

## EKSTRAKSI MINYAK ESENSIAL BUNGA KAMBOJA PUTIH (*Plumeria obtusa*) DENGAN CO<sub>2</sub> SUPERKRITIK: PENGARUH TEMPERATUR DAN TEKANAN

### EXTRACTION OF WHITE FRANGIPANI FLOWERS (*Plumeria obtusa*) BY SUPERCRITICAL CO<sub>2</sub>: THE EFFECT OF TEMPERATURE AND PRESSURE

Arabella Febiola Armani dan Ratna Frida Susanti\*

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Katolik Parahyangan  
Jln. Ciumbuleuit No. 94, Bandung, Indonesia, 40141  
E-mail: [santi@unpar.ac.id](mailto:santi@unpar.ac.id)

Makalah: Diterima 31 Mei 2023; Diperbaiki 31 Juli 2023; Disetujui 24 Agustus 2023

#### ABSTRACT

*Plumeria obtusa* frangipani flowers grow across Indonesia abundantly and are frequently used in Hindu religious ceremonies. However, fallen and used frangipani flowers could potentially cause an immense amount of flower waste on the ground and water. A preliminary study on the processing of the fresh flowers into essential oils by supercritical CO<sub>2</sub> extraction had been done, however an evaluation of the extraction conditions (temperature and pressure) of *P. obtusa* has not yet performed. This work investigated the effect of extraction's pressure (100 and 300 bar) and temperature (40 and 60 °C) to the essential oil's yield and composition. The result showed that the high pressure of 300 bar and low temperature of 40°C gives the highest yield (0,736%) with 36 compounds identified. Among them, 81% of their biological and pharmacological activities and benefits had been reported (antibacterial, antifungal, aromatic compound, antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory). The identification of composition of the flower essential oils showed that olean-12-ene, 3-methoxy-, (3β) (35,12%) was found only at 300 bar and 40°C. This result confirmed that supercritical CO<sub>2</sub> extraction was more specific in extracting volatile compounds from essential oils.

Keywords: supercritical carbon dioxide, essential oil, oil yield, volatile compounds, *Plumeria obtusa*

#### ABSTRAK

Bunga kamboja *Plumeria obtusa* banyak tumbuh di Indonesia dengan jumlah yang melimpah dan banyak digunakan dalam peribadatan agama Hindu. Akan tetapi bunga yang berjatuhan dan bunga sisa peribadatan berpotensi menimbulkan limbah. Penelitian awal mengenai pengolahan bunga ini menjadi minyak esensial dengan ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik telah dilakukan, namun evaluasi kondisi ekstraksi (temperatur dan tekanan) terhadap minyak *P. obtusa* belum dilakukan. Penelitian ini mempelajari variasi tekanan (100, 300 bar) dan temperatur (40, 60°C) ekstraksi terhadap *yield* dan komposisi minyak yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tekanan tinggi 300 bar dan temperatur rendah 40 °C memberikan *yield* tertinggi (0,736%). Variasi kondisi tersebut menghasilkan jumlah senyawa teridentifikasi terbanyak, yaitu 36 senyawa dengan 81% telah dilaporkan manfaatnya (antibakteri, antifungal, senyawa aroma, antioksidan, antimikroba, anti-inflamasi). Identifikasi senyawa minyak esensial bunga menunjukkan bahwa senyawa olean-12-ene, 3-methoxy-, (3β) (35,12%) hanya ditemukan pada kondisi 300 bar, 40°C. Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik lebih spesifik dalam mengambil senyawa volatil dari minyak esensial.

Kata kunci : karbon dioksida superkritik, minyak esensial, *yield* minyak, senyawa volatil, *Plumeria obtusa*

#### PENDAHULUAN

Bunga kamboja dikenal dengan aromanya yang wangi dan khas dan secara komersil telah digunakan secara luas sebagai bahan baku pembuatan parfum, kosmetik, industri kerajinan dupa, aromaterapi, dan lainnya. Pada tahun 2017, berdasarkan data ekspor produk hortikultura untuk bunga kamboja dan melati, Indonesia telah mengekspor 1.067 ton bunga ke negara Kamboja, Vietnam, Thailand, China, dan Singapura (Kementerian Pertanian Republik Indonesia, 2018). Lalu pada bulan Maret 2020, dilaporkan bahwa data ekspor bunga kamboja (*Plumeria rubra* dan *Plumeria acuminata*) ke China dapat mencapai 24.000–40.000

ton (Export Genius, 2023). Ketersediaan bunga yang melimpah tersebut perlu diimbangi dengan pengolahan sumber daya yang lebih tepat, sehingga akan meningkatkan nilai ekonominya. Nilai tambah bunga kamboja bisa ditingkatkan dengan mengolah bunga kamboja menjadi minyak esensial (*essential oil* atau minyak atsiri) dengan cara ekstraksi.

Ekstraksi karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) superkritik merupakan metode ekstraksi yang unggul dan ramah lingkungan untuk memperoleh senyawa bioaktif (flavonoid, minyak esensial, karotenoid, asam lemak, antioksidan, pigmen, aroma) dari bahan alam dibandingkan dengan metode ekstraksi pelarut dan metode distilasi. Metode distilasi memungkinkan terjadinya degradasi termal senyawa yang termolabil

akibat penggunaan temperatur yang cukup tinggi, hidrolisis dan solubilisasi beberapa senyawa di dalam air yang dapat mengubah profil rasa dan aroma minyak esensial yang diekstraksi, dan perlu proses lanjutan untuk menghilangkan air (Xu *et al.*, 2021). Metode ekstraksi pelarut dapat menyelesaikan beberapa kelemahan tersebut, namun adanya residu pelarut dalam ekstrak yang diperoleh menjadi titik kelemahan metode ini (Attokaran, 2017). Kedua metode tersebut kurang ramah lingkungan dan dapat menghasilkan polusi tambahan karena menghasilkan pelarut kontaminan (Xu *et al.*, 2021).

Fluida superkritik memiliki sifat unik dimana densitasnya dapat menyerupai cairan, sedangkan difusivitasnya menyerupai gas. Karakteristik fluida superkritik dapat divariasikan karena densitasnya dapat dikendalikan dengan perubahan tekanan ataupun temperatur dalam daerah superkritik. Sifat fluida superkritik yang memiliki difusivitas tinggi, viskositas dan tegangan permukaan rendah, berkontribusi dalam meningkatkan proses transfer massa (Sunol *et al.*, 2019). Kemampuan ekstraksi dan solubilitas CO<sub>2</sub> superkritik terhadap suatu senyawa di antaranya bergantung pada polaritas senyawa tersebut karena sifatnya yang nonpolar seperti pelarut *n*-heksana (Ahmad *et al.*, 2019), sehingga cocok untuk mengambil senyawa-senyawa yang nonpolar seperti minyak esensial. Keduanya memiliki konstanta dielektrik yang serupa, yaitu 1,6 untuk CO<sub>2</sub> superkritik (Klesper, 1980) dan 1,88 untuk *n*-heksana (Mopsik, 1967). Akan tetapi penggunaan *n*-heksana sebagai pelarut untuk industri pangan dan obat-obatan dihindari karena memiliki dampak neurotoksik untuk manusia dan hewan (US EPA, 2005; ECHA, 2023), termasuk penyakit Parkinson (Canesi *et al.*, 2003). Terdapat juga kasus dimana gejala buta warna ditemukan pada buruh yang terekspos *n*-heksana di lingkungan kerja (Beckman *et al.*, 2016), dan merusak endokrin pada buruh wanita (dalam usia reproduktif) yang bekerja di pabrik sepatu kulit (Ruiz-García *et al.*, 2020). Selain itu, residu *n*-heksana juga berpotensi sebagai karsinogen, yang seringkali ditemukan pada ekstrak minyak sayur setelah proses ekstraksi menggunakan *Food Grade Hexane* (FGH) (Emmandi *et al.*, 2014).

