

Perjanjian No. : III/LPPM/2013-03/03-P

LAPORAN PENELITIAN

Ekstraksi Batang Physalis Angulata dengan Air Subkritik



Disusun Oleh :
Ratna Frida Susanti, Ph.D
Sartika Garini, ST.
Ignatius Jeremy Renaldo
Rachel Ananda, ST.
Ashanty Stenny

Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Katolik Parahyangan
2013

DAFTAR ISI

Daftar isi	1
Abstrak	2
Bab I. Pendahuluan	3
1.1 Latar Belakang	3
1.2 Tujuan Percobaan	4
1.3 Urgensi Penelitian	4
Bab II. Tinjauan Pustaka	5
2.1 Physalis Angulata	5
2.2 Ekstraksi dengan Air Subkritik (Subcritical Water Extraction)	6
2.2.1 Sifat Fisik Air	6
2.2.2 Mekanisme Ekstraksi	7
2.2.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi Ekstraksi dengan Fluida Subkritik	8
2.3 Antioksidan	9
Bab III. Metode Penelitian	10
3.1 Prosedur Penelitian	10
3.1.1 Persiapan Bahan Baku	10
3.1.2 Penelitian Utama	11
3.1.2.1 Ekstraksi dengan Air Subkritik	11
3.1.2.2 Ekstraksi konvensional	12
3.2 Prosedur Analisis	14
3.2.1 Analisa Kadar Air	14
3.2.2 Screening Fitokimia	14
3.2.3 Analisa Kuantitatif	15
3.2.4 Analisa Aktivitas Antioksidan	15
Bab IV. Jadwal Pelaksanaan	16
Bab V. Pembahasan	17
Bab VI. Kesimpulan	25
Daftar Pustaka	26

ABSTRAK

Physalis angulata adalah jenis tanaman obat yang dikenal dalam pengobatan tradisional sejak zaman dahulu. Secara klinis, tanaman ini terbukti memiliki banyak kandungan bioaktif. Dalam pengobatan tradisional, masyarakat merebus semua bagian dari tanaman ini dan kemudian diambil airnya untuk diminum. Pada penelitian ini, batang *physalis angulata* adalah bagian yang diteliti untuk diekstrak dengan menggunakan air subkritik. Meskipun terbukti bahwa *physalis angulata* memiliki banyak kandungan bioaktif, belum ada penelitian yang detail tentang cara ekstraksi tanaman ini. Kebanyakan ekstrak diambil dengan menggunakan pelarut organik (methanol, ethanol) dengan menggunakan metode maserasi.

Air dalam kondisi biasa yang merupakan pelarut polar, ternyata bersifat kurang polar pada suhu dan tekanan tinggi dan bisa diatur kepolarannya menyerupai pelarut organik dengan mengubah suhu dan tekanannya. Sehingga keunikan air ini digunakan dalam ekstraksi yang disebut *subcritical water extraction* atau *pressurized water extraction* (ekstraksi dengan fluida subkritik). Pada penelitian ini, batang *physalis angulata* diekstrak dengan menggunakan metode ekstraksi subkritik. Variabel yang diteliti adalah suhu, tekanan dan waktu reaksi. Ekstrak yang diperoleh dianalisis kandungannya dan diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Penelitian ini diharapkan menjadi penelitian awal untuk menguji keefektifan metode ekstraksi subkritik untuk mengambil komponen bioaktif dari *physalis angulata*.

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ekstraksi dengan fluida subkritik (*Subcritical Water Extraction/Pressurized Hot Water Extraction*) adalah metode ekstraksi ramah lingkungan karena hanya menggunakan air bertekanan pada suhu tinggi. Metode ini mempunyai banyak kelebihan dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional seperti ekstraksi Soxhlet, maserasi, maserasi kinetik dan lain-lain. Metode konvensional pada umumnya menggunakan pelarut organik dalam jumlah besar seperti metanol, etanol, benzen, heksan dan pelarut lainnya, yang notabene adalah pelarut organik yang berbahaya buat kesehatan. Contohnya, methanol dapat menyebabkan kebutaan dan kematian apabila tertelan, heksan bersifat karsinogenik dan lain-lain. Saat ini, penggunaan pelarut organik untuk makanan dan obat-obatan sangat dibatasi. Penggunaan pelarut organik selain berbahaya bagi kesehatan juga menimbulkan limbah dalam jumlah besar sehingga memerlukan biaya ekstra untuk pengolahan limbah. Selain karena penggunaan pelarut organik, metode ekstraksi konvensional biasanya juga membutuhkan waktu yang relatif lama, seperti maserasi pada umumnya dilakukan selama 2x24 jam, Soxhlet selama ~18 jam, maserasi kinetik selama ~10 jam. Waktu yang lama dianggap tidak efektif, karena menggunakan energi dalam jumlah besar dengan kandungan dalam bahan yang rusak karena pemanasan yang lama.

Keuntungan ekstraksi dengan fluida subkritik yaitu pelarut yang digunakan adalah air, yang notabene relative lebih murah, bisa didaur ulang ataupun dibuang dengan dampak minimal. Term air subkritik mengacu pada air pada suhu antara 100-374°C pada tekanan moderat yang menjaga fase air pada kondisi liquid. Dalam rentang kondisi ini, air bertindak sebagai pelarut nonpolar sampai polar tergantung kondisi operasi, karena konstanta dielektrik yang merupakan parameter kepolaran berubah-ubah sesuai suhu dan tekanan. Dengan demikian kondisinya dapat diatur untuk menyesuaikan dengan komponen yang mau diambil. Selain itu ekstraksi dengan metode air subkritik ini dilakukan dalam waktu yang relatif singkat (menit).

Genus *Physalis* (Solanaceae) memiliki sekitar 90 spesies tersebar di negara tropis dan subtropis di seluruh dunia dan telah dikenal secara luas dalam pengobatan tradisional. Spesies seperti *P. philadelphica*, *P. peruviana*, *P. grisea*, *P. chenopodifolia*, *P. coztomatl*, and *P. angulata* tumbuh secara liar dan diambil buahnya untuk dimakan. Salah satu spesies yang tumbuh di Indonesia adalah *Physalis angulata*, atau dikenal dengan nama ceplukan. Ceplukan atau ciplukan dikenal dengan berbagai nama daerah (lokal) seperti *keceplok*, *ciplukan* (Jawa), *nyornyoran*, *yoryoran*, (Madura), *cecendet*, *cecendetan*, *cecenetan* (Sunda), *kopok-*

kopokan, kaceplokan, angket (Bali) dan lain-lain. Dalam pengobatan tradisional dan modern, *physalis angulata* digunakan sebagai obat untuk berbagai macam penyakit hepatitis, asma, malaria, dermatitis, reumatik, hipertensi dan memiliki antibakteri, antioksidan antipyretic dll. Banyak penelitian yang dipublikasikan dalam jurnal-jurnal ilmiah yang mengevaluasi kandungan fitokimia dan farmasi dari tumbuhan ini. Aktif komponen yang ditemukan dalam ekstrak *physalis angulata* adalah physalin (physalin A, B, D, F, G, I, J, T, U, V, W), physangulin, withangulin (A, B), physanolide A, physangulidines (A, B, C), phytosterol and flavanoid glycoside (myricetin 3-O-neohesperidoside). Akan tetapi, sejauh ini penelitian tentang metode ekstraksi *physalis angulata* sangat terbatas. Penelitian untuk uji ekstrak tumbuhan ini, pada umumnya menggunakan ekstraksi dengan pelarut metanol/etanol dengan metode maserasi.

1.2 Tujuan Percobaan

1. Mengetahui keefektifan metode ekstraksi dengan fluida subkritik untuk mengambil ekstrak dari batang *physalis angulata*
2. Menentukan kondisi optimum (suhu, tekanan dan waktu reaksi) untuk pengambilan ekstrak batang *physalis angulata*
3. Menguji aktivitas antioksidan dan uji fitokimia ekstrak batang *physalis angulata*

1.3 Urgensi Penelitian

Penelitian ini diharapkan akan menjadi penelitian awal pengembangan ekstraksi *Physalis angulata* untuk keperluan farmasi. Penggunaan air sebagai pelarut pada kondisi subkritik menjanjikan kualitas ekstrak bebas pelarut organik yang bisa dikonsumsi secara aman oleh manusia.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Physalis Angulata*

Physalis angulata merupakan salah satu tumbuhan herbal yang hidup semusim dan mempunyai tinggi sekitar 1 meter. Tumbuhan ini hidup secara liar di kebun, ladang, sawah dan hutan. Bentuk tumbuhan ini dapat dilihat di gambar 2.1. Batang ciplukan berongga dan bersegi tajam. Daun ceplukan berbentuk lonjong dengan ujungnya yang meruncing. Tepi daun terkadang rata terkadang tidak dengan panjang daun antara 5-15 cm dan lebar 2-10 cm. Bunga ceplukan (*Physalis angulata*) terdapat di ketiak daun, dengan tangkai tegak berwarna keunguan dan dengan ujung bunga yang mengguk. Kelopak bunga berbagi lima, dengan taju yang bersudut tiga dan meruncing. Mahkota bunga menyerupai lonceng, berlekuk lima berwarna kuning muda dengan noda kuning tua dan kecoklatan di leher bagian dalam. Benang sari berwarna kuning pucat dengan kepala sari biru muda. Buah ciplukan (*Physalis angulata*) terdapat dalam bungkus kelopak yang menggelembung berbentuk telur berujung meruncing berwarna hijau muda kekuningan, dengan rusuk keunguan, dengan panjang sekitar 2-4 cm. Buah buni di dalamnya berbentuk bulat memanjang berukuran antara 1,5-2 cm dengan warna kekuningan jika masak. Rasa buah ciplukan manis dan kaya manfaat sebagai herbal. Ceplukan atau ciplukan dikenal dengan berbagai nama daerah (lokal) seperti *keceplukan*, *ciciplukan* (Jawa), *nyornyoran*, *yoryoran*, (Madura), *cecendet*, *cecendetan*, *cecenetan* (Sunda), *kopok-kopokan*, *kaceplukan*, *angket* (Bali), *lelelep* (sebagian Sumatra), *lelelokan* (Minahasa), *Kenampok*, *dedes* (Sasak), *lapunonot* (Tanimbar, Seram), *daun kopo-kopi*, *daun loto-loto*, *padang rase*, *dagameme*, *angket*, *dededes*, *daun boba*, dan lain-lain. Dalam bahasa Inggris dikenal sebagai *cutleaf groundcherry*, *wild tomato*, *camapu*, dan *winter cherry*.

