

**STUDY AWAL EKSTRAKSI MINYAK ESENSIAL BUNGA KAMBOJA PUTIH (*Plumeria obtusa*)
SEGAR: PERBANDINGAN PENGARUH METODE EKSTRAKSI TERHADAP
KOMPOSISI EKSTRAK**

**A PRELIMINARY STUDY OF ESSENTIAL OIL EXTRACTION OF FRESH WHITE FRANGIPANI
FLOWER (*Plumeria obtusa*): THE EFFECT OF EXTRACTION METHODS TO THE EXTRACT
COMPOSITION**

Arabella Febiola Armani dan Ratna Frida Susanti^{*})

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Katolik Parahyangan
Jln. Ciumbuleuit No. 94, Bandung, Indonesia, 40141
^{*}Email : santi@unpar.ac.id

Makalah: Diterima 28 Oktober 2022; Diperbaiki 6 Desember 2022; Disetujui 15 Desember 2022

ABSTRACT

White frangipani flowers (Plumeria obtusa) are widespread across many regions in Indonesia and are frequently used as an essential component of religious ceremonies as offerings in the temples. They can be found placed at many village corners as local culture and beliefs. The used frangipani flowers caused a huge amount of flower waste. To resolve this issue, frangipani flowers can be utilized through product development to add their value, such as by producing essential oils. It has been reported from previous studies that the essential oil of frangipani flowers was done through conventional methods which used toxic chemical solvents or distillation processes with high-temperature conditions that can damage the volatile and bioactive compounds in flowers. Thus, in this research, the processing of frangipani flowers into essential oil was done with supercritical carbon dioxide (CO₂) extraction. The results showed that supercritical CO₂ extraction produces a lower yield (1.27%) of essential oil if compared to soxhlet extraction with n-hexane (4.23%), however supercritical CO₂ extraction provides advantages of no residue of extraction product and more environmentally-friendly method. Furthermore, the identification of bioactive compounds from P. obtusa essential oil showed that there were 65 compounds identified from supercritical CO₂ extraction with 87% of compounds with activities and benefits reported from literature, whereas essential oil from soxhlet extraction produced more compounds, 76 compounds were identified with 78% of compounds with reported activities and benefits. This confirms that supercritical CO₂ extraction was more selective in extracting specific volatile compounds.

Keywords: bioactive, carbon dioxide, essential oil, plumeria obtuse, supercritical fluid extraction

ABSTRAK

Bunga kamboja putih (*Plumeria obtusa*) tumbuh dan tersebar di seluruh wilayah Indonesia dan banyak digunakan sebagai salah satu komponen penting untuk upacara peribadatan di pura dan juga diletakkan di tiap sudut perkampungan sebagai bagian dari tradisi budaya setempat. Bunga kamboja usai digunakan seringkali berakhir sebagai limbah. Untuk mengatasi masalah tersebut, bunga kamboja dapat ditingkatkan nilai tambahnya dengan pengembangan produk, salah satunya yaitu dengan membuat minyak esensial (minyak atsiri) bunga. Dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, minyak esensial bunga kamboja dilakukan dengan metode ekstraksi konvensional yang menggunakan pelarut kimia yang berbahaya, atau dengan distilasi yang menggunakan temperatur tinggi yang dapat merusak kandungan senyawa volatil dan bioaktif dalam bunga. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan ekstraksi minyak esensial bunga kamboja dengan metode ekstraksi karbondioksida (CO₂) superkritik. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi CO₂ superkritik menghasilkan *yield* ekstrak yang lebih rendah (1,27%) dibandingkan dengan ekstraksi *soxhlet* menggunakan *n*-heksana (4,23%). Akan tetapi, ekstraksi CO₂ superkritik memberikan keuntungan lain karena produk yang dihasilkan bebas residu dan lebih ramah lingkungan. Selain itu, identifikasi senyawa pada minyak esensial bunga kamboja *P. obtusa* menunjukkan bahwa ekstraksi dengan menggunakan CO₂ superkritik menghasilkan 65 senyawa teridentifikasi, dengan 87% sudah dilaporkan manfaatnya dari literatur. Sedangkan identifikasi minyak esensial dari ekstraksi *soxhlet* menunjukkan lebih banyak senyawa, yaitu 76 senyawa dengan 78% yang dapat teridentifikasi manfaatnya. Hal itu menunjukkan bahwa ekstraksi CO₂ superkritik lebih spesifik didalam mengambil senyawa volatil dari minyak esensial.

Kata kunci: ekstraksi fluida superkritik, karbon dioksida, minyak esensial, *plumeria obtusa*, senyawa volatil

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki biodiversitas yang luas dengan jumlah

spesies flora mencapai kurang lebih 20.000 spesies, dan 40% di antaranya merupakan tumbuhan asli Indonesia (Kusmana dan Hikmat, 2015). Dua spesies kamboja yang mudah dikenali dari bentuk bunga dan

daunnya di antaranya *Plumeria rubra* dan *Plumeria obtusa*. Di Indonesia, bunga kamboja dapat ditemukan di area pemakaman, sepanjang jalan raya, pekarangan rumah, dan bertaburan di berbagai pura atau candi (digunakan sebagai komponen penting dalam persembahan pada prosesi ibadah). Potensi limbah bunga yang dihasilkan cukup besar, sedangkan manajemen limbah yang dilakukan seringkali tidak tepat sehingga pada akhirnya menjadi limbah perairan. Di lain pihak, kebutuhan bunga kamboja kering di dunia cukup tinggi, namun hanya sedikit negara yang dapat menyediakan, sehingga Indonesia mengeksport sebagian besar bunga kamboja kering ke luar negeri, seperti China dan daratan Eropa. Bunga kamboja kering dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan parfum, kosmetik, kerajinan dupa, teh herbal, dan lain-lain (Sundari *et al.*, 2016). Harga bunga kamboja itu sendiri fluktuatif sesuai permintaan pasar. Berdasarkan data permintaan bunga kamboja pada tahun 2010-2015 menunjukkan bahwa permintaan bunga kamboja mengalami kenaikan dari 32,3 ton hingga mencapai 95,7 ton pada tahun 2010-2013. Hal ini juga mempengaruhi harga bunga yang mengalami kenaikan hingga 10 kali lipat (Rp10.000,00/kg – Rp100.000,00/kg). Namun, permintaan bunga kamboja mengalami penurunan pada tahun 2014-2015 dan harga bunga turun kembali menjadi Rp10.000,00/kg – Rp15.000,00/kg. Pada tahun 2017, berdasarkan data ekspor produk hortikultura untuk bunga kamboja dan melati, Indonesia telah mengeksport 1.067 ton bunga ke negara Kamboja, Vietnam, Thailand, China, dan Singapura (Kementerian Pertanian Republik Indonesia, 2018). Ketersediaan yang melimpah perlu diimbangi dengan 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 dikenal sebagai minyak atsiri, dengan cara ekstraksi. Hal itu memberikan keuntungan seperti menjaga aroma dan kandungan senyawa volatil di dalamnya agar tidak hilang secara signifikan, berkurangnya ukuran, ruang simpan, berat produk sehingga memudahkan transportasi, serta umur simpan minyak bunga dapat menjadi lebih panjang tanpa menurunkan aroma dan kandungannya