CO<sub>2</sub> superkritik merupakan fluida superkritik yang paling sering digunakan dalam industri pangan dan farmasi karena tidak beracun, tidak meninggalkan residu, reaktivitas rendah, tidak mudah terbakar, mudah didapatkan, dapat digunakan kembali (*reusable*) (Khaw *et al.*, 2017), memiliki efisiensi tinggi, waktu proses yang cepat, hemat energi (Asl *et al.*, 2020), dan telah disetujui oleh *United States Food and Drug Administration* dan *European Food Safety Authority* sebagai pelarut yang aman dan *food grade* (Ahmad *et al.*, 2019). Parameter kritik dari CO<sub>2</sub> superkritik juga relatif rendah dan mudah dicapai (31,3°C dan 72,9 bar), yang membuatnya cocok untuk ekstraksi senyawa termolabil dengan degradasi minimal (Cunha *et al.*,

2018). Selain itu, karena proses transportnya mudah dan tidak memerlukan tekanan maupun temperatur tinggi, CO<sub>2</sub> superkritik menjadi opsi yang murah dan aman dibandingkan fluida superkritik lainnya. Metode ekstraksi dengan CO<sub>2</sub> superkritik telah diaplikasikan untuk berbagai industri herbal, rempah, tumbuhan aromatik, dan obat-obatan (Uwineza dan Waśkiewicz, 2020).

Metode ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik jarang ditemui dan digunakan sebagai metode ekstraksi bunga kamboja pada penelitian – penelitian yang ditemukan. Zhang *et al.* (2016) meneliti komposisi minyak esensial dari bunga kamboja *P. rubra* dari China, di mana ekstraksi minyak esensial dilakukan dengan metode ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik, namun dengan informasi yang sangat terbatas (tidak ada keterangan mengenai proses ekstraksi maupun kondisi operasi yang dilakukan). Dari penelitian tersebut hanya diketahui bahwa terdapat sekitar 31 senyawa teridentifikasi pada minyak esensial tersebut dengan komponen terbesar ( $\pm$ )-trans nerolidol, *hexadecanoic acid*, *tetradecanoic acid*,  $\beta$ -*linalool*, *octadecanoic acid*, dan *cis-linoleic acid*. Kami telah melakukan studi awal ekstraksi minyak esensial bunga kamboja *P. obtusa* segar dengan membandingkan metode ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik dan metode konvensional ekstraksi pelarut (*n*-heksana) terhadap komposisi ekstrak (Armani dan Susanti, 2022). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik menghasilkan *yield* ekstraksi sebesar 1,27%-wb (9,23%-db) dan 65 senyawa teridentifikasi dengan 87% sudah dilaporkan manfaatnya. Penelitian tersebut memberikan kesimpulan bahwa ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik lebih spesifik di dalam mengambil senyawa volatil dari minyak esensial. Penelitian sebelumnya menggunakan kondisi operasi yang ditetapkan, yaitu pada tekanan 300 bar dan temperatur 40 °C dengan bahan baku berupa bunga kamboja yang segar. Sedangkan pada penelitian ini, ingin dievaluasi pengaruh kondisi operasi (temperatur dan tekanan) terhadap minyak esensial *P. obtusa* yang dihasilkan. Tekanan operasi divariasikan pada 100 dan 300 bar, sedangkan temperatur divariasikan pada 40 dan 60°C. Bahan baku yang digunakan adalah bunga kamboja yang sudah dikeringkan. Pengeringan bahan baku bertujuan untuk menjaga kadar air bahan baku sama karena berdasarkan studi sebelumnya kadar air bunga segar bervariasi (Armani dan Susanti, 2022). Keberadaan air dimungkinkan akan mempengaruhi kepolaran karbon dioksida superkritik yang bersifat nonpolar.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bunga kamboja putih (*P. obtusa*) yang diperoleh dari area pemukiman di daerah Jawa Barat, Indonesia digunakan sebagai bahan baku. Karbon dioksida cair (CO<sub>2</sub>, 99,8%, CV. Sangkuriang,

Indonesia) digunakan sebagai pelarut pada ekstraksi fluida superkritik. Sebelumnya bahan baku bunga kamboja disiapkan dan dibersihkan seperti yang telah dilaporkan sebelumnya oleh Armani dan Susanti (2022).

## Metode

### Pengeringan Bahan Baku (Persiapan Ekstraksi)

Metode pengambilan dan pemilihan bahan baku mengikuti metode yang dilaporkan sebelumnya oleh Armani dan Susanti (2022). Pengeringan dilakukan pada alat *tray dryer* dengan spesifikasi arus 1 Ampere, tegangan 220 volt, kecepatan putar 300 rpm, diameter *blower* sebesar 2 inci, dan laju alir udara 12,3 m/s. Kelopak bunga kamboja diletakkan pada *tray* secara sejajar, kemudian *tray* ditimbang dan dicatat massanya. *Tray* dimasukkan ke dalam *tray dryer* untuk dilakukan proses pengeringan pada temperatur 45°C. *Tray* berisi sampel tersebut ditimbang beratnya setiap beberapa menit – beberapa jam sekali dan dicatat massanya. Kemudian pengukuran kadar air dilakukan pada sampel bunga setelah beberapa jam pengeringan berlangsung. Pengeringan dihentikan saat berat *tray* yang berisi bunga kamboja sudah mulai konstan dan kadar air yang terukur < 10%. Bunga kamboja kering diangkat dari *tray* dan dihancurkan dengan *blender* hingga diperoleh bubuk bunga kamboja. Bubuk bunga kemudian diayak pada ukuran -30+40 *mesh* ( $\pm 0,425$  mm) dan disimpan dalam wadah plastik disertai *silica gel* (*foodgrade*) hingga proses ekstraksi.

### Ekstraksi CO<sub>2</sub> Superkritik

Ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik dilakukan dengan menggunakan apparatus dan metode yang sudah dilaporkan oleh Armani dan Susanti (2022). Pada penelitian ini, jumlah bahan baku yang digunakan lebih banyak dibanding penelitian sebelumnya, yaitu  $\pm 17$  g karena *bulk density* bunga kering lebih rendah daripada bunga segar. Bubuk bunga *P. obtusa* diekstraksi dalam reaktor superkritik dengan CO<sub>2</sub> selama 3 jam pada variasi tekanan 100 dan 300 bar dan variasi temperatur 40 dan 60°C, laju alir CO<sub>2</sub> sebesar 21 mL/menit, dan juga mode operasi statik-dinamik setiap 15 menit. Saat ekstraksi berakhir, ekstrak yang tertampung dalam botol sampel ditimbang untuk dihitung *yield*-nya, kemudian disimpan untuk analisis lebih lanjut.

Dalam penelitian ini, *yield* ekstrak didefinisikan sebagai rasio massa ekstrak akhir terhadap massa bahan baku kering (tanpa kandungan air) atau disajikan dalam basis kering (%-dry basis). Penyajian data *yield* basis kering bertujuan untuk mengetahui *yield* bahan baku murni tanpa pengaruh kadar air.

