, Akil, H, M, Ishak, Z, A, M. 2016. Optimization of processing conditions via response surface methodology (RSM) of non-woven flax fibre reinforced acrodur biocomposites. *Procedia Chemistry.* 19:469-476
- Shaoxing Biotech Chemical. 2015. D-Glucosamine Hydrochloride. Dilihat 28 November 2015. <http://www.biocchemicals.cn/D-Glucosamine_Hydrochloride.html>
- Syafril, RSP. 2006. Evaluasi Keberadaan Glukosamin Pada Tempe Kedelai Murni. Skripsi. IPB. Bogor