Penelitian mengenai ekstraksi minyak esensial dari bunga kamboja dari berbagai genus sebelumnya sudah pernah dilakukan dengan metode ekstraksi konvensional, seperti metode ekstraksi *soxhlet*, metode distilasi dan metode lama seperti *enfleurage*. Megawati dan Saputra (2012) melakukan ekstraksi *soxhlet* menggunakan pelarut *n*-heksana terhadap bunga kamboja dan ditemukan bahwa kamboja warna kuning memberikan *yield* tertinggi, komposisi minyak yang lebih banyak, aroma yang lebih harum dan tajam, dengan *yield* minyak esensial dengan ekstraksi *soxhlet* lebih tinggi dibandingkan metode distilasi kukus (<0,11%). Kandungan senyawa kimia

yang ditemukan yaitu geraniol, farnesol, oktadekanol, oktadekana, dan nonadekana. Wartini *et al.* (2014) melakukan ekstraksi *soxhlet* bunga *Plumeria alba* dengan *n*-heksana dan diperoleh ekstrak semi-padat (*concrete*) dengan senyawa yang teridentifikasi pada minyak esensial terdiri dari gugus alkohol, terpena, keton, ester, dan asam. Selain metode ekstraksi *soxhlet*, Goswami *et al.* (2016) melakukan ekstraksi minyak esensial dan kandungan senyawa bunga *P. rubra* dengan hidrodistilasi selama 3 jam dengan *yield* minyak esensial 0,016% dan terdapat 31 komponen yang teridentifikasi (didominasi oleh benzyl ester dan alifatik alkana). Pitpiangchan *et al.* (2009) melakukan ekstraksi bunga *P. obtusa* dengan membandingkan berbagai metode (distilasi air, distilasi kukus, distilasi air-kukus, ekstraksi dengan *n*-heksana, petroleum eter, dan *enfleurage* panas dan dingin). *Yield* tertinggi diperoleh dari *enfleurage* panas (12,24%) dan ekstraksi *n*-heksana (0,5377%) dengan senyawa dominan yang ditemukan yaitu benzyl salisilat dengan komposisi tertinggi diperoleh dari metode ekstraksi *n*-heksana sebesar 44,69%. Pitpiangchan *et al.* menyimpulkan bahwa ekstraksi bunga kamboja dengan *n*-heksana merupakan metode paling sesuai pada skala pilot untuk aplikasi ekstrak di bahan kosmetik dan lebih ekonomis. Kelemahan metode distilasi yaitu 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 dari minyak esensial yang diekstraksi, memicu terbentuknya reaksi hidrasi zat kimia, dan perlu proses lanjutan setelah ekstraksi 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 kelemahannya (Attokaran, 2017). Metode distilasi dan ekstraksi pelarut kurang ramah lingkungan dan menghasilkan polusi tambahan karena menghasilkan pelarut kontaminan yang berbahaya dan asap beracun (Xu *et al.*, 2021).

Metode lain yang memiliki keunggulan dibandingkan metode konvensional lainnya yaitu ekstraksi fluida superkritik. Ekstraksi fluida superkritik merupakan salah satu metode yang digunakan untuk memperoleh senyawa bioaktif (flavonoid, minyak esensial, karotenoid, asam lemak, antioksidan, pigmen, aroma) dari bahan baku alam yang lebih ramah lingkungan karena menggunakan pelarut yang aman dan tidak meninggalkan residu pelarut organik, memiliki efisiensi tinggi, waktu proses yang cepat dan hemat energi (Asl *et al.*, 2020). Sehingga metode ini cocok untuk mengekstrak senyawa volatil dan termolabil yang mana produknya telah diaplikasikan untuk berbagai industri herbal, rempah, tumbuhan aromatik dan obat-obatan (Uwineza dan Waskiewicz, 2020). Ekstraksi CO₂ superkritik dapat memberikan aroma ekstrak yang lebih alami dan mendekati bahan baku awal, seperti

yang ditemukan pada minyak esensial dari kulit kabosu (*Citrus sphaerocarpa* Tanaka) (Suetsugu *et al.*, 2013), aroma dan rasa dari lada, jahe, rempah – rempah lainnya, juga aroma dari teh. CO₂ superkritik mampu mengambil senyawa volatil (seperti aroma) lebih baik daripada metode ekstraksi konvensional yang menggunakan pelarut organik (Capuzzo *et al.*, 2013).

CO₂ superkritik digunakan dalam ekstraksi karena mudah didapatkan, dapat digunakan kembali (*reusable*), ekonomis, tidak reaktif secara kimia, tidak beracun, dapat dipisahkan dari ekstrak, memiliki temperatur dan tekanan kritis yang relatif rendah (31,1 °C; 72,8 bar) (Khaw *et al.*, 2017) 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). Namun, metode ini juga memiliki beberapa kekurangan yaitu biaya yang kurang ekonomis, peralatannya cukup kompleks, membutuhkan tekanan tinggi, kurang optimal dalam mengekstraksi senyawa polar (kecuali dengan bantuan *modifier*), dan konsumsi energi yang tinggi (Khawli *et al.*, 2019).

Densitas, viskositas dan difusivitas fluida superkritik dapat diatur dengan merubah kondisi operasi yang digunakan. Kemampuan ekstraksi dan solubilitas dari CO₂ superkritik terhadap suatu senyawa di antaranya bergantung pada polaritas senyawa tersebut karena sifatnya yang non-polar seperti pelarut *n*-heksana (Ahmad *et al.*, 2019). Keduanya memiliki konstanta dielektrik yang serupa, yaitu 1,6 untuk CO₂ superkritik (Klesper, 1980) dan 1,88 untuk *n*-heksana (Mopsik, 1967). Densitas yang tinggi dapat mempengaruhi kekuatan pelarut CO₂ yang kemudian dapat memberikan solubilitas dan selektivitas yang tinggi (Uwineza & Waskiewicz, 2020). Selektivitas terhadap senyawa target tersebut dapat dicapai oleh CO₂ superkritik dengan memvariasikan tekanan dan/atau temperatur ekstraksi (Khaw *et al.*, 2017). Penggunaan tekanan tinggi dapat meningkatkan densitas pelarut dan solubilitas minyak (Perakis *et al.*, 2005). Pada tekanan tinggi yang mendekati/melebihi titik kritis, densitas pelarut meningkat drastis dan mempengaruhi kekuatan pelarut yang menyebabkan peningkatan efisiensi ekstraksi dan mempengaruhi komposisi minyak menjadi lebih kompleks (Petrović *et al.*, 2007). Peningkatan tekanan hingga empat kali lipat dari tekanan kritis fluida superkritik, densitas dapat digandakan sehingga mendekati densitas cairan (sedangkan difusivitas dan viskositasnya menyerupai gas), sehingga selektivitas ekstraksi terhadap senyawa target dapat diperoleh oleh fluida superkritik dalam jangka waktu yang singkat. CO₂ superkritik memiliki densitas pada titik kritis yang relatif tinggi (467,6 kg/m³) (Span dan Wagner, 1996), yang menyebabkan kekuatan pelarutnya di dekat titik kritis lebih tinggi dibandingkan fluida superkritik lain dan

rentang densitasnya mudah divariasikan (Khaw *et al.*, 2017).

Ekstraksi CO₂ superkritik dapat dilakukan pada temperatur rendah karena CO₂ memiliki temperatur kritis mendekati temperatur ruang, sehingga temperatur yang digunakan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang termolabil (tidak tahan panas seperti senyawa volatil) tidak memerlukan nilai yang tinggi (Cunha *et al.*, 2018). Pada penelitian yang dilakukan Hossain *et al.* (2013), ditemukan bahwa akibat dari naiknya temperatur, senyawa bioaktif dalam bahan daun *Thymus vulgaris* menjadi terdekomposisi.