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\text{massa ekstrak minyak esensial (gr)}}{\text{massa bahan baku bunga awal (gr)} - \text{massa air (gr)}} \times 100\% \quad (1)$$

## Karakterisasi

Analisis kadar air dilakukan untuk mengetahui kadar air awal bunga kamboja yang akan diekstraksi menggunakan *moisture analyzer* (Halogen Moisture Analyzer HE53, Mettler Toledo, US). Analisis tersebut mengaplikasikan prinsip analisa termogravimetri dan memanfaatkan lampu inframerah atau halogen sebagai sumber panas yang menguapkan air dalam bahan. Untuk mengidentifikasi senyawa pada ekstrak minyak esensial bunga kamboja digunakan analisis dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS, Agilent 7890B (GC), US) yang memiliki kolom Agilent 19091S-433 (US): 93,92873 DB-5MS UI, 5% phenyl methyl siloxane, dimensi 30 m x 250  $\mu\text{m}$  x 0,25  $\mu\text{m}$ . Tipe detektor yang digunakan yaitu *Mass Selective Detector* (5977A), dan *injector autosampler* (Agilent, 7693A, *autoinjector* G4513A). Temperatur awal proses yang digunakan yaitu 40°C dengan *hold time* selama 1 menit, dan temperatur *post run* sebesar 300°C. Volume injeksi yang digunakan sebesar 1  $\mu\text{L}$  dan gas *carrier* berupa helium dengan laju alir 1 mL/menit. Instrumen GC-MS memisahkan campuran kimia (peran GC) dan mengidentifikasi komponen-komponen pada tingkat molekuler (peran MS) (Sharma, 2022).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Tekanan dan Temperatur Ekstraksi terhadap Yield Minyak Esensial *P. obtusa*

Gambar 1 menunjukkan grafik *yield* ekstrak minyak esensial *P. obtusa* dari hasil ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik pada dua variasi tekanan (100 dan 300 bar) dan dua variasi temperatur (40 dan 60°C). Tekanan 300 bar dipilih sebagai tekanan tertinggi karena tekanan tersebut adalah tekanan maksimum yang bisa dicapai alat. Sedangkan kondisi tekanan 100 bar adalah tekanan sedikit diatas titik kritik CO<sub>2</sub>. Temperatur 60°C dipilih sebagai temperatur maksimal untuk mengantisipasi kerusakan komponen minyak atsiri (Che Sulaiman *et al.*, 2017). Sedangkan temperatur 40°C dipilih karena sedikit diatas temperatur kritik CO<sub>2</sub>.

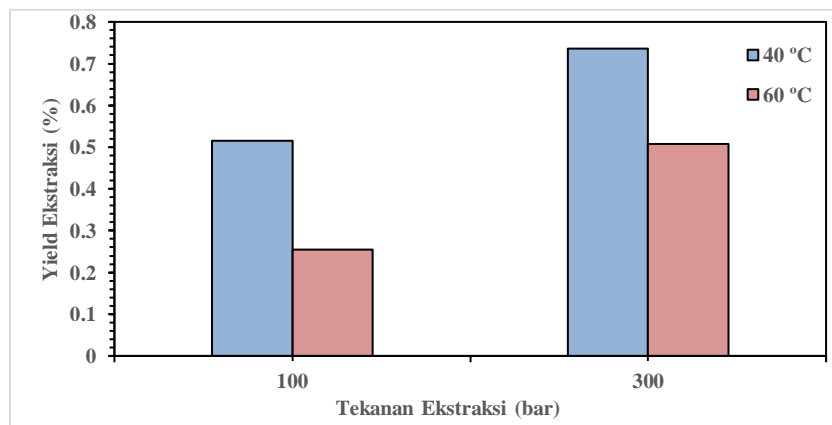
Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh (Gambar 1 dan Tabel 1), ditemukan bahwa kenaikan tekanan ekstraksi dapat menyebabkan meningkatnya *yield* ekstraksi pada temperatur konstan. *Yield* tertinggi diperoleh pada tekanan 300 bar untuk kedua kondisi temperatur (0,736% pada 40°C; 0,507% pada 60°C). Hal ini dapat disebabkan karena densitas pelarut meningkat drastis ~1,5-3 kali lipat seiring dengan kenaikan tekanan pada temperatur konstan (Tabel 1) (Lemmon *et al.*, 2023). Densitas yang tinggi dapat mempengaruhi kekuatan pelarut CO<sub>2</sub> yang kemudian memberikan solubilitas dan selektivitas yang tinggi terhadap minyak (Perakis *et al.*, 2005). Selektivitas terhadap senyawa target tersebut dapat dicapai oleh CO<sub>2</sub> superkritik dengan memvariasikan tekanan dan/atau temperatur ekstraksi (Khaw *et al.*,

2017). Kecenderungan hasil ini diperoleh pula oleh Liza *et al.* (2012) pada ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik terhadap tumbuhan pecah kaca, dimana *yield* ekstraksi semakin meningkat dari 2,8% dan 2,9% menjadi 3,5% dan 4,4% seiring naiknya tekanan ekstraksi dari 100 menjadi 300 bar pada temperatur konstan (40 dan 60°C berturut – turut). Hasil serupa juga dijumpai oleh Dohai (2012) pada ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik bunga Henna, dimana *yield* meningkat dari 18,29% dan 23,3% menjadi 21,66% dan 30,88% seiring dengan meningkatnya tekanan dari 80 menjadi 120 bar pada temperatur konstan (35 dan 45°C). Seiring densitas meningkat akibat kenaikan tekanan, jarak antar molekul menjadi berkurang sehingga interaksi antara analit dan CO<sub>2</sub> meningkat, yang menyebabkan solubilitas analit dalam CO<sub>2</sub> semakin besar (Castro *et al.*, 1994). Peningkatan tekanan dapat meningkatkan transfer massa analit dan pelarut dalam reaktor superkritik dan meningkatkan *yield* ekstraksi. Densitas merupakan parameter penting yang mempengaruhi kekuatan pelarut (Cunha *et al.*, 2018) dan menyebabkan peningkatan efisiensi ekstraksi (Salajegheh *et al.*, 2013) serta mempengaruhi komposisi minyak menjadi lebih kompleks (Petrović *et al.*, 2007).

Selain tekanan ekstraksi, kondisi temperatur ekstraksi pun merupakan parameter yang mempengaruhi *yield* ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik. Dari hasil penelitian ditemukan bahwa pada tekanan ekstraksi yang sama, kenaikan temperatur ekstraksi dapat menyebabkan penurunan *yield* ekstraksi (Tabel

1 dan Gambar 1). *Yield* ekstraksi tertinggi pada kedua kondisi tekanan diperoleh pada temperatur 40°C (0,515% pada tekanan 100 bar; 0,736% pada tekanan 300 bar). Hal ini disebabkan karena kenaikan temperatur dapat menyebabkan penurunan densitas dan kekuatan pelarut CO<sub>2</sub> superkritik, sehingga kemampuan CO<sub>2</sub> untuk mengekstrak senyawa (solubilitas analit) berkurang (Liu *et al.*, 2021). Kekuatan pelarut CO<sub>2</sub> superkritik dipengaruhi densitas (dimana nilainya berkebalikan dengan nilai temperatur) dan tekanan uap zat terlarut/*solute* (dimana nilainya sebanding dengan temperatur). Kecenderungan hasil ini diperoleh pula pada penelitian yang dilakukan oleh Correa *et al.* (2018), dimana *yield* tertinggi pada ekstraksi minyak biji anggur diperoleh pada temperatur paling rendah (10,5% pada 40°C). Sedangkan pada temperatur paling tinggi (60°C), nilai *yield* berkurang menjadi 8,7%.