Daun Ciplukan (*Physalis angulata*) bermanfaat sebagai obat penyembuhan patah tulang, busung air, bisul, borok, penguat jantung, keseleo, nyeri perut, dan kencing nanah. Sedangkan buah ciplukan sendiri sering dimakan langsung untuk mengobati epilepsi, sulit buang air kecil, dan penyakit kuning.

Pada pohon ceplukan mengandung senyawa-senyawa aktif yang ada antara lain saponin (pada tunas), flavonoid (daun dan tunas), polifenol, dan fisalin (buah), Withangulatin A (buah),

asam palmitat dan stearat (biji), alkaloid (akar), Chlorogenik acid (batang dan daun), tannin (buah), kriptoxantin (buah), vitamin C dan gula (buah).



Gambar 2.1. Physalis Angulata

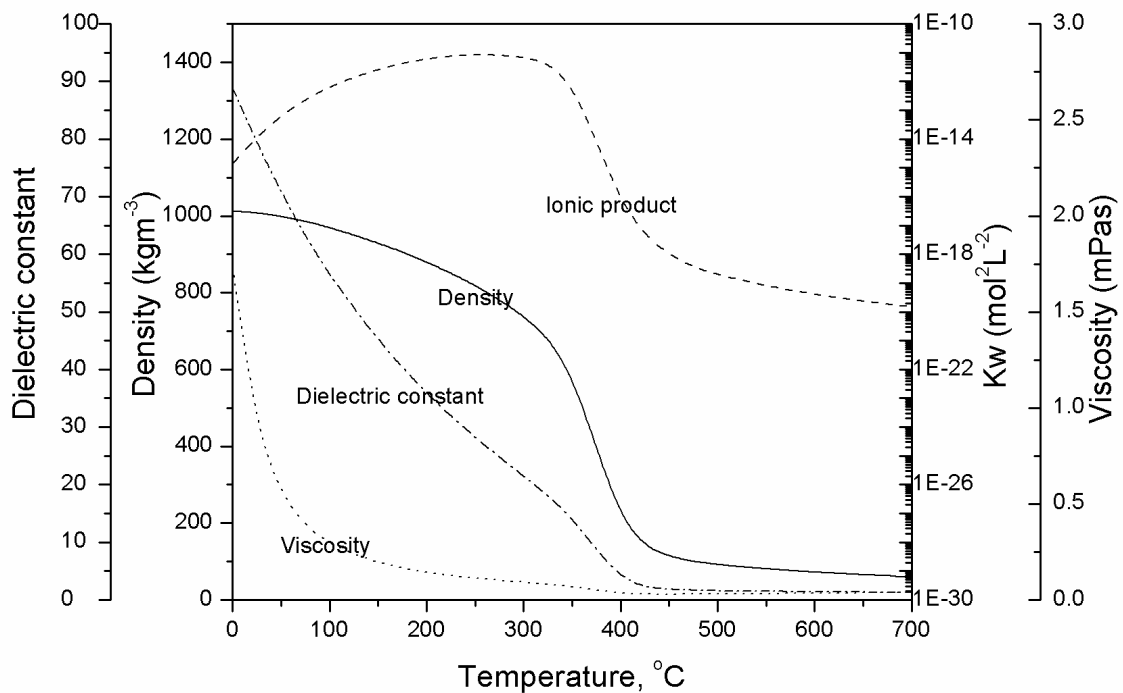
2.2 Ekstraksi dengan Air Subkritik (Subcritical Water Extraction)

Aplikasi dari ekstraksi dengan menggunakan air pada kondisi tekanan dan suhu tinggi pertama kali dilakukan oleh Hawthorne dan tim untuk mengekstrak kandungan polar dan nonpolar dari tanah pada tahun 1994. (Hawthorne, S. B. et al, 2010) Publikasi yang mereka lakukan telah mengubah persepsi banyak orang bahwa air yang sangat polar bisa dirubah menjadi pelarut yang memiliki sifat sama dengan pelarut organik yang bisa mengekstrak komponen organik pada suhu dan tekanan tertentu. *Subcritical Water Extraction* (ekstraksi dengan air subkritik) disebut pula sebagai *pressurized hot water extraction* atau *superheated water* (“*near critical water*” atau *high temperature*) *extraction*. Istilah ekstraksi dengan air

subkritik mengacu pada kondisi antara suhu 100°C (titik didih air) sampai dengan 374 °C dimana air masih dalam kondisi cair, yaitu pada tekanan tertentu. Contohnya minimal 15 bar pada suhu 200 °C dan minimal 85 bar pada 300 °C (Teo et al, 2010).

2.2.1. Sifat fisik air

Air memiliki sifat sangat polar, pada kondisi ruang nilai konstanta dielektrik air adalah 80. Sehingga air dikenal tidak bisa mengekstrak komponen-komponen nonpolar/ organik pada suhu ruang. Akan tetapi seperti terlihat pada gambar 2.2, dengan semakin meningkatnya suhu, nilai konstanta dielektrik menurun yang diikuti oleh menurunnya kekentalan dan densitas air tetapi meningkatnya difusivitas (Weingartner and Franck, 2005) Sehingga air pada suatu kondisi tertentu bisa memiliki konstanta dielektrik mirip dengan metanol/etanol, misalnya pada 250°C dan 50 bar, konstanta dielektrik (ϵ)nya 27 yaitu antara metanol ($\epsilon=33$) dan etanol ($\epsilon=24$)(Weingartner and Franck, 2005)



Gambar 2.2 Sifat fisik air sebagai fungsi suhu pada tekanan 250 bar (Ohmori T., 2004)

2.2.2 Mekanisme ekstraksi

Mekanisme ekstraksi dengan menggunakan air subkritik dapat dijabarkan dalam langkah-

langkah: (Hawthorne et al, 1994; Kronholm et al, 2007; Ong et al, 2006)

1. Desorpsi solut dari berbagai tempat aktif di dalam matrik sampel pada tekanan dan suhu tinggi
2. Difusi pelarut ke matrik
3. Tergantung sampel matrik, solute mungkin memisahkan diri dari sampel matrik ke pelarut dan akhirnya mengalir keluar dari sel ekstraktor dan ditampung dalam vial

2.2.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi Proses Ekstraksi dengan Fluida Subkritik

Faktor-faktor utama yang mempengaruhi selektivitas dan efisiensi ekstraksi antara lain suhu, tekanan, waktu ekstraksi dan modifier/aditif.

Suhu

Suhu adalah faktor utama yang mempengaruhi efisiensi ekstraksi dan selektivitas dalam ekstraksi dengan air subkritik. Suhu mempengaruhi sifat fisik air dan juga menentukan kekuatan analit pada proses dekomposisi/hidrolisis. Suhu reaksi pada umumnya diatas titik didih air, karena keuntungan-keuntungan seperti difusivitas yang tinggi, viskositas dan tegangan permukaan yang rendah tercapai pada suhu yang relatif tinggi. Naiknya tekanan uap dan cepatnya desorpsi panas senyawa target dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi (Budrat and Shotipruk, 2009). Suhu tinggi juga membuat properti air berubah dan membuat kepolaran air makin mendekati komponen nonpolar, sehingga mampu meningkatkan kelarutan senyawa-senyawa kurang polar dalam air. Akan tetapi degradasi komponen dan intensitas reaksi seperti hidrolisis dan oksidasi semakin besar dengan bertambahnya suhu.

Herbisida terbukti terdegradasi pada suhu yang relatif rendah diatas 120°C. (Chienthavorn, et al., 2007) Antioksidan seperti vitamin C juga terdegradasi sekitar 35 °C. Komponen bioaktif dari tumbuhan mungkin memiliki sifat nonpolar atau polar dan labil secara thermal. Untuk mengekstrak komponen nonpolar dari tumbuhan, kenaikan suhu sampai 200°C mungkin diperlukan. Akan tetapi degradasi senyawa target pada suhu tinggi perlu diwaspadai.