Metode ekstraksi CO₂ superkritik jarang ditemui dan digunakan sebagai metode ekstraksi bunga kamboja dalam penelitian sebelumnya. Zhang *et al.* (2016) meneliti komposisi minyak esensial dari bunga kamboja *P. rubra* dari China, di mana ekstraksi minyak esensial dilakukan dengan metode ekstraksi CO₂ 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*, β -linalool, *octadecanoic acid*, dan *cis-linoleic acid*. Namun, berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan, belum ditemukan adanya penelitian yang mempelajari ekstraksi dan komposisi minyak esensial bunga kamboja (khususnya *P. obtusa*) dengan ekstraksi CO₂ superkritik.

Dalam penelitian ini, minyak esensial bunga *P. obtusa* dihasilkan dengan metode ekstraksi CO₂ superkritik sebagai komponen terbaru dalam penelitian, dan ekstraksi *soxhlet* dengan *n*-heksana sebagai pembanding untuk menilai hasil ekstrak minyak esensial yang diperoleh dari kedua metode. Rusaknya kandungan bioaktif akibat perlakuan termal mendasari dipilihnya pelarut *n*-heksana pada ekstraksi *soxhlet*, karena *n*-heksana memiliki titik didih yang rendah (60-70 °C), sehingga temperatur operasi ekstraksi tidak terlalu tinggi dan tidak merusak kandungan senyawa volatil yang terdapat pada sampel bunga. *n*-Heksana dipilih juga atas dasar riset studi literatur terhadap penelitian-penelitian sebelumnya mengenai ekstraksi *soxhlet* bahan baku bunga kamboja, di antaranya ekstraksi bunga *P. obtusa* oleh Pitpiangchan *et al.* (2009).

Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui dan membandingkan perolehan ekstrak bunga kamboja segar yang diperoleh dari kedua metode ekstraksi konvensional (ekstraksi *soxhlet*) dan non-konvensional (ekstraksi CO₂ superkritik) dan juga untuk mengetahui senyawa volatil yang terkandung dalam minyak esensial dari kedua metode tersebut beserta manfaatnya. Bunga segar jatuh dari pohon langsung dimanfaatkan tanpa pengeringan agar dapat diketahui pengaruh keberadaan kadar air di dalam

bunga kamboja terhadap senyawa volatil yang dihasilkan, termasuk didalamnya kemungkinan adanya senyawa polar. Selain itu, perlakuan tanpa pengeringan dapat memberikan alternatif untuk menyederhanakan proses pengolahan yang dilakukan masyarakat yang dekat dengan sumber bahan baku, maupun meminimasi kerusakan komponen yang sensitif terhadap perlakuan panas.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bunga kamboja putih (*P. obtusa*) segar sebagai bahan yang akan diekstraksi, karbon dioksida (CO₂, 99,8%, CV. Sangkuriang, Indonesia) sebagai fluida ekstraksi superkritik, dan *n*-heksana (C₆H₁₄, Bratachem ®, Indonesia) sebagai pelarut dalam ekstraksi *soxhlet*.

Metode

Pengumpulan Bahan Baku dan Persiapan Ekstraksi

Bunga kamboja putih *P. obtusa* diperoleh dari area pemukiman di daerah Jawa Barat, Indonesia dalam keadaan segar dan kelopak yang sudah mekar. Pada saat pengambilan bunga, dipastikan bahwa kondisi bunga tidak ada yang layu. Bunga kamboja dibersihkan dengan cara mengusap kelopak bunga menggunakan lap kering untuk membersihkan bunga dari partikel – partikel kotoran yang menempel. Kelopak bunga kamboja dilepaskan dari sepalnya, kemudian kadar air bunga diukur dengan menggunakan alat *moisture analyzer*. Lalu kelopak bunga dipotong kecil dengan bentuk kotak ukuran 0,3 - 0,5 mm.

Beberapa parameter percobaan pada ekstraksi CO₂ superkritik dan ekstraksi *soxhlet* dengan *n*-heksana dijaga agar dapat sama, seperti jumlah bahan baku (± 7 gram), waktu ekstraksi (3 jam), *batch* pengambilan bahan baku (hari yang sama), kadar air yang tidak berbeda signifikan (86,82% dan 89,02%, seperti tercantum pada Tabel 1), konstanta dielektrik yang mirip yaitu 1.6 untuk CO₂ (Klesper, 1980) dan 1.88 untuk *n*-heksana (Mopsik, 1967) yang menunjukkan sifat pelarut non-polar.

Ekstraksi Fluida Superkritik

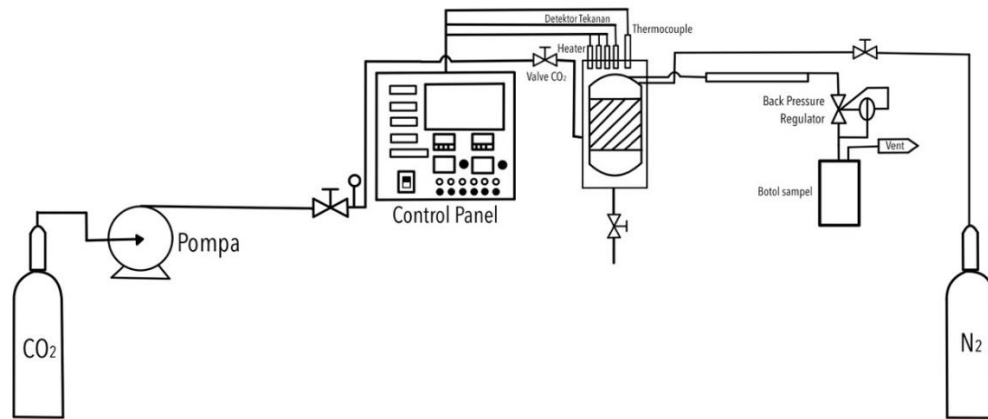
Ekstraksi superkritik dilakukan pada rangkaian alat ekstraksi yang bisa dilihat pada Gambar 1. Rangkaian alat terdiri dari tangki penyimpanan CO₂; tangki penyimpanan N₂ untuk *purging*; pompa yang memasok CO₂ masuk ke reaktor; reaktor tempat proses ekstraksi berlangsung (ekstraktor); *thermocouple* sebagai sensor untuk mengukur temperatur dalam reaktor; *heater* untuk memanaskan reaktor sesuai temperatur yang diinginkan; *Back Pressure Regulator* (BPR) untuk mengatur tekanan dalam kolom ekstraksi dan menurunkan tekanan dari fluida superkritik; *control*

panel untuk mengatur temperatur dan mengecek profil tekanan tiap waktu; *vent* untuk membuang gas CO₂ keluaran ekstraktor yang dipisahkan dari ekstrak; dan botol sampel untuk menampung ekstrak yang diperoleh.