Temperatur ekstraksi yang lebih tinggi juga dapat berpotensi menyebabkan senyawa-senyawa yang termolabil dapat terdekomposisi (Pieczykolan *et al.*, 2019). CO<sub>2</sub> memiliki temperatur kritik yang rendah (31,1°C mendekati temperatur ruang), sehingga kondisi operasi untuk ekstraksi zat termolabil tidak memerlukan nilai yang tinggi. Hal ini menjadi keuntungan karena zat-zat yang terdapat pada minyak tidak berubah dan rusak/terdegradasi karena menggunakan temperatur yang relatif rendah pada proses ekstraksi (Cunha *et al.*, 2018).



Gambar 1. *Yield* ekstraksi pada berbagai variasi kondisi tekanan dan temperatur

Tabel 1. *Yield* ekstraksi pada berbagai variasi kondisi tekanan dan temperatur

		<i>Yield</i> Ekstraksi (%-db*)	Densitas CO <sub>2</sub> (kg/m <sup>3</sup> ) (Lemmon <i>et al.</i> , 2023)
100 bar	40°C	0,515	628,61
	60°C	0,254	289,95
300 bar	40°C	0,736	909,89
	60°C	0,507	829,71

\*%-dry basis (persentase *yield* ekstrak dalam basis kering)

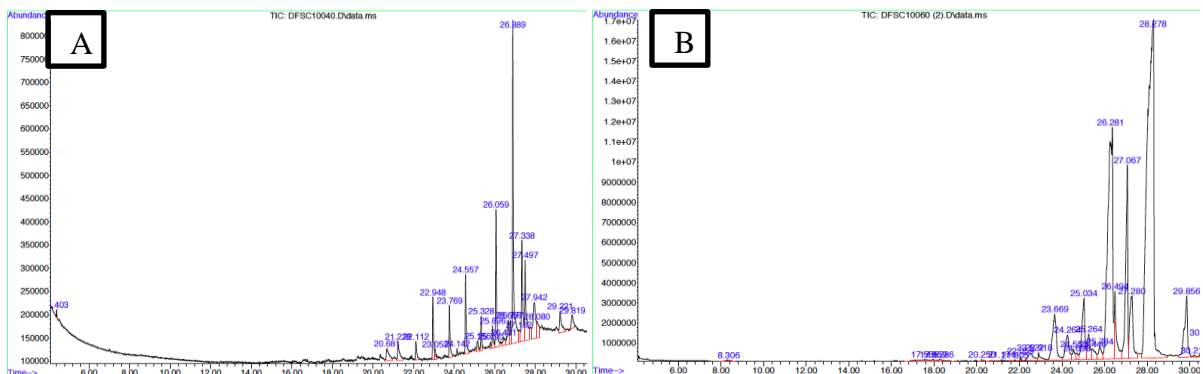
Temperatur yang disarankan pada ekstraksi fluida superkritik senyawa termolabil yaitu 35-60 °C untuk menghindari degradasi. Rentang kondisi temperatur tersebut merupakan rentang nilai yang sering dipakai pula untuk sistem ekstraksi dimana CO<sub>2</sub> berada dalam fasa superkritiknya (Reverchon dan De Marco, 2006). Pada penelitian yang dilakukan oleh Hossain *et al.* (2013), peningkatan temperatur ekstraksi ditemukan menjadi penyebab turunnya kandungan senyawa bioaktif dalam daun *Thymus vulgaris* (terdekomposisi). Hasil serupa dijumpai oleh Akowuah *et al.* (2009) terhadap daun *Gynura procumbens*.

Sehingga bila meninjau hasil ekstraksi dengan variasi kondisi operasi pada penelitian ini, diperoleh bahwa kondisi tekanan yang tinggi (300 bar) dan temperatur rendah (40°C) memberikan *yield* ekstraksi maksimum untuk minyak esensial bunga kamboja kering. Nilai *yield* ekstrak *P. obtusa* kering yang rendah (< 1%) pada penelitian ini dapat disebabkan karena masih terdapat ekstrak yang tertinggal di pipa ataupun *back pressure regulator (BPR)* (Gambar 1, Armani dan Susanti, 2022) maupun tidak efektifnya pemisahan di separator yang menghambat aliran keluarnya ekstrak. Ekstrak yang larut di karbondioksida superkritik perlu didorong keluar (*flushing*) dengan laju karbondioksida yang besar, akan tetapi keterbatasan laju alir pompa HPLC yang digunakan menjadi salah satu hambatan. Selain itu

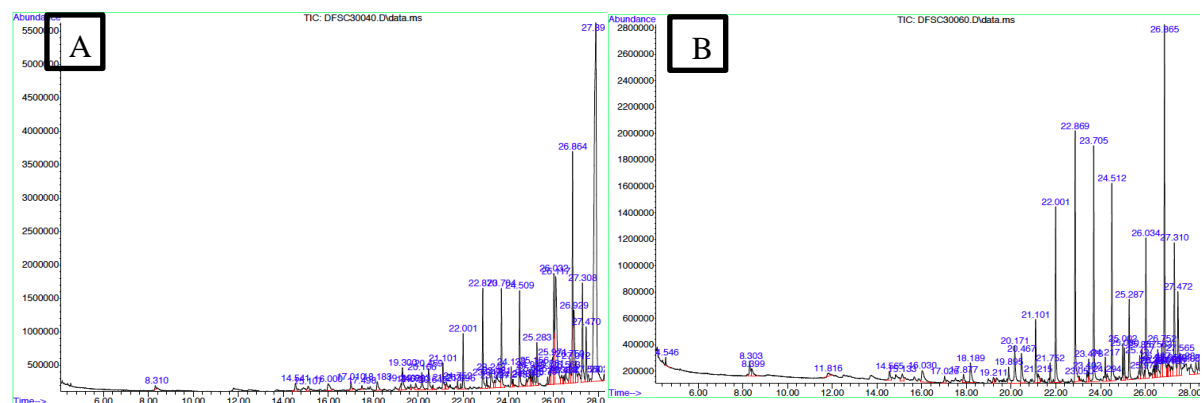
perlu desain separator yang memadai sehingga pemisahan gas dan ekstrak lebih efektif. Oleh karena itu, penulis juga menyarankan beberapa hal seperti yang disebutkan pada bagian Saran.