Tekanan

Tekanan memiliki efek yang kurang signifikan terhadap efisiensi ekstraksi. Efek dari tekanan adalah dalam menguahkan fase air. Tekanan rata-rata seperti 15 bar pada 200°C dan 85 bar pada 300°C diperlukan untuk menjaga air tetap pada kondisi cairnya. Contohnya

memvariasikan tekanan tidak mengubah recovery minyak esensial dari tanaman obat dan ginsenosides dari ginseng amerika (Denga et. Al, 2004; Deng et. Al, 2005)

Modifier/aditif

Penambahan modifier organic atau nonorganic memungkinkan kenaikan kelarutan komponen di air. Modifier tersebut mungkin mnegubah sifat air pada suhu tinggi. Contoh modifier adalah ammonia, ethanol (Mukhopadhyay and Panja, 2008; Arapitras and Turner, 2008)

2.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan zat yang mampu melindungi sel melawan kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas (*Reactive Oxygen Species*). Antioksidan mempunyai banyak manfaat bagi kehidupan manusia, diantaranya yaitu:

- a. Memperkuat kekebalan tubuh agar tahan terhadap flu, virus, dan infeksi.
- b. Mengurangi kejadian semua jenis kanker.
- c. Mencegah terjadinya glukoma dan degenerasi makular.
- d. Mengurangi risiko terhadap oksidasi kolestrol dan penyakit jantung.
- e. Anti-penuaan dari sel dan keseluruhan tubuh.
- f. Melindungi sel dari perlawanan peroksidasi lemak didalam sel.
- g. Mencegah terjadinya kerusakan sel tubuh.

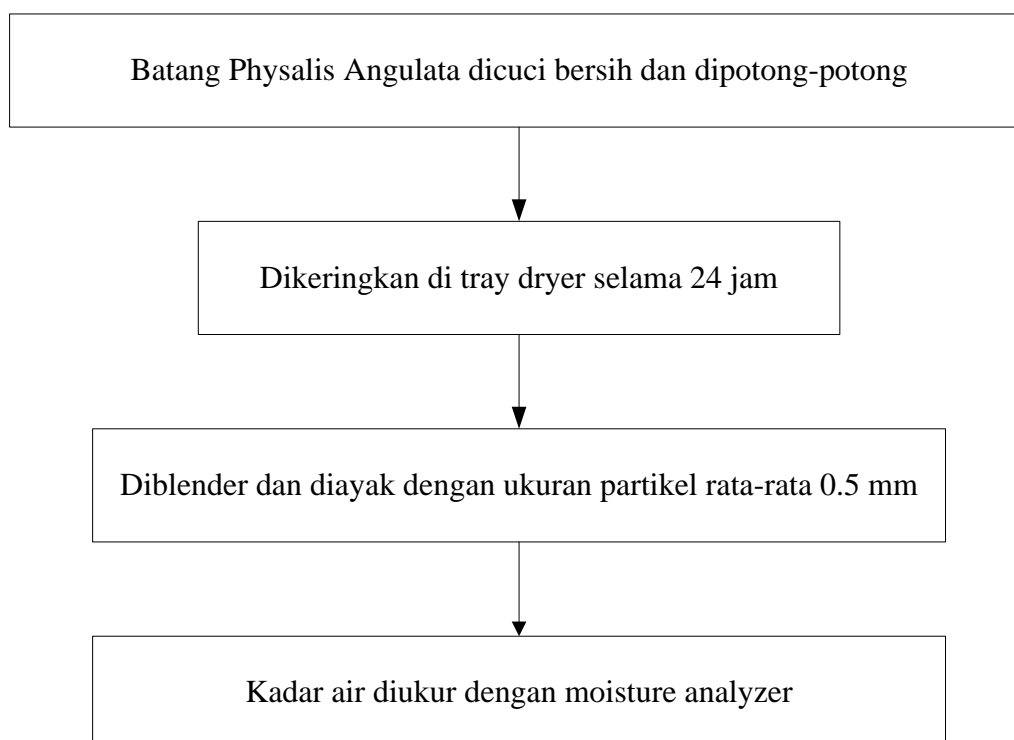
Berdasarkan asalnya, antioksidan terdiri atas antioksidan yang berasal dari dalam tubuh (endogen) dan dari luar tubuh (eksogen). Adakalanya sistem antioksidan endogen tidak cukup mampu mengatasi stres oksidatif yang berlebihan. Stres oksidatif merupakan keadaan saat mekanisme antioksidan tidak cukup untuk memecah spesi oksigen reaktif. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan dari luar (eksogen) untuk mengatasinya. Antioksidan didapat dari buah-buahan seperti anggur, buah berry, buah prem yang dikeringkan, buah sitrus dan apel. Selain buah-buahan, sumber antioksidan lain adalah sayur-sayuran, diantaranya tomat, brokoli, jamur, kubis putih, kembang kol, bawang putih, buncis, umbi manis, jagung, sayur hijau, bayam dan bawang bombay. Tumbuh-tumbuhan herbal dan rempah-rempah serta kacang kedelai dan teh juga merupakan sumber antioksidan yang penting. Sumber-sumber antioksidan juga dapat berasal dari vitamin A, C, E, karotenoid dan selenium.

BAB III. METODE PENELITIAN

Penelitian ini akan dilakukan di laboratorium Teknik Kimia dan Laboratorium Rekayasa Proses, Jurusan Teknik Kimia, Universitas Katolik Parahyangan.