Sebanyak ± 7 g potongan kelopak bunga kamboja putih segar diekstraksi dalam reaktor superkritik dengan CO₂ selama 3 jam pada tekanan 300 bar, temperatur 40 °C, laju alir CO₂ sebesar 21 mL/menit, dan juga mode operasi statik-dinamik setiap 15 menit. Sampel bunga dimasukkan ke dalam wadah sampel yang berada di dalam reaktor superkritik, lalu rangkaian lainnya dipasang. Pompa CO₂ dinyalakan dan CO₂ dialirkan ke dalam reaktor. BPR diatur agar tekanan operasi dalam reaktor mencapai 300 bar. Saat tekanan sudah tercapai, dilakukan pemanasan reaktor hingga temperatur mencapai 40°C. Untuk memasuki mode operasi statik, kerangan CO₂ ke dalam reaktor ditutup, sehingga tidak ada CO₂ yang mengalir kontinu ke dalam reaktor. Lalu 15 menit kemudian kerangan dibuka sehingga CO₂ kembali mengalir secara kontinu ke dalam reaktor, yang mana merupakan mode operasi dinamik. Siklus tersebut diulang bergantian setiap 15 menit. Saat ekstraksi berakhir, ekstrak yang tertampung dalam botol sampel ditimbang untuk dihitung perolehannya, kemudian disimpan untuk analisis lebih lanjut.

Ekstraksi Soxhlet

Potongan kelopak bunga kamboja putih dengan jumlah yang sama seperti pada ekstraksi fluida superkritik (± 7 g) diekstraksi dengan pelarut *n*-heksana sebanyak 250 mL selama 3 jam (12-15 siklus) pada temperatur 69 °C (titik didih *n*-heksana). Potongan kelopak bunga kamboja tersebut dikemas dalam kertas saring lalu dimasukkan ke dalam *thimble soxhlet*, dimana uap pelarut *n*-heksana dari labu penampung akan naik melalui pipa pengalir uap dan pendingin sehingga mengembun dan menetes pada sampel di dalam *thimble*. Cairan pelarut yang menetes kemudian akan menggenang dalam *thimble* yang berisi sampel dan mengekstrak minyak esensial pada bunga. Saat cairan tersebut sudah melebihi tinggi sifon, cairan akan mengalir jatuh ke labu penampung ekstrak, kemudian siklus yang sama akan terulang. Ekstrak yang tertampung dalam labu tercampur dengan pelarut *n*-heksana, sehingga dilakukan tahap pemisahan pelarut dengan cara evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada temperatur 69 °C. Evaporasi dihentikan dengan parameter tidak ada lagi pelarut yang menetes sampai 5 menit. Ekstrak yang diperoleh ditimbang untuk dihitung *yield*-nya, lalu disimpan dalam botol sampel untuk analisis lebih lanjut. Dalam penelitian ini *yield* didefinisikan sebagai perbandingan massa ekstrak minyak esensial yang diperoleh terhadap massa bahan baku bunga awal (Persamaan 1).



Gambar 1. Skema diagram rangkaian reaktor superkritik yang digunakan pada penelitian

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

Karakterisasi

Kadar air awal bahan baku bunga kamboja yang akan diekstraksi, analisis kadar air dilakukan dengan menggunakan alat *moisture analyzer* (Halogen Moisture Analyzer HE53, Mettler Toledo, US). Ekstrak minyak esensial bunga kamboja dianalisis dengan menggunakan *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS, Agilent 7890B (GC), US) dengan kolom Agilent 19091S-433 (US): 93,92873 DB-5MS UI, 5% phenyl methyl siloxane, dimensi 30 m x 250 μm x 0,25 μm . 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 μL dan gas *carrier* berupa helium dengan laju alir 1 mL/menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Air dan Perolehan Ekstrak Minyak Esensial Bunga Kamboja *P. Obtusa*

Sampel yang digunakan adalah bunga kamboja putih yang masih segar dan memiliki kadar air yang masih tinggi, seperti terlihat pada Tabel 1, yaitu berkisar antara 87–89%. Berdasarkan beberapa studi penelitian, transfer massa zat terlarut dalam fasa padat dapat dipengaruhi oleh perbedaan kadar air. Pada jenis sampel tertentu, kandungan air dapat menjadi hambatan difusi CO₂ 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 Waškiweicz, 2020). Namun, pada studi penelitian lain, seperti pada bunga *Helichrysum italicum* (Ivanovic *et al.*, 2011) ditemukan bahwa kandungan

air dapat meningkatkan kinetika ekstraksi dan perolehan ekstrak. Air dapat berperan sebagai *modifier* yang meningkatkan polaritas CO₂ superkritik, membantu proses ekstraksi dengan membuka pori-pori, mengembungkan (*swelling*) matriks tumbuhan, dan memudahkan akses fluida superkritik terhadap analit (Yousefi *et al.*, 2019). Pérez *et al.* (2018) mempelajari pengaruh kandungan air *collet* bunga matahari terhadap kualitas ekstrak minyak yang dihasilkan dengan ekstraksi *soxhlet* menggunakan *n*-heksana, dan ditemukan bahwa kandungan air dapat menyebabkan perbedaan yang signifikan terhadap *yield* minyak yang dihasilkan. Aktivitas air bahan yang diekstraksi meningkat seiring dengan meningkatnya kadar air, dan air yang terjerap pada matriks bahan baku dapat menyebabkan *swelling* dan disrupsi pada struktur sel sehingga adsorpsi dan kondensasi kapiler dari *n*-heksana menjadi lebih baik dan meningkatkan kemampuan akses pelarut terhadap minyak. Namun pada kadar air yang lebih tinggi, air bebas dapat mengisi pori-pori dan menghambat penetrasi *n*-heksana yang dapat mengurangi laju ekstraksi. Selain itu, air hanya dapat larut 0,3-0,35% di dalam CO₂ superkritik, sehingga kadar air dalam jumlah berlebihan dapat mengurangi kemampuan ekstraksi CO₂ superkritik terhadap senyawa dengan polaritas rendah, sehingga kadar air yang cukup disarankan untuk proses ekstraksi yang lebih baik (Yousefi *et al.*, 2019).

Hasil *yield* ekstrak minyak esensial bunga kamboja menunjukkan bahwa metode ekstraksi *soxhlet* dengan *n*-heksana memberikan *yield* ekstrak yang lebih tinggi dibandingkan ekstraksi CO₂ superkritik (Tabel 1). Hal ini dapat disebabkan karena sifat CO₂ superkritik yang memiliki selektivitas tinggi terhadap senyawa target/spesifik saja (terutama yang bersifat non-polar atau kurang polar) (Rahmawati *et al.*, 2015).

Tabel 1. Hasil ekstraksi minyak esensial bunga kamboja dengan berbagai metode ekstraksi

Metode Ekstraksi	Detail Kondisi Percobaan	Kadar Air Bahan (%)	Yield Ekstrak (%)	
			%-wb ^a	%-db ^b
CO ₂ superkritik (300 bar, 40 °C)	300 bar, 40 °C, 3 jam	86,82	1,27	9,63
<i>Soxhlet</i> dengan pelarut <i>n</i> -heksana	3 jam	89,02	4,23	38,52
<i>Soxhlet</i> dengan pelarut <i>n</i> -heksana (<i>P. obtusa</i>) (Pitpiangchan <i>et al.</i> , 2009)	1 jam	TT ^d	0,54 ^c	
<i>Soxhlet</i> dengan pelarut <i>n</i> -heksana (<i>P. alba</i>) (Wartini <i>et al.</i> , 2014)	4 jam	TT ^d	TT ^d	TT ^d
CO ₂ superkritik <i>P. rubra</i> (Zhang <i>et al.</i> , 2016)	TT ^d	TT ^d	TT ^d	TT ^d