### Komposisi Senyawa Minyak Esensial Bunga Kamboja *P. obtusa* Kering

Berdasarkan analisis GC-MS yang telah dilakukan, pada temperatur 40 °C terdapat sekitar 18 senyawa yang teridentifikasi dan diketahui manfaatnya dari ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik pada tekanan 100 bar. Sedangkan pada tekanan 300 bar, terdapat sekitar 36 senyawa yang teridentifikasi dengan 81% senyawa diketahui manfaatnya. Namun, dari 18 dan 36 senyawa yang terekstrak pada tekanan 100 dan 300 bar tersebut, hanya sebanyak 15 dan 20 senyawa (berturut-turut) yang memiliki komposisi yang cukup tinggi (% area > 1%). Pada temperatur 60°C (100 bar) terdapat sekitar 23 senyawa yang teridentifikasi dengan 87% telah diketahui manfaatnya. Sedangkan pada tekanan 300 bar, terdapat sekitar 28 senyawa yang teridentifikasi dengan 89% senyawa diketahui manfaatnya. Namun, dari 23 dan 28 senyawa tersebut, hanya sebanyak 11 (100 bar) dan 22 senyawa (300 bar) yang memiliki komposisi yang cukup tinggi (% area > 1%). Kromatogram untuk ekstrak bunga *P. obtusa* yang diperoleh dapat diamati pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Kromatogram GC-MS minyak esensial bunga *P. obtusa* dengan ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik pada (a) 100 bar, 40 °C dan (b) 100 bar, 60 °C



Gambar 3. Kromatogram GC-MS minyak esensial bunga *P. obtusa* dengan ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik pada (a) 300 bar, 40 °C dan (b) 300 bar, 60 °C

Bila meninjau % area dari masing-masing senyawa di atas 1%, komposisi ekstrak terlihat bervariasi pada kondisi operasi yang berbeda. Terdapat beberapa senyawa yang spesifik hanya ditemukan di masing-masing kondisi ekstraksi, yang menunjukkan bahwa masing-masing kondisi operasi selektif dalam mengekstrak senyawa sehingga masing-masing ekstrak memiliki kualitas berbeda. Hal ini dapat berkaitan dengan perbedaan sifat kepolaran CO<sub>2</sub> di berbagai kondisi operasi. Parameter kepolaran suatu pelarut dapat ditunjukkan dengan konstanta dielektrik. CO<sub>2</sub> memiliki konstanta dielektrik rendah (1,6) dan sesuai menjadi pelarut yang dapat mengekstrak senyawa nonpolar (Klesper, 1980). Konstanta dielektrik fluida superkritik dipengaruhi oleh densitas dan tekanannya. Semakin tinggi tekanan dan densitas, maka konstanta dielektrik CO<sub>2</sub> superkritik semakin meningkat (Castro *et al.*, 1994). Peningkatan tekanan dari 100 ke 300 bar pada temperatur konstan dapat meningkatkan konstanta

dielektrik CO<sub>2</sub> menjadi dua kali lipatannya, walaupun nilainya masih berada di bawah 5, yang mana masih bersifat nonpolar (Brown *et al.*, 2012). Namun, kenaikan konstanta dielektrik tersebut dapat berkontribusi pada perbedaan senyawa-senyawa yang terekstrak di berbagai kondisi operasi ekstraksi. Masing-masing kondisi operasi memiliki keunikan senyawa masing-masing dengan potensi manfaat tertentu. Beberapa senyawa dengan % area terbesar pada tiap variasi kondisi operasi beserta manfaatnya dapat diamati pada Tabel 2.

Selain dari keunikan tiap kondisi ekstraksi yang spesifik dapat mengekstraksi senyawa tertentu, terdapat juga beberapa senyawa yang umum ditemukan pada seluruh kondisi ekstraksi, di antaranya *ecosane*, *docosane*, dan *heneicosane* (Tabel 3). Ketiganya memiliki potensi manfaat yang sama, yaitu sebagai antimikroba (Otieno, 2016; Chuah *et al.*, 2018; Lammers *et al.*, 2021).

Tabel 2. Senyawa spesifik terbesar tiap kondisi operasi beserta manfaatnya

Nama Senyawa	% Area		Potensi Manfaat
	100 bar, 40 °C		
<i>9-Nonadecene</i>	9,24		Antimikroba, <i>antifungal</i> (Pauline dan Sagaya, 2016)
<i>Thymol, TMS derivative</i>	6,88		Antioksidan, antimalaria, antimikroba, antivirus, <i>antifungal</i> , anti-karsinogenik (Martinez-Correa, 2017)
<i>1,1,1,3,5,5,5-Heptamethyltrisiloxane</i>	3,19		Antimikroba, antibakteri, antivirus, antibiotik, antiparasit, anti-jerawat (Mereen dan Diaz, 2020)
100 bar, 60 °C			
<i>Lup-20(29)-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-</i>	43,37		Anti-inflamasi (Kadhim <i>et al.</i> , 2016), <i>antifungal</i> , <i>antitermites</i> (Prayitno <i>et al.</i> , 2020)
<i>alpha-Amyrin</i>	22,11		Antimikroba, antibakteri, anti-inflamasi, antioksidan, obat untuk diabetes (Santos <i>et al.</i> , 2012)
<i>9,19-Cyclolanostan-3-ol, 24-methylene-, (3.beta.)-</i>	4,11		Antioksidan (Tanaka <i>et al.</i> , 2013); bahan aktif obat – obatan (Malathi <i>et al.</i> , 2016)
300 bar, 40 °C			
<i>Olean-12-ene, 3-methoxy-, (3.beta.)-</i>	35,12		Antibakteri, <i>antifungal</i> (Jacob <i>et al.</i> , 2005)
<i>7,9-Di-tert-butyl-1-oxaspiro(4,5)deca-2,8-dione</i>	1,34		Senyawa aroma (Taskin, 2013); antioksidan (Chandrasekar <i>et al.</i> , 2015); antimikroba (Arora dan Kumar, 2017); antibakteri (Monisha dan Vimala, 2018)
<i>Plumericin</i>	1,14		Antibakteri, antiproliferatif terhadap sel kanker (Saengsai <i>et al.</i> , 2015); antiparasit (Leishmania) (Sharma <i>et al.</i> , 2011); anti-inflamasi, antioksidan (Rapa <i>et al.</i> , 2021)
300 bar, 60 °C			
<i>Octadecane</i>	6,41		Antibakteri (Nguyen <i>et al.</i> , 2017)
<i>1-Hexacosene</i>	1,89		Anti-inflamasi (Sahu dan Singh, 2022)
<i>Hexadecane</i>	1,73		Antioksidan, antibakteri (Yogeswari <i>et al.</i> , 2012)

Tabel 3. Senyawa – senyawa yang umum ditemukan di seluruh kondisi ekstraksi

Nama Senyawa	100 bar, 40 °C		100 bar, 60 °C		300 bar, 40 °C		300 bar, 60 °C	
	RT (menit)	%Area	RT (menit)	%Area	RT (menit)	%Area	RT (menit)	%Area
<i>Eicosane</i>	27,491	9,08	20,244	0,05	21,996	1,61	22,866	8,97
<i>Docosane</i>	22,109	1,75	22,059	0,09	23,483	1,4	23,483	0,87
<i>Heneicosane</i>	21,227	2,71	21,177	0,00	22,866	2,81	21,101	2,85

Berdasarkan literatur yang ditemukan mengenai kuantifikasi komponen dari hasil kromatogram, untuk kasus tertentu seperti minyak esensial seringkali digunakan metode konsentrasi relatif yang berkaitan dengan area total dari puncak – puncak yang terdeteksi. Hal ini dikarenakan adanya kemiripan faktor reaksi yang dimiliki oleh komponen utama seperti golongan *terpene* (Chamorro *et al.*, 2012). Metode area relatif menghasilkan persentase hubungan antara area dari masing – masing komponen terhadap total area kromatogram. Hal ini dapat dinyatakan dalam Persamaan 2.

$$\% \text{ relatif komponen} = \frac{\text{area komponen}}{\text{total area}} \times 100\% \quad (2)$$

Namun, selain menggunakan metode ini, perlu adanya konfirmasi lebih lanjut dimana kuantifikasi komponen dapat menggunakan *internal standard* dan kurva kalibrasi. Pada pembahasan penelitian ini, nilai % relatif komponen disajikan pula dalam bentuk istilah % area dengan maksud yang sama. Bila meninjau dari nilai % relatif komponen, masing–masing kondisi ekstraksi memiliki komponen tertentu yang memberikan % relatif terbesar. Komponen terbesar dari tiap kondisi ekstraksi dapat diamati pada Tabel 4. *Squalene* merupakan komponen dengan % relatif terbesar pada kondisi ekstraksi 100 bar (40°C) dan 300 bar (60°C). *Squalene* dapat ditemukan juga pada kondisi 300 bar (40°C) dengan % relatif komponen 6,39%, sedangkan pada kondisi 100 bar (60°C) tidak ditemukan. *Squalene* merupakan salah satu bahan yang akhir–akhir ini banyak ditemukan pada produk perawatan kulit karena berpotensi sebagai *emollient* (untuk kelembapan kulit) dan antioksidan (Huang *et al.*, 2009). Untuk senyawa lainnya merupakan komponen terbesar di masing – masing kondisi dan hanya spesifik ditemukan pada kondisi tersebut.