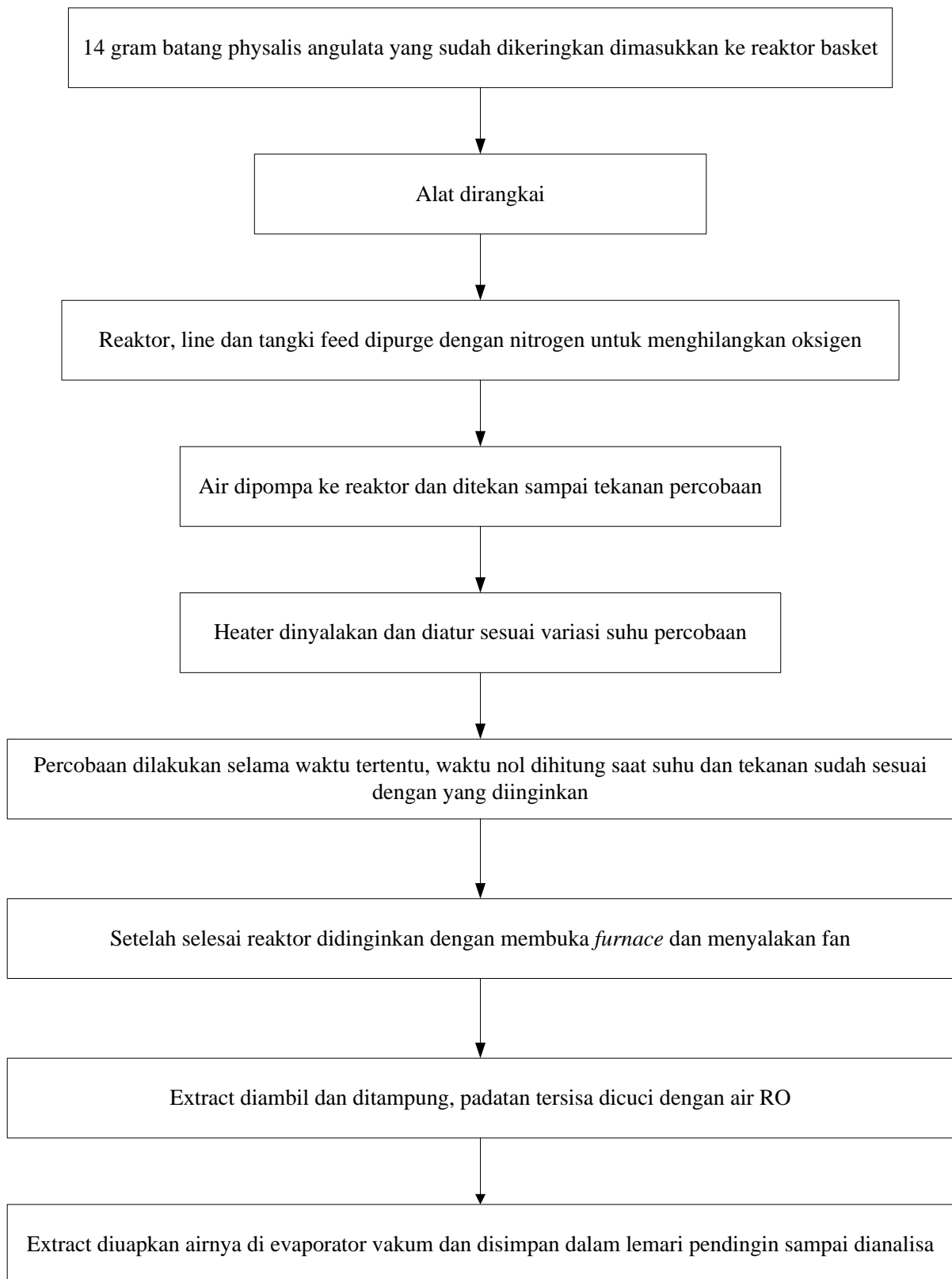
3.1 Prosedur Penelitian

3.1.1. Persiapan Bahan Baku



3.1.2 Penelitian utama

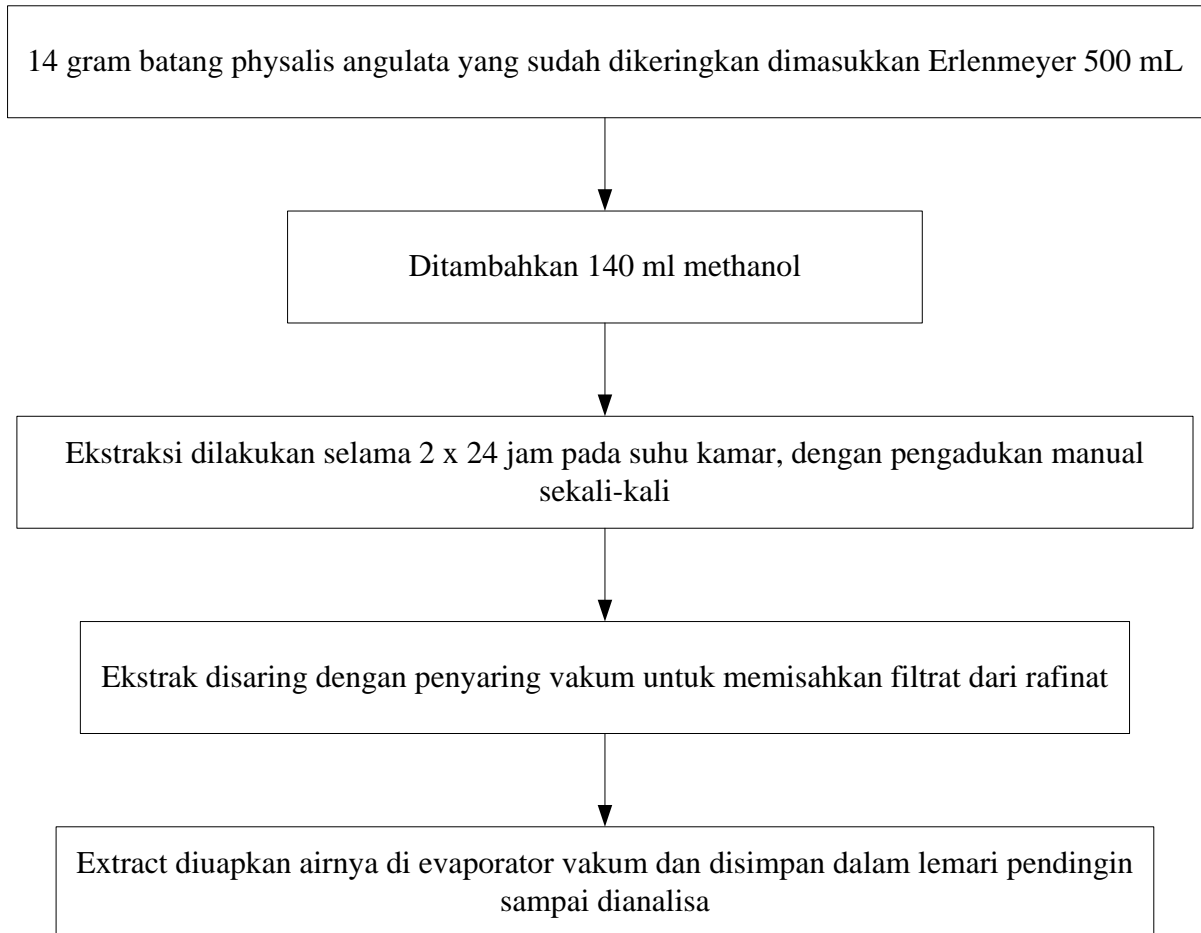
3.1.2.1 Ekstraksi dengan Air Subkritik



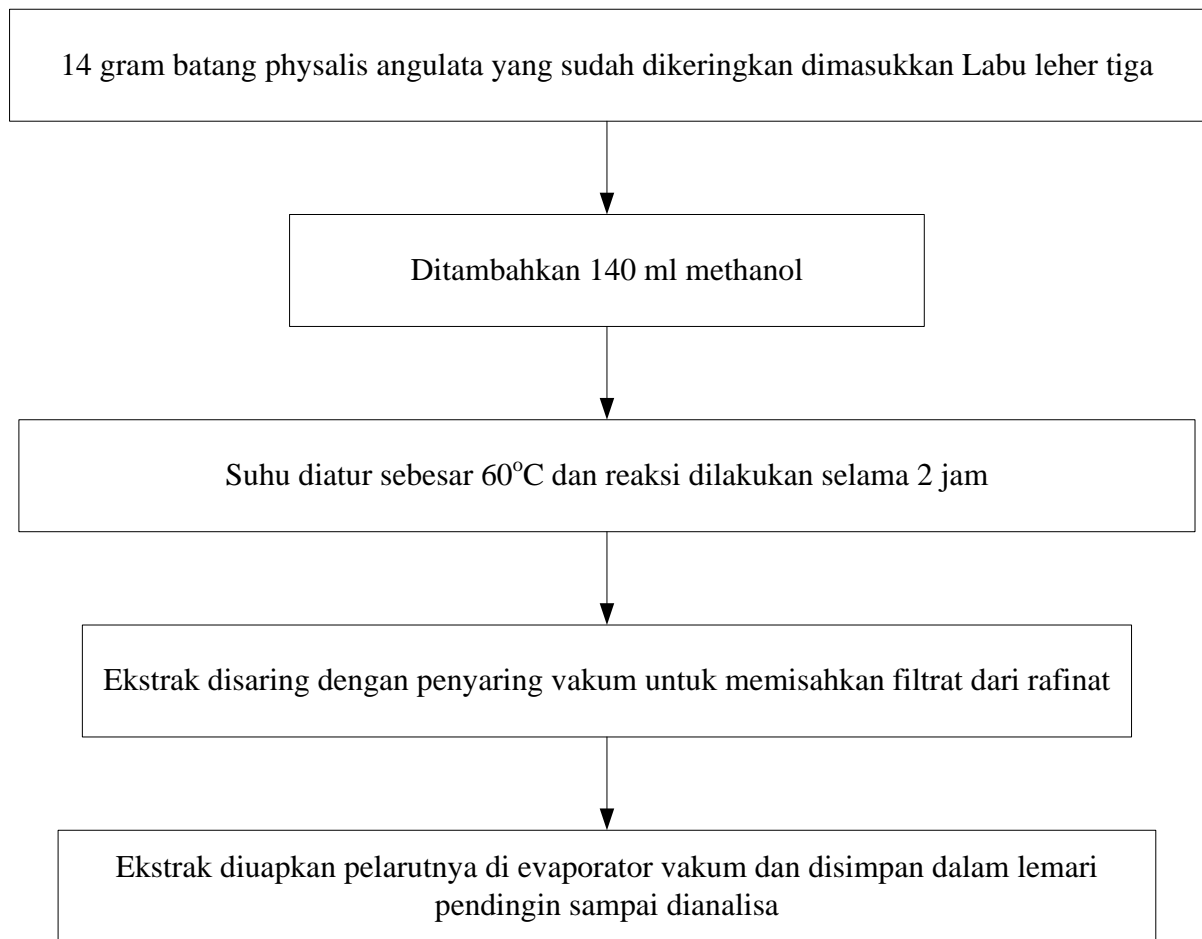
3.1.2.2 Ekstraksi Konvensional

Hasil dari ekstraksi Subkritik dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan solven organik.