^a %-wet basis (persentase yield ekstrak dalam basis basah)

^b %-dry basis (persentase yield ekstrak dalam basis kering)

^c tidak ada informasi nilai yield ekstrak dinyatakan dalam basis basah atau kering

^d tidak tersedia informasi

Minyak esensial *P. obtusa* dengan ekstraksi *soxhlet* pada penelitian ini menghasilkan *yield* yang lebih besar (4,23%-wb) dibandingkan *yield* ekstraksi *soxhlet* *P. obtusa* dari penelitian yang dilakukan oleh Pitpiangchan *et al.* (2009) (0,54%), seperti pada Tabel 1. Sementara itu, belum ada penelitian yang meneliti minyak esensial *P. obtusa*. Zhang *et al.* (2016) meneliti komposisi minyak esensial *P. rubra* dari China dengan ekstraksi CO₂ superkritik, namun tidak ada informasi jelas mengenai kondisi bahan baku, proses ekstraksi, kondisi operasi yang dilakukan, dan *yield* yang dihasilkan. Kondisi proses ekstraksi yang dilakukan oleh Pitpiangchan *et al.* (2009) dapat diamati pada Tabel 1, namun terdapat sedikit informasi mengenai kondisi operasi ekstraksi, kondisi bahan baku yang digunakan, dan tidak ada informasi mengenai kadar air bahan baku dan efeknya terhadap *yield* yang dihasilkan tersebut. Sehingga perbandingan hasil penelitian terbatas.

Hasil metode ekstraksi superkritik dapat dianggap lebih baik dibandingkan dengan ekstraksi *soxhlet* karena ekstraksi superkritik lebih bersih dan ramah lingkungan, serta dapat menghasilkan ekstrak minyak esensial yang lebih murni karena tidak ada residu pelarut pada ekstraknya akibat sifat CO₂ yang berubah menjadi gas pada temperatur ruang. Hal ini dapat menguntungkan untuk aplikasi pada industri pangan dan produk alami yang umumnya menggunakan ekstrak yang memiliki senyawa yang termolabil dan mudah teroksidasi (Herrero *et al.*, 2010). Ekstraksi *soxhlet* menggunakan pelarut *n*-heksana dapat berbahaya untuk lingkungan, manusia, dan hewan, bahkan pada konsentrasi yang rendah (Perrier *et al.*, 2017) dan perlu adanya tambahan proses pemisahan pelarut dari ekstrak minyak esensial setelah proses ekstraksi dilakukan yang mana membutuhkan energi intensif (Bhargavi *et al.*, 2018).

Komposisi Senyawa Kimia Minyak Esensial Bunga Kamboja *P. obtusa*

Ekstraksi fluida superkritik memiliki keuntungan karena dapat mengekstraksi senyawa yang lebih spesifik (senyawa target) dari bahan baku

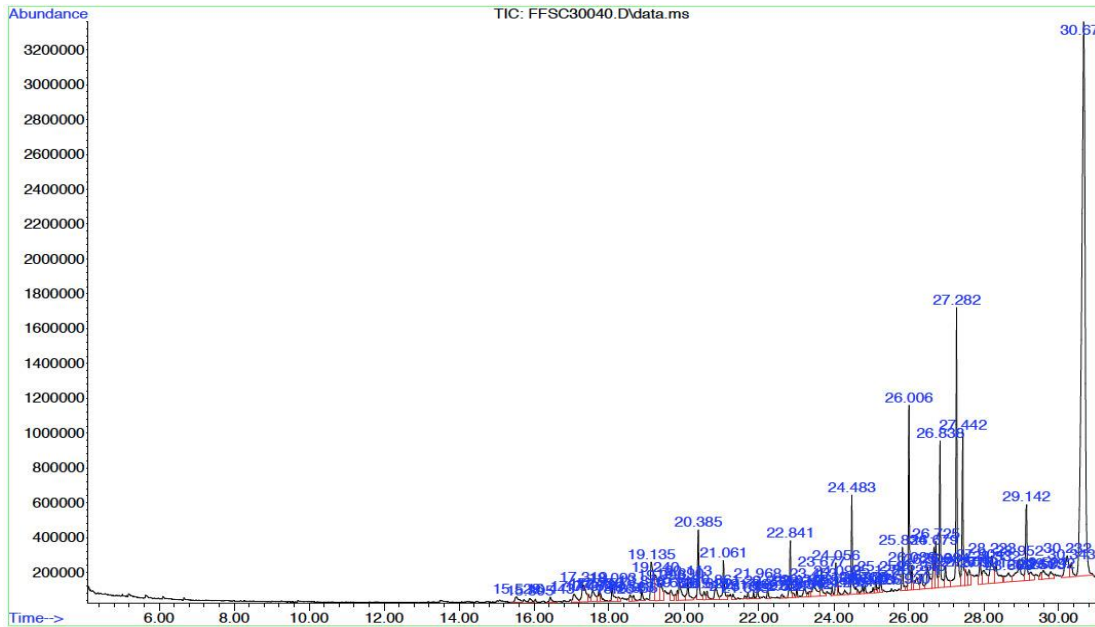
dengan perubahan temperatur dan tekanan operasi pada daerah kritik yang dapat memberikan perubahan pada densitas dan solubilitas pelarut. Berdasarkan penelitian sebelumnya, beberapa komponen senyawa yang teridentifikasi pada minyak esensial bunga kamboja di antaranya yaitu nerolidol, geraniol, farnesol (golongan *terpene*); senyawa organik seperti *eicosane*, *benzyl benzoate*; dan golongan asam lemak seperti asam laurat dan *methyl stearate*. Komponen – komponen tersebut memiliki manfaat memberikan aroma pada parfum, produk kosmetik dan perawatan; memiliki potensi sebagai antibakteri, antimikroba, anti-serangga, antioksidan, dan juga membantu melembabkan kulit. Hal ini menjadi dasar pertimbangan senyawa yang menjadi target penelitian ekstraksi fluida superkritik ini.

Analisis GC-MS dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak minyak esensial *P. obtusa* pada penelitian ini, baik dari ekstraksi CO₂ superkritik maupun ekstraksi *soxhlet* dengan *n*-heksana. Senyawa – senyawa yang teridentifikasi pada minyak esensial *P. obtusa* dari kedua metode ditemukan bersifat non-polar dan/atau kurang polar. Sedangkan senyawa polar tidak ditemukan pada minyak esensial. Analisis GC-MS terhadap minyak esensial ekstraksi CO₂ superkritik menghasilkan sebanyak 65 senyawa teridentifikasi dengan 87% sudah dilaporkan manfaatnya dari literatur, sedangkan ekstraksi *soxhlet* menghasilkan sebanyak 76 senyawa teridentifikasi dengan 78% yang dapat teridentifikasi manfaatnya. Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi CO₂ superkritik lebih spesifik didalam mengambil senyawa ekstrak.