### Perbandingan Hasil Ekstraksi Bunga Kamboja Segar dan Kering

Pada kondisi operasi yang sama, diperoleh bahwa bunga segar memberikan *yield* ekstrak yang lebih besar (9,634%-db) dibandingkan bunga kering (0,736%-db), seperti dapat diamati pada Tabel 5. Hal

ini dapat disebabkan karena kadar air bunga segar yang digunakan pada ekstraksi lebih tinggi (86,82%) dibandingkan bunga kering (6,32%).

Berdasarkan literatur, transfer massa zat terlarut dalam fasa padat dapat dipengaruhi oleh perbedaan kadar air. Kandungan air dapat menjadi hambatan difusi CO<sub>2</sub> superkritik dan zat yang terekstrak pada sampel tersebut karena kandungan air pada sampel dapat bersaing dengan zat terlarut yang ingin diekstraksi untuk kontak dengan pelarut dan menurunkan *yield* ekstraksi (Uwineza dan Waśkiewicz, 2020). Namun, hal sebaliknya dapat terjadi pula, dimana kandungan air dapat meningkatkan kinetika ekstraksi dan *yield* ekstrak (Ivanovic *et al.*, 2011). Air dapat berperan sebagai *modifier* (kopelarut) sehingga meningkatkan polaritas CO<sub>2</sub> superkritik, membantu proses ekstraksi dengan membuka pori–pori, mengembangkan matriks tumbuhan (*swelling*), dan memudahkan akses fluida superkritik terhadap analit (Yousefi *et al.*, 2019).

*Yield* ekstrak bunga kering yang lebih rendah dibandingkan bunga basah dimungkinkan karena fluida superkritik yang bersifat nonpolar (konstanta dielektrik ~2), lebih spesifik di dalam mengambil senyawa yang nonpolar. Tingginya kadar air pada bunga segar akan sedikit banyak mempengaruhi kepolaran fluida superkritik yang masuk ke matriks padatan. Berdasarkan hasil analisis GC-MS jumlah senyawa yang terekstrak dari bunga kamboja segar lebih banyak (65 senyawa, 87% manfaat dilaporkan) dibandingkan bunga kamboja kering (36 senyawa, 80% manfaat dilaporkan). Selain itu, *yield* yang lebih rendah bisa juga disebabkan oleh adanya beberapa senyawa yang terdegradasi terlebih dahulu dari proses pengeringan (45 °C dalam jangka waktu yang cukup lama, ±8 jam). Perbandingan hasil ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik bunga kamboja terhadap studi penelitian sebelumnya telah dilaporkan oleh Armani dan Susanti (2022). Hanya saja sebagai catatan, kondisi bahan baku pada penelitian pembandingan terbatas pada bunga kamboja segar saja. Selain itu, sebagian besar metode ekstraksi menggunakan metode konvensional (hanya satu literatur dilaporkan menggunakan CO<sub>2</sub> superkritik), dengan informasi kondisi ekstraksi yang terbatas.

Tabel 4. Senyawa – senyawa dengan % relatif komponen terbesar pada masing – masing kondisi ekstraksi

Tekanan Ekstraksi	Temperatur Ekstraksi	% Relatif Komponen	Nama Senyawa
100 bar	40 °C	24,02	<i>Squalene</i>
	60 °C	43,37	<i>Lup-20(29)-en-3-ol, acetate, (3.beta.)-alpha-Amyrin</i>
300 bar	40 °C	22,11	<i>Olean-12-ene, 3-methoxy-, (3.beta.)-Squalene</i>
	60 °C	35,12	<i>Squalene</i>
		12,09	

Tabel 5. Hasil ekstraksi minyak esensial bunga kamboja segar dan kering

Kondisi Bahan Baku	Kondisi Operasi	Kadar Air Bahan (%)	Yield Ekstrak (%)	
			%-wb <sup>a</sup>	%-db <sup>b</sup>
Bunga kamboja segar (Armani dan Susanti, 2022)	300 bar,	86,82	1,270	9,634
Bunga kamboja kering	40°C	6,32	0,692	0,736

<sup>a</sup> %-wet basis (persentase *yield* ekstrak dalam basis basah)

<sup>b</sup> %-dry basis (persentase *yield* ekstrak dalam basis kering)



## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik terhadap minyak esensial bunga kamboja *P. obtusa* dengan tekanan operasi yang tinggi (300 bar) menghasilkan *yield* ekstrak yang lebih besar (0,736% dan 0,507%) dan komposisi senyawa yang lebih banyak (36 dan 28 senyawa). Hal ini dikarenakan kenaikan tekanan dapat meningkatkan densitas pelarut sehingga kekuatan pelarut meningkat menyebabkan efisiensi ekstraksi dan komposisi minyak menjadi lebih kompleks. Temperatur operasi yang rendah (40 °C) menghasilkan *yield* ekstrak yang lebih besar (0,515% dan 0,736%) dan komposisi senyawa yang selektif pada masing-masing kondisi tekanan, karena temperatur tinggi dapat menurunkan densitas dan kekuatan pelarut, sehingga kemampuan CO<sub>2</sub> untuk mengekstrak senyawa berkurang. Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritik dapat mengekstrak senyawa target spesifik dengan mengatur kondisi tekanan (300 bar) dan temperaturnya (40°C). Berdasarkan senyawa-senyawa yang teridentifikasi, minyak esensial bunga kamboja *P. obtusa* memiliki potensi untuk diaplikasikan sebagai aromaterapi dan juga bahan penunjang pada produk kecantikan.

### Saran

Proses pembersihan dan optimasi rangkaian reaktor superkritik perlu dilakukan untuk memaksimalkan proses ekstraksi dan memastikan tidak ada ekstrak yang tertinggal dalam pipa dan bagian alat. Selain itu, desain *separator* pun perlu dilihat kembali agar lebih optimal dalam memperoleh ekstrak yang diinginkan.