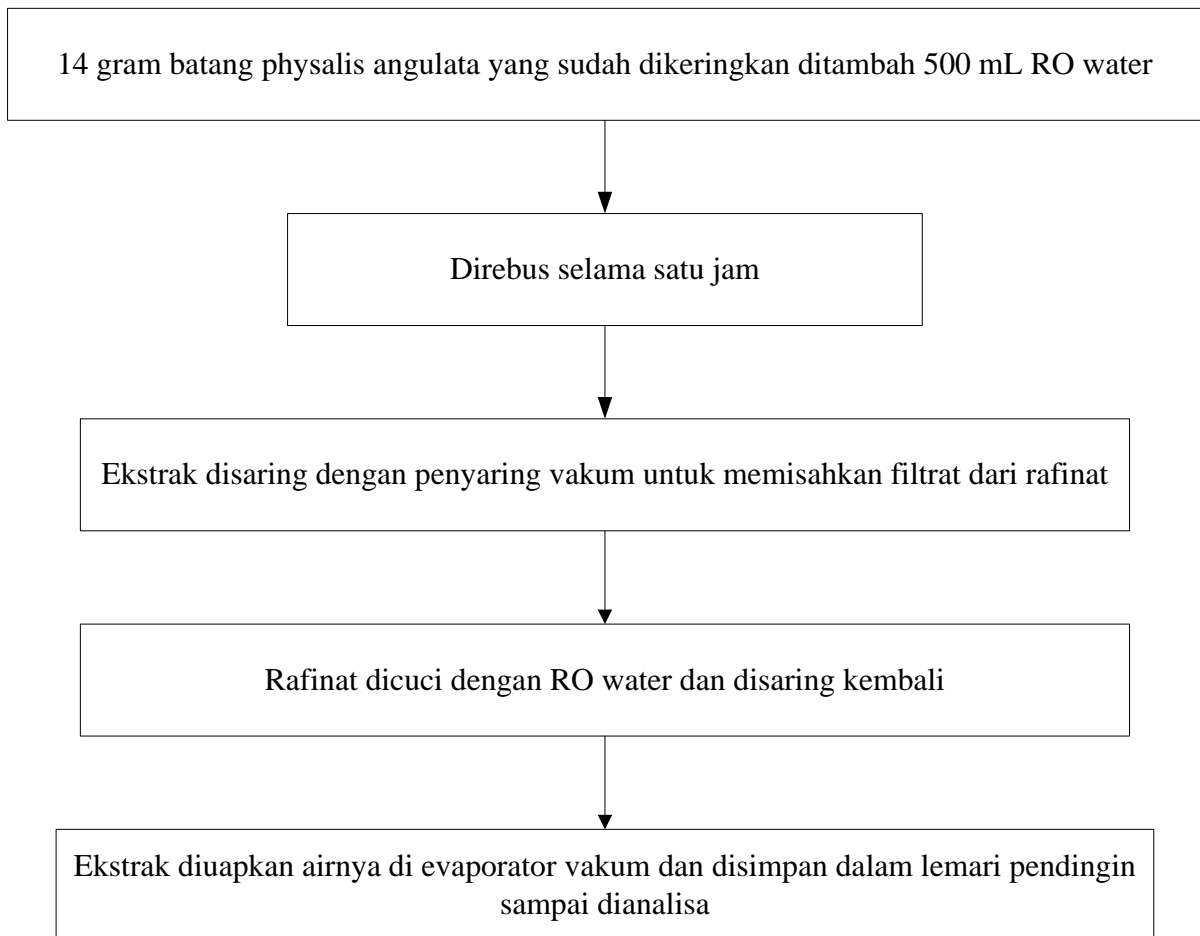
Maserasi



Kinetik maserasi



Ekstraksi dengan air panas



3.2 Prosedur Analisis

3.2.1 Analisa kadar air

Kadar air pada batang *physalis angulata* setelah proses pengeringan diukur dengan alat moisture analyzer

3.2.2 Screening Fitokimia

Analisis fitokimia ini bertujuan untuk menguji keberadaan senyawa antioksidan secara kualitatif. Uji ini ditujukan untuk mendeteksi keberadaan senyawa alkaloid, saponin, tanin, klorofil, flavanoid, steroid, terpenoid. Hasil dari uji ini hanya berupa positif dan negatif; positif apabila ada kandungan senyawa di ekstrak, negatif apabila tidak ada. Uji ini dilakukan dengan penambahan zat tertentu dan dilihat perubahan

warnanya.

3.2.3 Analisis Kuantitatif

Apabila screening fitokimia menunjukkan positif mengandung senyawa-senyawa antioksidan tersebut, maka uji kuantitatif dilakukan dengan metode sebagai berikut:

No	Uji	Metode	Alat
1	Total fenol	Folin-Ciocalteu	spectrophotometer
2	Flavanoid	Calorimetry	spectrophotometer
3	Tanin	Van Burden and dan Robinson	spectrophotometer
4	Alkaloid	Harborne	Gravimetri
5	Saponin	Obadoni dan Ochuko	Gravimetri

3.2.4 Analisis Aktivitas Antioksidan

Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini adalah metode DPPH. Metode DPPH didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk menghambat radikal bebas dengan mendonorkan atom H. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidra-zil (DPPH) sebagai radikal bebas.

Caranya :Ekstrak yang dilarutkan ke methanol dengan konsentrasi tertentu ditambahkan reagen DPPH dengan jumlah tertentu , diinkubasi dan diukur absorbansinya dnegan UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm

BAB IV. JADWAL PELAKSANAAN

Aktivitas penelitian	Januari	Februari	Maret	April	Mei	Juni	Juli	Agust	Sept	Oktober	Nov	Des
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Persiapan												
Seting alat dan tes												
Persiapan bahan baku												
Analisis awal bahan baku												
Eksperimen												
Ekstraksi dengan air subkritik												
Ekstraksi konvensional												
1. Maserasi												
2. Maserasi kinetik												
3. Air panas												
4. Soxhlet												
Analisis												
Pengolahan data												
Publikasi dan penulisan laporan												
Presentasi dalam seminar ilmiah												
Pembuatan laporan kerja												

BAB IV. PEMBAHASAN

Antioksidan yang ada di tumbuh-tumbuhan dapat berupa senyawa dari golongan polifenol, flavanoid, senyawa fenolik dan lain-lain. Dalam penelitian ini, kami melakukan analisis fitokimia untuk meneliti senyawa fitokimia apa yang berada di ekstrak batang tanaman *Physalis Angulata* dan melakukan analisis untuk perhitungan kadar total fenol, flavanoid dan aktivitas antioksidan pada ekstrak batang *Physalis Angulata* yang diperoleh dari berbagai metode yaitu Ekstraksi dengan air subkritik dan metode konvensional seperti maserasi, ekstraksi dengan perebusan dan soxhlet.

Analisis Fitokimia

Tabel 1. Analisis fitokimia pada ekstrak batang *Physalis Angulata* yang diperoleh dengan berbagai metode

Metode	Fenol	Flavanoid	Tanin	Alkaloid	Saponin	Steroid
SWE 100oC	+	+	+	+	-	+
SWE 150oC	+	+	+	+	+	+
SWE 200oC	+	+	+	+	-	+
SWE 250oC	+	+	+	+	-	+
Maserasi-air	+	+	+	+	-	+
Maserasi-methanol	+	+	+	+	-	+
Perebusan	+	+	+	+	-	-
Soxhlet-air	+	+	+	+	-	+
Soxhlet-methanol	+	+	+	+	-	+

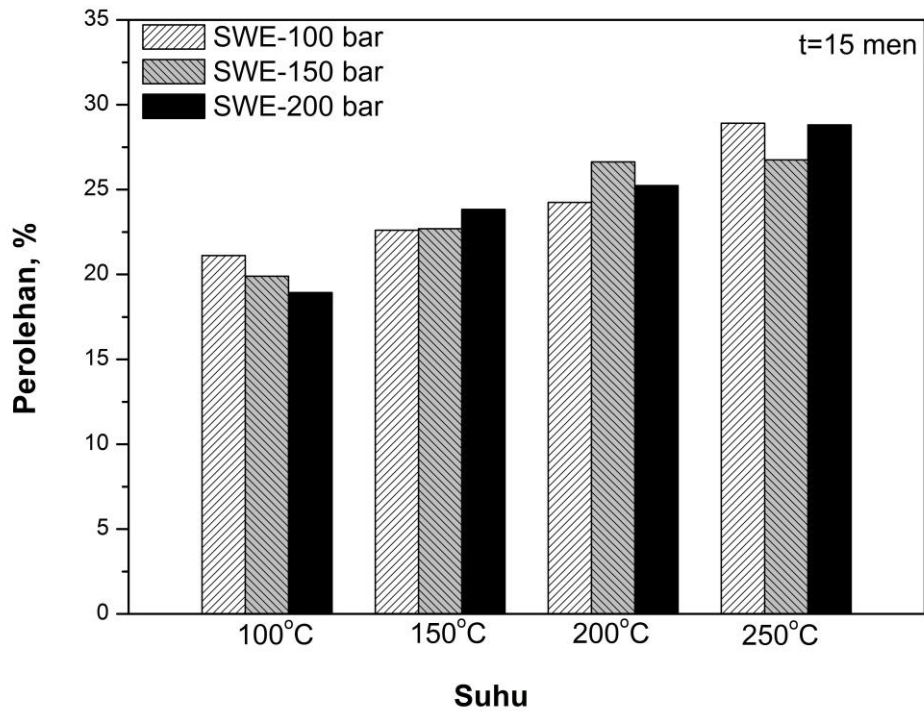
Analisis fitokimia yang dilakukan pada semua ekstrak yang diperoleh dengan berbagai metode yang disebutkan diatas menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh dari semua metode mengandung senyawa fenol, flavanoid, tannin dan alkaloid, seperti disajikan pada table 1. Dari semua metode yang dianalisis, hanya ekstraksi dengan air subkritik pada suhu 150° yang mampu mengekstrak saponin. Ekstraksi dengan perebusan gagal mengekstrak steroid, padahal senyawa bioaktif dari tanaman *Physalis Angulata* seperti *physalin* berasal dari golongan steroid. Sangat disayangkan karena ekstraksi dengan perebusan merupakan ekstraksi yang paling umum dilakukan oleh masyarakat secara luas. Semua senyawa fitokimia dikenal sebagai senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada tanaman

Ekstraksi dengan Air Subkritik

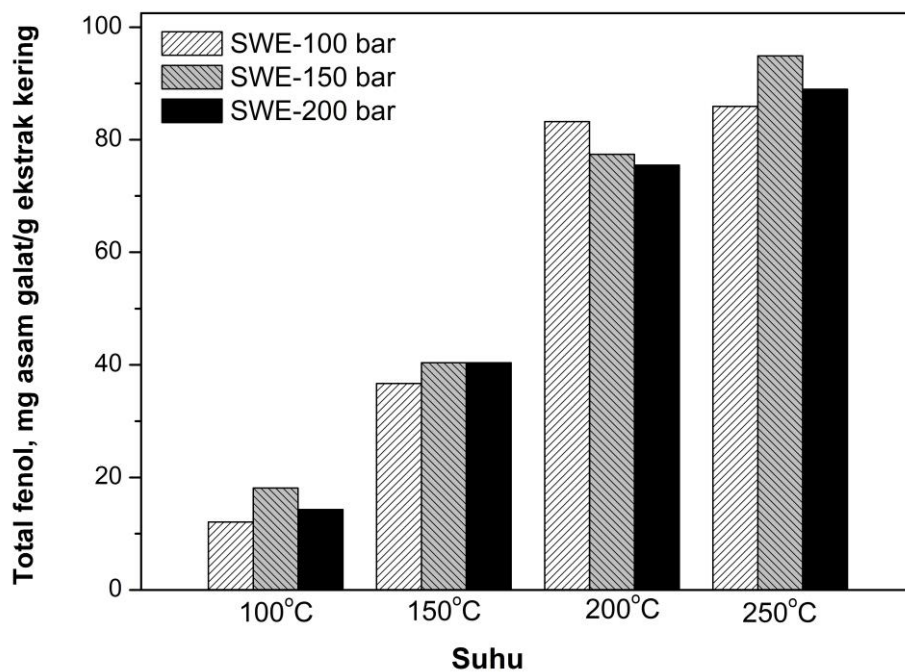
Serangkaian percobaan ekstraksi batang tanaman *Physalis Angulata* dengan menggunakan air subkritik dilakukan untuk mengetahui pengaruh berbagai kondisi seperti suhu, tekanan dan waktu reaksi terhadap perolehan/kadar, total phenol dan flavanoid serta aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas.