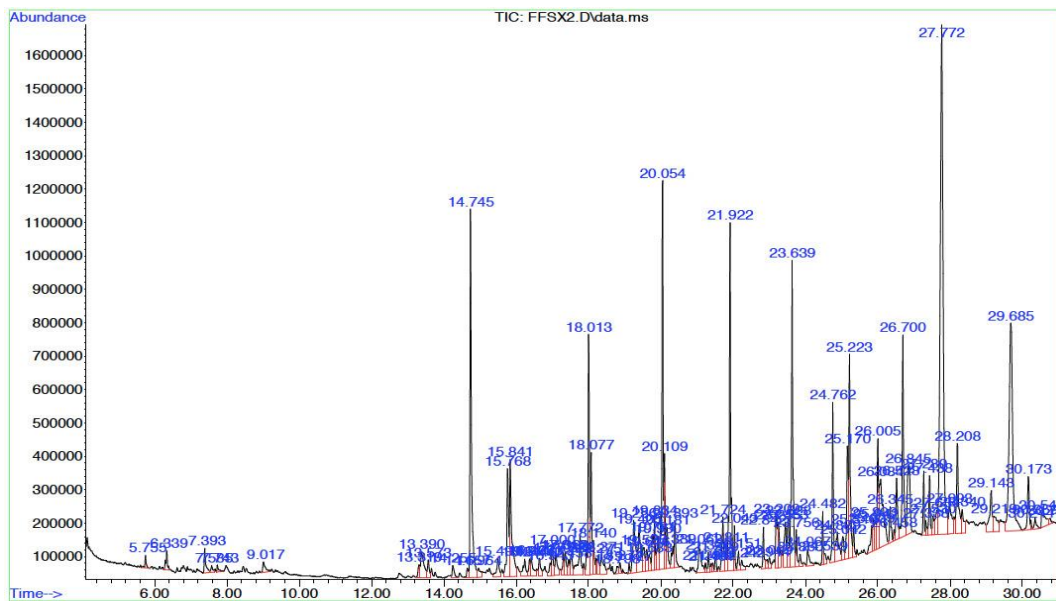
Hasil kromatogram dari senyawa hasil ekstraksi bunga kamboja dengan CO₂ superkritik dapat diamati pada Gambar 2, dan kromatogram ekstraksi *soxhlet* dengan *n*-heksana dapat diamati pada Gambar 3. Namun, dari sekian banyak puncak yang terdeteksi, terdapat 20–26 puncak yang memberikan % area terbesar (>1%) yang dapat diamati pada Tabel 2 dan diketahui bahwa terdapat setidaknya empat senyawa yang sama yang terkandung pada minyak esensial dari kedua metode

ekstraksi, yaitu *9-Tricosene*, (*Z*)-, *Benzoic acid*, *2-hydroxy-*, *phenylmethyl ester*, *Octacosane*, dan *Eicosane*.). Berdasarkan Tabel 2, beberapa senyawa yang hanya teridentifikasi pada minyak esensial dengan ekstraksi CO₂ superkritik di antaranya *Hexatriacontane*; *Squalene*; Nerolidol; dan *2,6,10-Dodecatrien-1-ol*, *3,7,11-trimethyl-* yang menjadi target di awal penelitian ini berhasil diekstrak. Senyawa seperti nerolidol dan *2,6,10-Dodecatrien-1-ol*, *3,7,11-trimethyl-* berpotensi memberikan aroma, yang membuktikan bahwa ekstraksi CO₂ superkritik

dapat mengekstrak senyawa aroma tanpa penggunaan pelarut kimia. Beberapa senyawa lainnya, seperti nerolidol, geraniol (dalam bentuk *geranyl acetate*, tidak memiliki gugus alkohol), *eicosane*, *benzyl benzoate*, dan *methyl stearate*, dapat diamati pada tabel informasi pendukung. Hal ini membuktikan bahwa CO₂ superkritik dapat mengekstraksi senyawa target spesifik dengan kondisi operasi tekanan pada 300 bar dan temperatur 40 °C.



Gambar 2. Kromatogram GC-MS dari minyak esensial bunga kamboja dengan ekstraksi CO₂ superkritik pada 300 bar dan 40°C



Gambar 3. Kromatogram GC-MS dari minyak esensial bunga kamboja dengan ekstraksi *soxhlet* menggunakan pelarut *n*-heksana

Tabel 2. Komposisi kimia minyak esensial bunga *P. obtusa* hasil ekstraksi CO₂ superkritik dan Soxhlet n-heksana

Nama Senyawa	SC-CO ₂		Soxhlet		Potensi manfaat senyawa ekstrak	
	RT (menit)	% Area	RT (menit)	% Area		
<i>Hexatriacontane</i>		30,676	34,985	-	-	Antioksidan, penangkal radikal bebas (Arora dan Meena, 2017)
<i>α-Amyrin acetate</i>	-	-	-	27,772	13,51	Anti-inflamasi, <i>antifungal</i> (Okoye <i>et al.</i> , 2014)
<i>2-(2-Phenoxythiiny)l imidazo[1,2-a]pyridine</i>	-	-	-	29,685	6,74	-
<i>9-Tricosene, (Z)-</i>		27,282	6,11	25,223	2,61	Pestisida untuk lalat (Carpita <i>et al.</i> , 2012)
<i>2,4-Di-tert-butylphenol</i>	-	-	-	14,745	4,84	Antioksidan, <i>antifungal</i> , antikanker (Varsha <i>et al.</i> , 2015)
<i>5-Eicosene</i>	-	-	-	20,054	4,57	Antibakteri, <i>antifungal</i> , antitumor, <i>cytotoxic</i> (Goyal <i>et al.</i> , 2020)
<i>9-Nonadecene</i>	-	-	-	21,922	4,35	Antimikroba, <i>antifungal</i> (Pauline dan Sagaya, 2016)
<i>Cyclotetracosane</i>	-	-	-	23,639	3,94	<i>Antifungal</i> (Mohamad <i>et al.</i> , 2022)
<i>Octadecane</i>		26,006	3,34	-	-	Antibakteri (Nguyen <i>et al.</i> , 2017)
<i>Tetracosane</i>		27,442	3,17	-	-	Antioksidan (Aliyu <i>et al.</i> , 2018)
<i>Squalene</i>		26,838	3,01	-	-	Antioksidan, <i>emollient</i> , memberikan kelembapan pada kulit, antitumor (Huang <i>et al.</i> , 2009)
<i>E-15-Heptadecenal</i>	-	-	-	18,013	2,97	Antibakteri, <i>antifungal</i> (Yogeswari <i>et al.</i> , 2012)
<i>1-Docosene</i>	-	-	-	26,700	2,58	Antibakteri (Sahar dan Aida, 2018)
<i>β-Amyrin</i>	-	-	-	26,084	2,47	Antioksidan, anti-inflamasi, analgesik, antidepresan (Viet <i>et al.</i> , 2021)
<i>Hexadecane</i>	-	-	-	15,841	2,35	Antioksidan, antibakteri (Yogeswari <i>et al.</i> , 2012)
<i>Benzoic acid, 2-hydroxy-, phenylmethyl ester</i>		19,135	2,19	19,256	1,20	Antioksidan dan anti-inflamasi (Saxena dan Rao, 2021)
<i>Triacotane</i>		29,142	2,17	-	-	Antibakteri, antidiabetik, antitumor (Mammen <i>et al.</i> , 2010)
<i>Pentacosane</i>		24,483	2,14	-	-	Antioksidan dan antimikroba (Mohamed <i>et al.</i> , 2015)
<i>Thymol, TMS derivative</i>		28,952	1,77	-	-	Antioksidan, antimalaria, antimikroba, antivirus, <i>antifungal</i> , anti-karsinogenik, anti-Alzheimer, anti-mutagenik (Martinez-Correa, 2017)
<i>(3α)-12-Oleanen-3-yl acetate</i>	-	-	-	26,845	1,76	Antitumor (Wen <i>et al.</i> , 2018), Anti-inflamasi (Okoye <i>et al.</i> , 2014)
<i>Heneicosane, 3-methyl-</i>		28,223	1,73	-	-	-
<i>Nerolidol</i>		20,385	1,70	-	-	Antioksidan, anti-inflamasi, antimikroba, antiparasit, anti-malaria (Chan <i>et al.</i> , 2016), aroma pada produk wewangian, kosmetik, sabun, deterjen (Padalia <i>et al.</i> , 2015)
<i>Cyclooctacosane</i>	-	-	-	28,208	1,70	-
<i>Cetene</i>	-	-	-	15,768	1,66	-
<i>Phthalic acid, di(2-propylpentyl)ester</i>	-	-	-	24,762	1,55	Anti-inflamasi, antimikroba (Osuntokun dan Ogunleye, 2017)
<i>Hexadecanoic acid, phenylmethyl ester</i>	-	-	-	25,170	1,48	-
<i>Octasiloxane, 1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-hexadecamethyl-</i>		30,232	1,48	-	-	Antimikroba (Falowo <i>et al.</i> , 2017)
<i>2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-</i> (Farnesol)		17,319	1,29	-	-	Anti-inflamasi, antioksidan, antikanker, meningkatkan aroma produk parfum dan kosmetik (Ku & Lin, 2015), antivirus dan antibakteri (Ivanova <i>et al.</i> , 2022)
<i>Pentacosane-6,8-dione</i>		26,679	1,26	-	-	-
<i>4H-1,2,4-triazole-3,5-diamine, N3-(4-fluorophenyl)-N5-methyl-</i>		26,506	1,25	-	-	-
<i>Octacosane</i>		22,841	1,22	26,005	1,36	Antioksidan, anti-inflamasi, antimikroba (Kaplan dan Çelikoglu, 2020)
<i>Heneicosane</i>		21,061	1,16	-	-	Antimikroba (Otieno, 2016)
<i>Hexahydropyridine, 1-methyl-4-[4,5-dihydroxyphenyl]-</i>		28,332	1,16	-	-	-
<i>Benzo[h]quinoline, 2,4-dimethyl</i>		27,991	1,15	-	-	-
<i>Hexadecanoic acid, methyl ester</i>		-	-	19,405	1,14	Antioksidan, anti-inflamasi, menghambat produksi aktivitas asam urat, untuk memproduksi sabun dan kosmetik, nematisida (pestisida terhadap cacing parasit), anti-depresan (Rahman <i>et al.</i> , 2014)
<i>Eicosane</i>		26,725	1,13	20,109	1,10	Antimikroba, anti-inflamasi (Chuah <i>et al.</i> , 2018)