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan seperti melakukan berbagai percobaan pada tahap *pre-treatment* untuk dapat mengetahui kondisi yang dapat menghasilkan sampel bahan baku yang optimal sebelum dilakukan ekstraksi. Pengujian potensi senyawa yang teridentifikasi seperti khasiat antibakteri, antioksidan, dan sebagainya perlu dilakukan pula untuk mengkonfirmasi dan membuktikan manfaat tersebut secara kuantitatif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad T, Masoodi FA, Rather AS, Wani SM, Gull A. 2019. Supercritical fluid extraction: a review. *Journal of Biological and Chemical Chronicles*. 5(1): 114–122.
- Akowuah GA, Mariam A, dan Chin JH. 2009. The effect of extraction temperature on total phenols and antioxidant activity of *Gynura procumbens* leaf. *Pharmacognosy Magazine*. 5(17): 81-85.
- Armani AF dan Susanti RF. 2022. Study awal ekstraksi minyak esensial bunga kamboja putih (*Plumeria obtusa*) segar: Perbandingan pengaruh metode ekstraksi terhadap komposisi ekstrak. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 32(3): 283-294.
- Arora S dan Kumar G. 2017. Gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) determination of bioactive constituents from the methanolic and ethyl acetate extract of *Cenchrus setigerus* Vahl (Poaceae). *The Pharma Innovation Journal*. 6(11): 635-640.
- Asl PJ, Niazmand R, dan Yahyavi F. 2020. Extraction of phytosterols and tocopherols from rapeseed oil waste by supercritical CO<sub>2</sub> plus co-solvent: A comparison with conventional solvent extraction. *Heliyon*. 6(3): 1-8.
- Attokaran M. 2017. *Natural Food Flavors and Colorants*. 2nd ed. Chicago: John Wiley & Sons, Ltd.
- Beckman S, Eisen EA, Bates MN, Liu S, Haegerstrom-Portnoy G, Hammond SK. 2016. Acquired color vision defects and hexane exposure: a study of san francisco bay area automotive mechanics. *American Journal of Epidemiology*. 183(11): 969-976.
- Brown WH, Iverson BL, Anslyn E, Foote CS. 2012. *Organic Chemistry*. 6th ed. Belmont: Brooks-Cole Cengage Learning.
- Canesi M, Perbellini L, Maestri L, Silvani A, Zecca L, Bet L, Pezzoli G. 2003. Poor metabolism of n-hexane in Parkinson's disease. *Journal of Neurology*. 250(5): 556-560.
- Castro MDL, Variance M, dan Tena MT. 1994. *Analytical Supercritical Fluid Extraction*. 1st Ed. Springer Verlag: Germany.
- Chamorro ER, Zambón SN, Morales WG, Sequeira AF, Velasco GA. 2012. Study of the chemical composition of essential oils by gas chromatography. Di dalam Salih B dan Çelikbiçak Ö (ed.), *Gas Chromatography in Plant Science, Wine Technology and Some Specific Applications*. Rijeka: InTech. P307-324.
- Chandrasekar T, Rao MRK, Kumar RV, Prabhu K, Kumar SN, Divya D. 2015. GC-MS analysis, antimicrobial, antioxidant activity of an Aryurvedic medicine, Nimbapatradi Choornam. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(8): 124-136.
- Che Sulaiman IS, Basri M, Masoumi HRF, Chee WJ, Ashari SE, Ismail M. 2017. Effects of temperature, time, and solvent ratio on the extraction of phenolic compounds and the anti-radical activity of *Clinacanthus nutans* Lindau leaves by response surface methodology. *Chemistry Central Journal*. 11(54): 1-11.
- Chuah XQ, Okechukwu PN, Amini F, Teo SW. 2018. Eicosane, pentadecane, and palmitic acid: the effects in *in vitro* wound healing studies. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 8(10): 490-499.



- Correa DA, Castillo PM, dan Martelo RJ. 2018. Effect of the process parameters on the oil extraction yield during supercritical fluid extraction from grape seed. *Contemporary Engineering Sciences*. 11(13): 611-617.
- Cunha VMB, Silva MP, Costa WA, Oliveira MS, Bezerra FWF, Melo AC, Pinto RHH, Machado NT, Araujo ME, Carvalho Jr. RN. 2018. Carbon dioxide use in high-pressure extraction processes. Di dalam Karamé I (ed.), *Carbon Dioxide Chemistry, Capture, and Oil Recovery*. London: IntechOpen. P211-240.
- Dohai BSM. 2012. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of oil from Henna flower: Experimental, mathematical modeling, and antioxidant activity. [Disertasi]. Al Ain: United Arab Emirates University.
- ECHA. "N-hexane". *European Chemicals Agency (ECHA)*, 25 April 2023, <https://echa.europa.eu/fr/registration-dossier/-/registered-dossier/15741/7/1>. Diakses pada 2 Mei 2023.
- Emmandi R, Sastry MIS, dan Patel MB. 2014. Low level detection of benzene in food grade hexane by ultraviolet spectrophotometry. *Food Chemistry*. 161: 181-184.
- Export Genius. "Plumeria Export Data of Indonesia". *Export Genius*, 2020, <https://www.exportgenius.in/export-data/indonesia/plumeria.php>. Diakses pada 25 April 2023.
- Hossain MA, Al-Mijizy ZH, Al-Rashdi KK, Weli AM, Al-Riyami Q. 2013. Effect of temperature and extraction process on antioxidant activity of various leaves crude extracts of *Thymus vulgaris*. *J. Coast Life Med*. 1(2): 118-122.
- Huang ZR, Lin YK, Fang JY. 2009. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: Potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules*. 14(1): 540-554.
- Ivanovic J, Ristic M, dan Skala D. 2011. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of *Helichrysum italicum*: Influence of CO<sub>2</sub> density and moisture content of plant material. *Journal of Supercritical Fluids*. 57: 129-136.
- Jacob J, Disnar JR, Boussafir M, Albuquerque ALS, Sifeddine A, Turcq B. 2005. Pentacyclic triterpene methyl ethers in recent lacustrine sediments (Lagoa da Caçó, Brazil). *Organic Geochemistry*. 36: 449-461.
- Kadhim MJ, Sosa AA, Hameed IH. 2016. Evaluation of anti-bacterial activity and bioactive chemical analysis of *Ocimum basilicum* using Fourier transform infrared (FT-IR) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) techniques. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 8(6): 127-146.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. "Ekspor Buah, Sayuran, dan Bunga Indonesia Tembus 29 Negara". *Kementerian Pertanian Republik Indonesia*, 20 Maret 2018, <https://www.pertanian.go.id/home/?show=news&act=view&id=1967>. Diakses pada 26 September 2022.
- Khaw KY, Parat MO, Shaw PN, Falconer JR. 2017. Solvent supercritical fluid technologies to extract bioactive compounds from natural sources: A review. *Molecules*. 22(7): 1186.
- Klesper E. 1980. Chromatography with Supercritical Fluids, dalam *Extraction with Supercritical Gases*, Schneider G. M. et al. Verlag Chemie, Weinheim, Germany: Verlag Chemie.
- Lammers A, Zweers H, Sandfeld T, Bilde T, Garbeva P, Schramm A, Lalk M. 2021. Antimicrobial compounds in the volatilome of social spider communities. *Frontiers in Microbiology*. 12: 700693.
- Lemmon EW, Bell IH, Huber ML, McLinden MO. Thermophysical Properties of Fluid Systems. Di dalam Linstrom PJ dan Mallard WG (eds.), *NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69*. Gaithersburg: National Institute of Standards and Technology. <https://webbook.nist.gov/cgi/fluid.cgi?ID=C124389&Action=Page>. Diakses pada 16 Januari 2023.
- Liu H, Zhan R, Wen L, Zhong Z. 2021. The extraction of natural essential oils and terpenoids from plants by supercritical fluid. *E3S Web of Conferences (ICEPE 2021)*. Dali, China. 21-23 Mei 2021.
- Liza MS, Abdul RR, Mandana B, Jinap S, Rahmat A, Zaidul ISM, Hamid A. 2012. Supercritical fluid extraction of bioactive flavonoid from *Strobilanthes crispus* (pecah kaca) and its comparison with solvent extraction. *International Food Research Journal*. 19(2): 504-508.
- Malathi K, Anbarasu A, dan Ramaiah S. 2015. Ethyl iso-allocholate from a medicinal rice *Karungkavuni* inhibits dihydriperate synthase in *Escherichia coli*: A molecular docking and dynamics study. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 78(6): 780-788.
- Martinez-Correa HA, Paula JT, Kayano ACAV, Queiroga CL, Magalhães PM, Costa FTM, Cabral FA. 2017. Composition and antimalarial activity of extracts of *Curcuma longa* L. obtained by a combination of extraction processes using supercritical CO<sub>2</sub>, ethanol and water as solvents. *Journal of Supercritical Fluids*. 119: 122-129.
- Mereen JE dan Diaz JHJ. 2020. GC-MS analysis and anti-inflammatory activity of *Murex Tribulus*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 11(12): 6184-6188.
- Monisha SI dan Vimala JR. 2018. Extraction, identification and pharmacological evaluation