Pengaruh Suhu dan Tekanan

Suhu dan tekanan adalah dua variabel penting yang tidak bisa dipisahkan pada ekstraksi dengan air subkritik. Dua variabel tersebut akan menentukan seberapa kepolaran air pada kondisi subkritik. Pengaruh suhu dipelajari pada suhu 100 °C sampai dengan 250°C dan tekanan pada 100 bar sampai dengan 200 bar. Gambar 1 menunjukkan pengaruh suhu dan tekanan pada perolehan ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi batang *Physalis Angulata*. Dalam hal ini, perolehan didefinisikan sebagai berat ekstrak kering dibagi dengan berat bahan baku kering. Dari gambar 1 dapat dilihat bahwa seiring dengan naiknya suhu, perolehan ekstrak naik secara signifikan. Pada tekanan 200 bar dan waktu ekstraksi 15 menit, perolehan ekstrak naik dari 19% menjadi 29% saat suhu dinaikkan dari 100 °C sampai 250 °C. Pada umumnya, semakin banyak substansi/komponen akan terekstrak pada suhu yang lebih tinggi dikarenakan bertambahnya kelarutan substansi pada suhu tinggi. (Ozel et al., 2003). Akan tetapi tekanan terlihat tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap perolehan ekstrak.



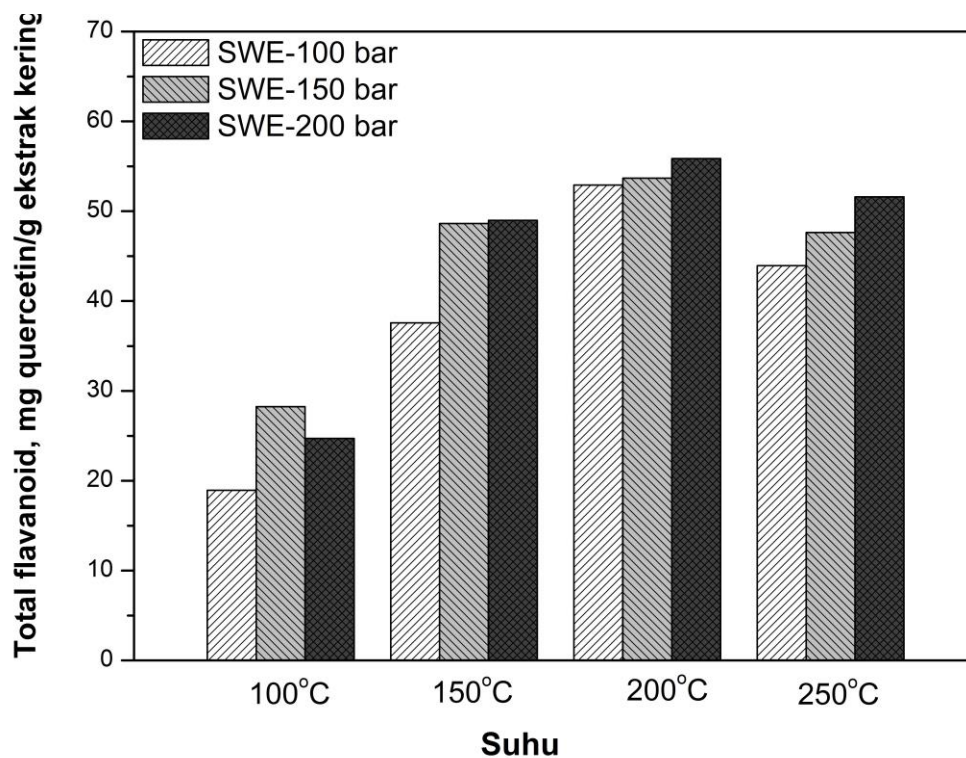
Gambar 1. Pengaruh suhu dan tekanan terhadap perolehan ekstrak pada ekstraksi batang *Physalis Angulata* dengan air subkritik selama 15 menit.



Gambar 2. Pengaruh suhu dan tekanan terhadap total fenol pada ekstraksi batang *Physalis Angulata* dengan air subkritik selama 15 menit.

Berbagai kondisi suhu dari 100 °C sampai dengan 250 °C dipelajari untuk melihat pengaruh

kepolaran pelarut terhadap perolehan fenol, flavanoid dan aktivitas antioksidan dari ekstrak batang *Physalis Angulata*. Hasil dari percobaan disajikan dalam gambar 2-4. Sebagaimana perolehan, total fenol memiliki kecenderungan positif terhadap suhu. Untuk rentang suhu 100 °C sampai 250°C, semakin tinggi suhu maka kadar phenol dalam ekstrak juga semakin naik. Dengan meningkatnya suhu dari 100°C menjadi 250°C, tetapan permisivitas (konstanta dielektrik) air turun dari 55 menjadi 27 (Ohmori, 2004). Ini berarti kepolaran pelarut turun, sehingga fenol menjadi lebih larut dalam air. Kelarutan quercetin dihydrate sebagai contoh naik secara drastis sebanyak 1000 kali dengan bertambahnya suhu dari 25°C menjadi 140°C.(Srinivas et al., 2010)

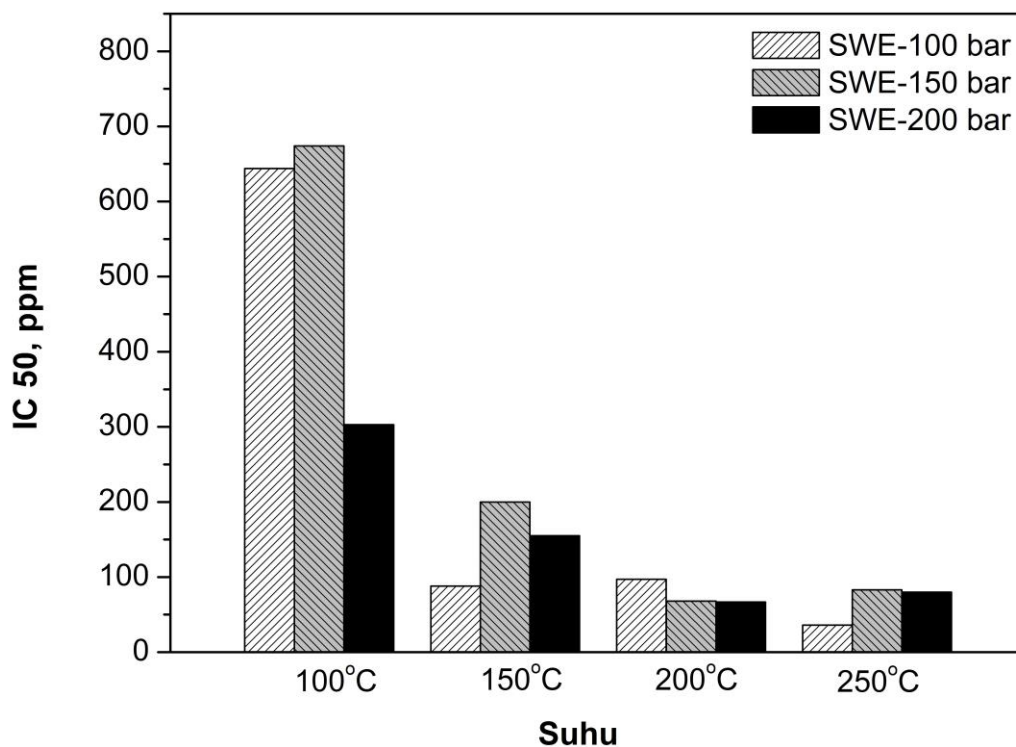


Gambar 3. Pengaruh suhu dan tekanan terhadap total flavanoid ekstrak batang *Physalis Angulata* yang diperoleh dengan ekstraksi menggunakan air subkritik pada 15 menit