Beberapa senyawa yang teridentifikasi pada minyak esensial ekstraksi CO₂ superkritik memiliki manfaat sebagai antioksidan dan anti-inflamasi seperti octadecane, tetracosane, squalene, octacosane; anti-bakteri, antifungal, dan antimikroba (*tetracosane, thymol, heneicosane, nerolidol, octacosane, eicosane*); anticancer (*benzo[h]quinoline, 2,4-dimethyl*); adapun yang memiliki manfaat pada bidang aroma dan wewangian untuk parfum dan berbagai produk perawatan, seperti asam benzoat, nerolidol, farnesol; dan sebagai bahan untuk kebutuhan produksi pestisida seperti 9-*Tricosene, (Z)*-.

Senyawa – senyawa lainnya yang teridentifikasi pada ekstraksi *soxhlet* memiliki manfaat yang sama seperti pada minyak esensial ekstraksi CO₂ superkritik, di antaranya yaitu sebagai antioksidan (*α-Amyrin acetate, 2,4-Di-tert-butylphenol, E-15-Heptadecenal, β-Amyrin, Hexadecane, Hexadecanoic acid methyl ester*); antibakteri dan antifungal (*2,4-Di-tert-butylphenol, 5-Eicosene, 9-Nonadecene, Cyclootetracosane, E-15-Heptadecenal, 1-Docosene, Hexadecane, Cyclooctacosane, Phthalic acid, di(2-propylpentyl)ester, Hexadecanoic acid methyl ester*); anti-inflamasi (*E-15-Heptadecenal, β-Amyrin, Hexadecane*); aroma pada parfum dan produk-produk kosmetik kecantikan dan kebersihan (*Hexadecanoic acid methyl ester dan Benzoic acid, 2-hydroxy-, phenylmethyl ester*); melembabkan kulit pada produk kecantikan (*1-Docosene dan Hexadecanoic acid methyl ester*); produk kebersihan khususnya pada produk sabun-sabunan (*Cetene*), bahan untuk membuat pestisida (*Hexadecane, Hexadecanoic acid methyl ester*, dan juga sebagai antikanker (*E-15-Heptadecenal*)).

Dibandingkan dengan hasil penelitian lain, minyak esensial *P. obtusa* hasil ekstraksi *soxhlet* dari penelitian ini menunjukkan senyawa teridentifikasi lebih banyak yaitu sebanyak 76 senyawa dengan *yield* yang lebih besar yaitu 4,23%-wb. Penelitian yang dilakukan oleh Pitpiangchan *et al.* (2009) dengan ekstraksi *Soxhlet* menggunakan *n*-heksana pada kamboja jenis *P. obtusa* teridentifikasi hanya sebanyak 17 senyawa pada minyak esensial yang dihasilkan dengan *yield* sebesar 0,54%. Beberapa senyawa yang teridentifikasi pada penelitian tersebut dapat ditemukan pula pada penelitian ini, seperti *2,4-Di-tert-butylphenol, farnesol, dan eicosane*. Sedangkan pada penelitian Zhang *et al.* (2016), minyak esensial bunga *P. rubra* dengan ekstraksi CO₂ superkritik menghasilkan sekitar 31 senyawa teridentifikasi dengan komponen terbesar (\pm)-trans-nerolidol, asam heksadekanoat, asam tetradekanoat, β -linalool, asam oktadekanoat, dan cis-asam linoleat. Beberapa senyawa yang teridentifikasi dapat ditemukan juga pada minyak esensial *P. obtusa* dari penelitian ini, di antaranya nerolidol, farnesol, *squalene, heneicosane, nonadecane, dan hexadecenoic acid*. Sebagai catatan, ekstraksi bunga

kamboja genus *P. obtusa* dengan fluida superkritik belum pernah dilakukan sebelumnya.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Ekstraksi senyawa volatil dan minyak esensial bunga kamboja putih (*P. obtusa*) dengan kadar air yang tinggi (89,02%) menghasilkan perolehan ekstrak yang lebih tinggi (4,23%-wb) dengan metode ekstraksi *soxhlet* menggunakan pelarut *n*-heksana. Hal ini karena ekstraksi CO₂ superkritik dapat mengekstrak senyawa target spesifik dengan mengatur kondisi tekanan (300 bar) dan temperaturnya (40 °C). Metode ekstraksi superkritik dengan CO₂ memberikan keuntungan metode yang lebih bersih dan ramah lingkungan, dan juga aroma ekstrak minyak esensial yang lebih alami dan mendekati bahan baku bunga kamboja awal tanpa penggunaan pelarut *n*-heksana yang lebih berbahaya. Dengan variabel waktu ekstraksi dan jumlah bahan baku yang sama, ekstraksi CO₂ superkritik menghasilkan senyawa volatil yang juga ditemukan dalam ekstrak minyak esensial dengan ekstraksi *soxhlet*, yaitu *eicosane, methyl stearate, dan farnesol*. Beberapa senyawa lainnya hanya ditemukan pada ekstrak CO₂ superkritik, seperti *squalene, benzyl benzoate, hexatriacontane, nerolidol, dan geranyl benzoate*.