- of phyto-active compound in *Manilkara hexandra* (Roxb.) dubard stem bark. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 15(3): 687-698.
- Mopsik FI. 1967. Dielectric constant of n-hexane as a function of temperature, pressure, and density. *Journal of Research of the National Bureau of Standards. Section A, Physics and Chemistry*, 71A(4): 287-292.
- Nguyen HT, Ho DV, Vo HQ, Le AT, Nguyen HM, Kodama T, Ito T, Morita H, Raal A. 2017. Antibacterial activities of chemical constituents from the aerial parts of *Hedyotis pilulifera*. *Pharmaceutical Biology*. 55(1): 787-791.
- Otieno AJ. 2016. Antimicrobial Activity and Phytochemical Profiles of Warbugia Ugandensis Sprague (Canellaceae) Extracts from Different Populations across the Kenyan Rift Valley. Ph.D. Thesis Kenyatta University, Nairobi, Kenya.
- Pauline FMA dan Sagaya GR. 2016. Phytochemical screening and GC-MS analysis in ethanolic leaf extracts of *Ageratum conyzoides* (L.). *World Journal of Pharmaceutical Research*. 5(7): 1019-1029.
- Perakis C, Louli V, Magoulas K. 2005. Supercritical Fluid Extraction of Black Pepper Oil. *Journal of Food Engineering*. 71: 386-393.
- Petrović L, Lepojević Z, Sovilj V, Adamović D, Tešević V. 2007. An investigation of CO<sub>2</sub> extraction of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of the Serbian Chemical Society*. 72(4): 407-413.
- Pieczkolan, Aleksandra *et al.* 2019. Effects of Supercritical Carbon Dioxide Extraction (SC-CO<sub>2</sub>) on the Content of Tiliroside in the Extracts from *Tilia* L. flowers. *Open Chemistry*. 17(1): 302-312.
- Prayitno TA, Widyorini R, dan Lukmandaru G. 2020. Chemical variation of five natural extracts by non-polar solvent. *Maderas-Cienc y Tecnologia*. 23(1): 1-12.
- Rapa SF, Paola RD, Cordaro M, Siracusa R, D'Amico R, Fusco R, Autore G, Vuzzocrea S, Stuppner H, Marzocco S. 2021. Plumericin protects against experimental inflammatory disease by restoring intestinal barrier function and reducing apoptosis. *Biomedicine*. 9(67): 1-16.
- Reverchon E dan De Marco I. 2006. Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *Journal Supercritical Fluids*. 38: 146-166.
- Ruiz-García L, Figueroa-Vega N, Malacara JM, Barrón-Vivanco B, Salamon F, Carrieri M, Jiménez-Garza O. 2020. Possible role of n-hexane as an endocrine disruptor in occupationally exposed women at reproductive age. *Toxicology Letters*. 330: 73-79.
- Saengsai J, Kongtunjanphuk S, Yoswatthana N, Kummalue T, Jiratchariyakul W. 2015. Antibacterial and antiproliferative activities of plumericin, an iridoid isolated from *Momordica charantia* vine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 823178.
- Sahu MK dan Singh G. 2022. Structural identification through GC mass spectrophotometer and determine anti lithiotic activity of *Hibiscus rosa sinensis* by using ethylene glycol induced method. *Journal of Medicinal Pharmaceutical and Allied Sciences*. 11(1): 4244-4249.
- Salajegheh D, Vazir, IA, dan Bastani D. 2013. Supercritical Extraction of Cocoa Butter from Cocoa Seed Using Pure Carbon Dioxide, Carbon Dioxide with Ethanol as Co-Solvent, and Ethane. *Middle-East Journal of Scientific Research*. 13(8): 1010-1015.
- Santos FA, Frota JT, Arruda BR, Melo TS, Silva AACA, Brito GA, Chaves MH, Rao VS. 2012. Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of  $\alpha, \beta$  amyirin, a triterpenoid mixture from *Protium heptaphyllum* in mice. *Lipids in Health and Diseases*. 11(98): 1-8.
- Sharma U, Singh D, Kumar P, Dobhal MP, Singh S. 2011. Antiparasitic activity of plumericin & isoplumericin isolated from *Plumeria bicolor* against *Leishmania donovani*. *Indian Journal of Medical Research*. 134(5): 709-716.
- Sunol AK, Sunol SG, dan Cogswell K. 2019. Supercritical solvents. Di dalam Substitution of solvents by safer products and processes. Di dalam Wypych G. (ed.). *Handbook of Solvents*. 3<sup>rd</sup> ed. Toronto: Chem Tec Publishing. P1455-1634.
- Tanaka M, Nomaguchi K, dan Ehara T. 2013. Antioxidant. US Patent No: US8470807 B2.
- Taskin H. 2013. Detection of volatile aroma compounds of *Morchella* by headspace gas chromatography mass spectrometry (HS-GC/MS). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 41(1): 122-125.
- US EPA. "Toxicological Review of n-Hexane". U.S. Environmental Protection Agency, November 2005, [https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance\\_nmbr=486](https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=486). Diakses pada 2 Mei 2023.
- Uwineza PA dan Waśkiewicz A. 2020. Recent advances in supercritical fluid extraction of natural bioactive compounds from natural plant materials. *Molecules*. 25(17): 3847.
- Xu L, Zhan X, Zeng Z, Chen R, Li H, Xie T, Wang S. 2021. Recent advances on supercritical fluid extraction of essential oils. *International Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 10(1): 1-16.
- Yogeswari S, Ramalakshmi S, Neelavathy R, Muthumary J. 2012. Identification and

- comparative studies of different volatile fractions from *Monochaetia kansensis* by GCMS. *Global Journal of Pharmacology*. 6(2): 65-71.
- Yousefi M, Rahimi-Nasrabadi M, Pourmortazavi SM, Wysokowski M, Jesiorowski T, Ehrlich H, Mirsadeghi S. 2019. Supercritical fluid extraction of essential oils. *Trends in Analytical Chemistry*. 118: 182-193.
- Zhang S, Dong J, dan Cheng H. 2016. Essential oil composition of the flowers of *Plumeria rubra* cv. *acutifolia* from China. *Chemistry of Natural Compounds*. 52 (1): 154-162.