Sebagaimana terlihat pada gambar 3, kecepatan ekstraksi flavanoid naik seiring dengan kenaikan suhu dari 100 menjadi 200 °C pada semua rentang tekanan (100, 150 and 200 bar) untuk waktu ekstraksi 15 menit. Sebagai contoh perolehan flavanoid naik dari 19 sampai 52 mg quercetin/ekstrak kering saat suhu naik dari 100 °C to 200 °C, tetapi turun menjadi 44 mg quercetin/ekstrak kering saat suhu dinaikkan lebih lanjut sampai 250 °C. Kecenderungan yang

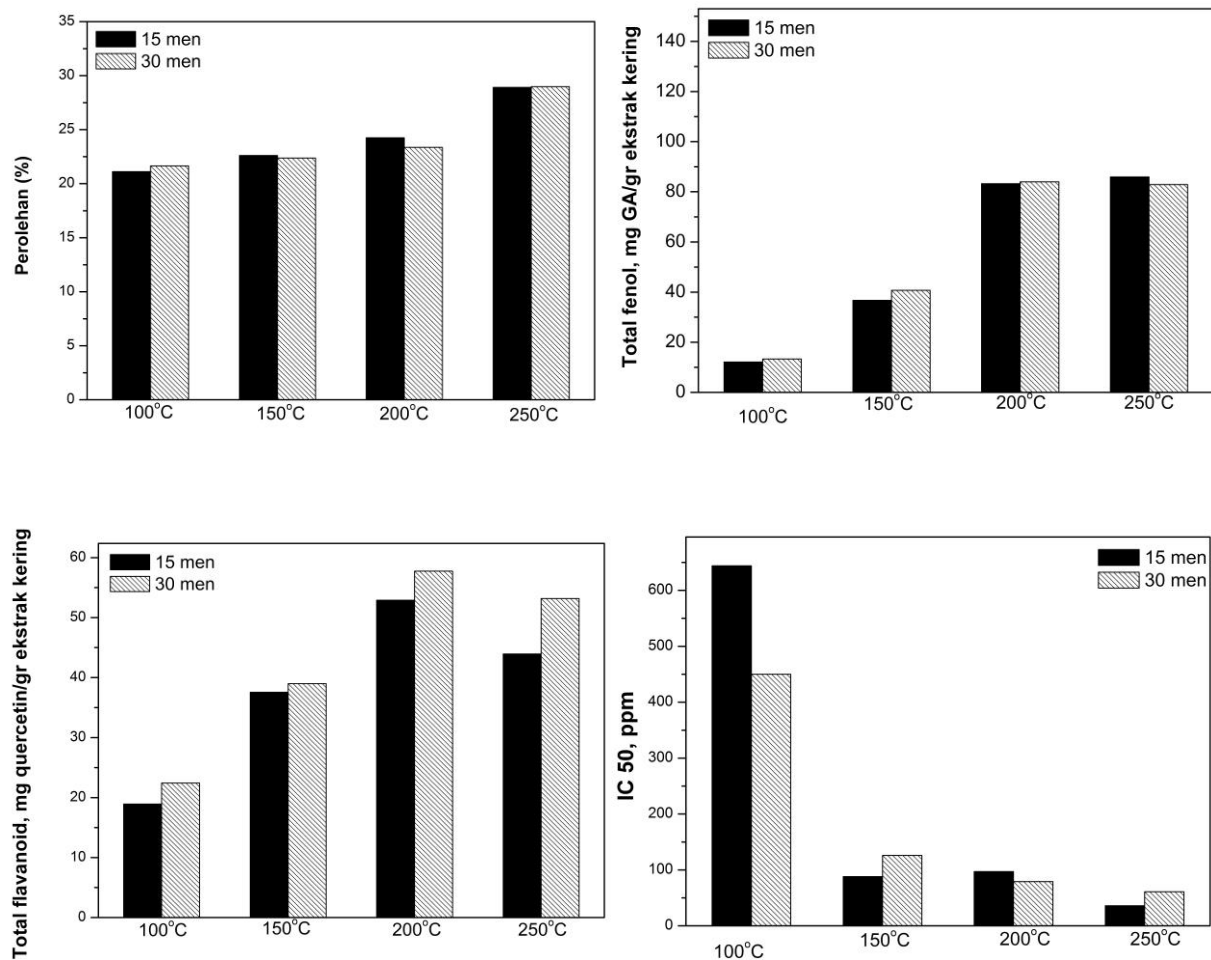
sama terlihat pada tekanan 150 bar and 200 bar. Ini dimungkinkan karena flavanoid mungkin terdegradasi secara thermal pada suhu tinggi.(Cheigh et al., 2012) Pengaruh perubahan suhu pada selektivitas flavanid telah dilaporkan oleh peneliti lain. (Cheigh et al., 2012; Ko et al., 2010). Kenaikan suhu reaksi menunjukkan kecenderungan yang sama pada aktivitas antioksidan seperti terlihat pada gambar 4. Aktivitas antioksidan diukur dengan metode DPPH and hasilnya dilaporkan sebagai IC50. IC 50 menunjukkan konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk menghambat 50% dari radikal bebas. Jadi semakin besar IC50, semakin besar konsentrasi sampel yang diperlukan untuk menghambat radikal bebas, berarti semakin lemah aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak. Ekstrak yang diperoleh pada suhu 200 °C dan 250 °C menunjukkan aktvitas antioksidan yang kuat.

Pengaruh tekanan pada total fenol, flavanoid dan aktivitas antioksidan tidak begitu kelihatan. Ini dimungkinkan karena kepolaran air tidak terlalu terpengaruh oleh tekanan. Sebagai contoh, pada suhu 100 °C, kenaikan tekanan dari 100 bar menjadi 200 bar hanya menaikkan konstanta dielektrik dari 55.9 menjadi 56.2(Ohmori, 2004)



Gambar 4. Pengaruh suhu dan tekanan terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak batang *Physalis Angulata* yang diperoleh dengan ekstraksi menggunakan air subkritik selama 15 menit.

Pengaruh Waktu Reaksi



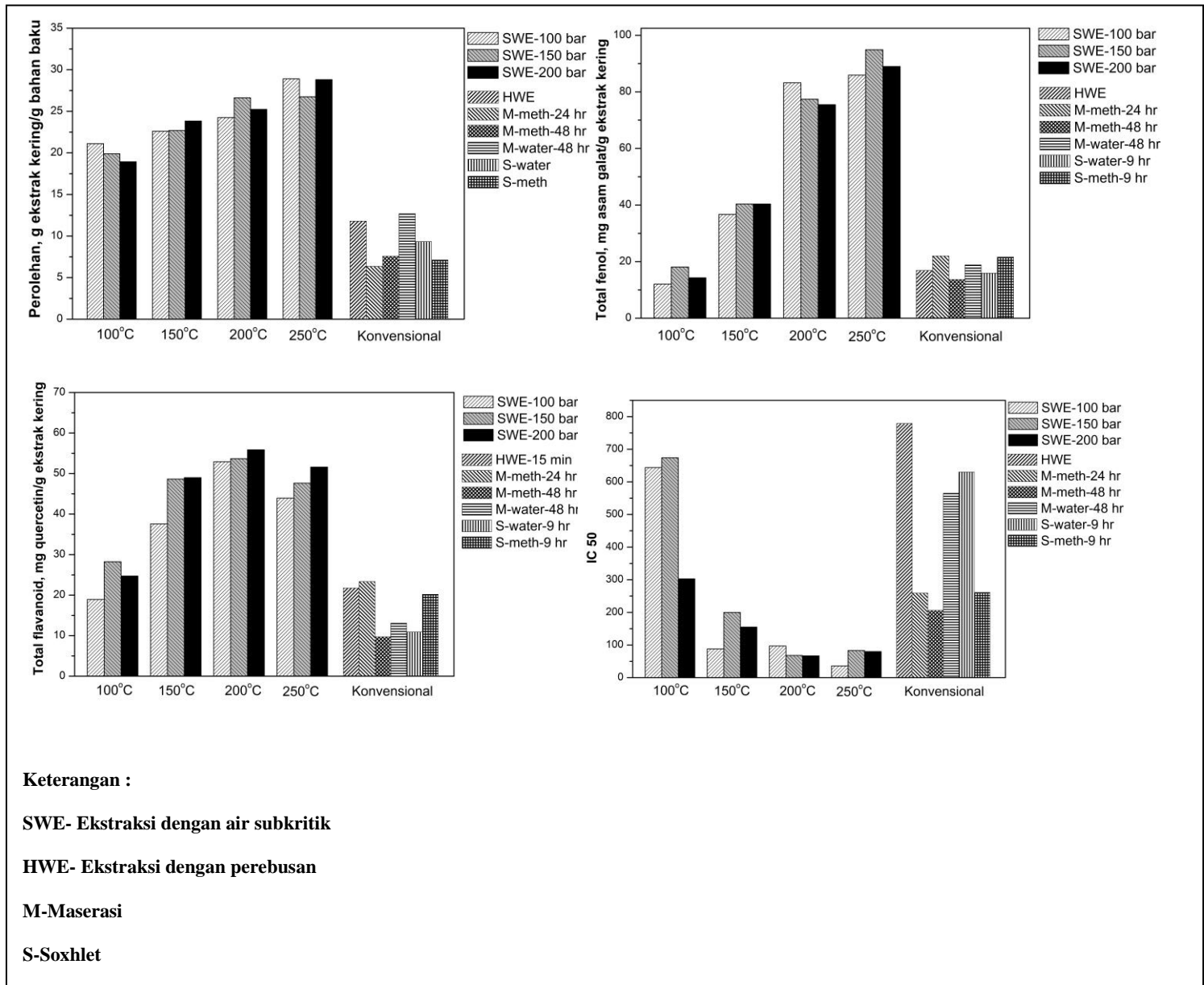
Suhu

Gambar 5. Pengaruh waktu terhadap perolehan, total fenol, total flavanoid dan aktivitas antioksidan pada ekstrak batang *Physalis Angulata* yang diperoleh dengan ekstraksi menggunakan air subkritik

Pengaruh waktu ekstraksi batang *Physalis Angulata* dengan menggunakan air subkritik dipelajari pada dua kondisi waktu yang berbeda; 15 menit dan 30 menit. Percobaan dilakukan pada tekanan 100 bar dan pada rentang suhu dari 100 °C sampai dengan 250 °C. Seperti terlihat pada gambar 5, pengaruh waktu reaksi diteliti terhadap perolehan, total fenol, flavanoid dan aktivitas antioksidan. Kadar ekstrak dan total phenol tidak menunjukkan perubahan meskipun waktu reaksi divariasikan dari 15 menit sampai dengan 30 menit, akan tetapi waktu reaksi yang cukup diperlukan untuk mengekstrak flavanoid, terlihat dengan kenaikan total flavanoid seiring

dengan waktu. Pengaruh waktu terhadap aktivitas antioksidan terlihat pada suhu 100°C, akan tetapi tidak terlihat pada suhu yang lebih tinggi.

Perbandingan Ekstraksi dengan Air Subkritik terhadap Metode Konvensional



Gambar 6. Perbandingan ekstraksi dengan air subkritik dengan metode konvensional

Untuk membuktikan keefektifan metode ekstraksi dengan air subkritik, percobaan ekstraksi batang tanaman *Physalis Angulata* juga dilakukan dengan menggunakan metode lain seperti , maserasi, perebusan dan soxhlet. Ekstraksi dengan perebusan adalah metode ekstraksi yang dilakukan menyerupai metode tradisional yang digunakan oleh masyarakat secara luas. Sedangkan maserasi dan soxhlet adalah metode yang paling umum digunakan untuk mendapatkan ekstrak dari tanaman obat-obatan. Gambar 6 menyajikan perbandingan perolehan, total fenol, flavanoid dan aktivitas antioksidan yang diperoleh dengan ekstraksi menggunakan air subkritik, maserasi, perebusan dan soxhlet.

Perolehan ekstrak, kadar total phenol dan flavanoid dari ekstrak batang *Physalis Angulata* yang diekstrak dengan menggunakan air subkritik terlihat jauh lebih tinggi dibandingkan dengan yang diperoleh dengan metode konvensional. Ekstrak yang diperoleh dengan air subkritik pada suhu 200 °C menunjukkan perolehan ekstrak 2-3 kali lebih baik, total fenol sebanyak 4-5 kali lebih tinggi dan total flavanoid 3-6 kali lebih tinggi dari metode konvensional dengan aktivitas antioksidan 2-8 kali lebih kuat dibanding metode konvensional. Diantara metode konvensional yang dicoba, maserasi dengan air selama 48 jam menunjukkan hasil terbaik dalam hal perolehan, akan tetapi maserasi dengan metanol terlihat paling baik dalam hal total fenol, total flavanoid dan aktivitas antioksidan.

BAB VI. KESIMPULAN

1. Ekstraksi batang tanaman *Physalis Angulata* dengan air subkritik terbukti lebih efektif dibandingkan metode konvensional seperti maserasi baik dengan pelarut air atau methanol, ekstraksi dengan perebusan dan Soxhlet dengan air ataupun methanol dalam hal perolehan ekstrak, kadar total fenol dan flavanoid dan aktivitas antioksidan.
2. Dalam ekstraksi dengan air subkritik, suhu berkontribusi secara signifikan terhadap perolehan, kadar total fenol, flavanoid maupun aktivitas antioksidan.
3. Tekanan tidak berpengaruh secara signifikan, karena kepolaran air tidak banyak berubah dengan perubahan tekanan.
4. Waktu ekstraksi yang cukup diperlukan untuk menyempurnakan proses ekstraksi
5. Ekstrak yang diperoleh dengan ekstraksi menggunakan air subkritik pada suhu 200°C dan 250°C terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat ($IC_{50} < 100$ ppm).

DAFTAR PUSTAKA

- Arapitsas P. and Turner, C. (2008). *Pressurized solvent extraction and monolithic column-HPLC/DAD analysis of anthocyanins in red cabbage*. *Talanta* 74 1218-1223.
- Bastos, G.N.T., et al., (2006). *Antinociceptive effect of the aqueous extract obtained from roots of *Physalis angulata* L. on mice*. *Journal of Ethnopharmacology* 103, 241-245.
- Bastos, G.N.T., et al., (2008). *Physalis angulata extract exerts anti-inflammatory effects in rats by inhibiting different pathways*. *Journal of Ethnopharmacology* 118, 246-251.
- Budrat P. and Shotipruk, A. (2009). *Separation and Purification Technology* 66, 125-129.
- Cheigh, C.-I., et al., (2012). *Enhanced extraction of flavanones hesperidin and narirutin from Citrus unshiu peel using subcritical water*. *Journal of Food Engineering* 110, 472-477.
- Chienthavorn, O., Pengpumkiat, S., Noomhorm, A. and Smith, R. M. (2007). *Superheated water extraction and phase transfer methylation of phenoxy acid herbicides from solid matrices*. *Journal of Chromatography A* 1152, 268-273.
- Deng, C., Li, N. and Zhang, X. (2004). *Rapid determination of essential oil in *Acorus tatarinowii* Schott. by pressurized hot water extraction followed by solid-phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry*. *Journal of Chromatography A* 1059, 149-155.
- Deng, C., Yao, N., Wang, A. and Zhang, X. (2005). *Determination of essential oil in a traditional Chinese medicine, *Fructus amomi* by pressurized hot water extraction followed by liquid-phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry*. *Analytica Chimica Acta* 536, 237-244.
- Hseu, Y.-C., et al., (2011). *Inhibitory effects of *Physalis angulata* on tumor metastasis and angiogenesis*. *Journal of Ethnopharmacology* 135, 762-771.
- Hawthorne, S. B , Yang, Y. and Miller, D. J. (1994). *Extraction of Organic Pollutants from Environmental Solids with Sub- and Supercritical Water*. *Analytical Chemistry* 66, 2912-2920.
- Ko, M.-J., et al., (2010). *Subcritical water extraction of flavonol quercetin from onion skin*. *Journal of Food Engineering* 102, 327-333.
- Kronholm, J., Hartonen K. and Riekkola, M.-L. (2007). *Analytical extractions with water at elevated temperatures and pressures*. *Trends in Analytical Chemistry* 26, 396-412.
- Ohmori, T., 2004. EOS-SCx.
- Ong, E. S., Cheong, J. S. H. and Goh, D. (2006). *Pressurized hot water extraction of bioactive*

or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials. *Journal of Chromatography A* 1112, 92-102.

Ozel, M.Z., et al., (2003). *Subcritical water extraction of essential oils from Thymbra spicata*. *Food Chemistry* 82, 381-386.

Mukhopadhyay M. and Panja, P. (2008). *A novel process for extraction of natural sweetener from licorice (Glycyrrhiza glabra) roots*. *Separation and Purification Technology* 63 539-545.

Pietro, R.C.L.R., et al., (2000). *In vitro antimycobacterial activities of Physalis angulata L*. *Phytomedicine* 7, 335-338.

Pinto, N.B., et al., (2010). *Topical anti-inflammatory potential of Physalin E from Physalis angulata on experimental dermatitis in mice*. *Phytomedicine* 17, 740-743.

Polezel, M.A., et al., (2008). *Supercritical Fluid Extraction of Physalins from Physalis Angulata*, Barcelona

Raaman, N., (2006). *Phytochemical Techniques*. New India Publishing Agency, New Delhi.

Srinivas, K., et al., (2010). *Solubility and solution thermodynamic properties of quercetin and quercetin dihydrate in subcritical water*. *Journal of Food Engineering* 100, 208-218.

Sun, L., et al., (2011). *Immunosuppression effect of Withangulatin A from Physalis angulata via heme oxygenase 1-dependent pathways*. *Process Biochemistry* 46, 482-488.

Teo, C.C., et al., (2010). *Pressurized hot water extraction (PHWE)*. *Journal of Chromatography A* 1217, 2484-2494.

Weingartner, H. and Franck, E. U. (2005). *Supercritical Water as a Solvent*. *Angewandte Chemie International Edition* 44, 2672-2692.

Wu, S.-J., et al., (2009). *Supercritical carbon dioxide extract of Physalis peruviana induced cell cycle arrest and apoptosis in human lung cancer H661 cells*. *Food and Chemical Toxicology* 47, 1132-1138.

Wu, S.-J., et al., (2004). *Antihepatoma activity of Physalis angulata and P. peruviana extracts and their effects on apoptosis in human Hep G2 cells*. Life Sciences 74, 2061-2073.

Wu, S.J., et al., (2006). *Supercritical carbon dioxide extract exhibits enhanced antioxidant and anti-inflammatory activities of Physalis peruviana*. Journal of Ethnopharmacology 108, 407-413.