Saran

Penelitian lebih lanjut ekstraksi CO₂ superkritik terhadap bunga *P. obtusa* perlu dilakukan untuk membandingkan pengaruh variasi kondisi operasi seperti temperatur, tekanan, dan waktu ekstraksi, dan juga pengaruh penggunaan *modifier* dalam proses ekstraksi terhadap perolehan minyak esensial dan target senyawa volatil spesifik yang dapat terekstrak.

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.
- Aliyu M, Atiku MK, Abdullahi N, Imam AA, Kankara IA. 2018. Evaluation of *in vitro* antioxidant potentials of *Nymphaea lotus* and *Nymphaea pubescens* seed oils. *International Journal of Biochemistry Research & Review*. 24(1): 1-8.
- Arora S dan Meena S. 2017. GC-MS profiling of *Ceropegia bulbosa* Roxb. var. *bulbosa*, an endangered plant from Thar Desert, Rajasthan. *Pharma Innovation Journal*. 6(11): 568-573.
- Asl PJ, Niazmand R, dan Yahyavi F. 2020. Extraction of phytosterols and tocopherols from rapeseed oil waste by supercritical CO₂ 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.
- Bhargavi G, Rao PN, dan Renganathan S. 2018. Review on the extraction methods of crude oil from all generation biofuels in last few decades. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. 330(1): 012024.
- Bihani T. 2021. *Plumeria rubra* L.: A review on its ethnopharmacological, morphological, phytochemical, pharmacological, and toxicological studies. *Journal of Ethnopharmacology*. 264: 1-23.
- Bihani T, Tandell P, dan Wadekar J. 2021. *Plumeria obtusa* L.: A systematic review of its traditional uses, morphology, phytochemistry, and pharmacology. *Phytomedicine Plus*. 1: 1-14.
- Capuzzo A, Maffei ME, dan Occhipinti A. 2013. Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. *Molecules*. 18(6): 7194-7238.
- Carpita A, Canale A, Raffaelli A, Saba A, Benelli G, Raspi A. 2012. (Z)-9-tricosene identified in rectal gland extracts of *Bactocera oleae* males: First evidence of a male-produced female attractant in olive fruit fly. *Naturwissenschaften*. 99(1): 77-81.
- Chan WK, Tan LTH, Chan KG, Lee LH, Goh BH. 2016. Nerolidol: A sesquiterpene alcohol with multi-faceted pharmacological and biological activities. *Molecules*. 21(5): 529.
- Chuah XQ, Okechukwu PN, Amini F, Teo SS. 2018. Eicosane, pentadecane, and palmitic acid: the effects in *In Vitro* Wound Healing Studies. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8(10): 490-499.
- 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.
- Falowo AB, Muchenje V, Hugo A, Aiyegoro OA, Fayemi PO. 2017. Antioxidant activities of *Moringa oleifera* L. and *Bidens Pilosa* L. leaf extracts and their effects on oxidative stability of ground raw beef during refrigeration storage. *CyTA – Journal of Food*. 15(2): 249-256.
- Goswami P, Chauhan A, Verma RS, Padalia RC. 2016. Chemical constituents of floral volatiles of *Plumeria rubra* L. from India. *Medicinal and Aromatic Plants*. S3: 1-5.
- Goyal MR, Suleria HA, dan Harikrishnan R. 2020. *The Role of Phytoconstituents in Health Care: Biocompounds in Medicinal Plants*. Burlington: Apple Academic Press Inc.
- Herrero M, Mendiola JA, Cifuentes A, Ibáñez E. 2010. Supercritical fluid extraction: recent advances and applications. *Journal of Chromatography A*. 1217(16): 2495-2511.
- Hossain MA, Al-Mijizy ZH, Al-Rashadi KK, Weli AM, Al-Riyami Q. 2013. Effect of temperature and extraction process on antioxidant activity of various leaves crude extracts of *Thymus vulgaris*. *Journal of Coastal Life Medicine*. 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.
- Ivanova A, Ivanova K, Fiandra L, Mantecca P, Catelani T, Natan M, Banin E, Jacobi G, Tzanov T. 2022. Antibacterial, antibiofilm, and antiviral farnesol-containing nanoparticles prevent *Staphylococcus aureus* from drug resistance development. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(14): 7527.
- Ivanovic J, Ristic M, dan Skala D. 2011. Supercritical CO₂ extraction of *Helichrysum italicum*: Influence of CO₂ density and moisture content of plant material. *Journal of Supercritical Fluids*. 57: 129-136.
- Kaplan A dan Çelikoglu U. 2020. Evaluation of phytochemical constituents in the whole plant parts of hexane extract of some traditional medicinal plants by GC-MS analysis. *Middle East Journal of Science*. 6(2): 57-67.
- 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.
- Khawli FA, Ferrer E, Berrada H, Barba FJ, Pateiro M, Domínguez R, Lorenzo JM, Gullón P, Kousoulaki K. 2019. Innovative green technologies of intensification for valorization of seafood and their by-products. *Marine Drugs*. 17(12): 689-710.
- Klesper E. 1980. Chromatography with Supercritical Fluids. Di dalam Schneider GM (ed.), *Extraction with Supercritical Gases*. Weinheim: Verlag Chemie.
- Ku CM dan Lin JY. 2015. Farnesol, a sesquiterpene alcohol in herbal plants, exerts anti-inflammatory and antiallergic effects on ovalbumin-sensitized and -challenged asthmatic mice. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 1: 1-12.

- Kusmana C dan Hikmat A. 2015. Keanekaragaman hayati flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*. 5(2): 187-198.
- Mammen D, Daniel M, dan Sane RT. 2010. Seasonal and geographical variations in chemical constituents of *Leptadenia reticulata*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 4(2): 111-116.
- 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 CO₂, ethanol and water as solvents. *Journal of Supercritical Fluids*. 119: 122-129.
- Megawati dan Saputra SWD. 2012. Minyak atsiri dari bunga kamboja kuning, putih, dan merah dari ekstraksi dengan n-heksana. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. 1(1): 25-31.
- Mohamad OAA, Liu YH, Huang Y, Li L, Ma JB, Egamberdieva D, Gao L, Fang BZ, Hatab S, Jiang HC, Li WJ. 2022. The metabolic potential of endophytic *Actinobacteria* associated with medicinal plant *Thymus roseus* as a plant-growth stimulator. *Microorganisms*. 10, 1802: 1-18.
- Mohamed AA, Ali SI, Darwesh OM, El-Hallouty SM, Sameeh MY. 2015. Chemical compositions, potential cytotoxic and antimicrobial activities of *Nitraria retusa* methanolic extract sub-fractions. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*. 7(4): 204-212.
- 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.
- Okoye NN, Ajaghaku DL, Okeke HN, Ilodigwe EE, Nworu CS, Okoye FB. 2014. Beta-Amyrin and alpha-Amyrin acetate isolated from the stem bark of *Alstonia boonei* display profound anti-inflammatory activity. *Pharmaceutical biology*, 52(11): 1-9.
- Osuntokun OT dan Ogunleye AJ. 2017. Prospects of essential oils in drug discovery. *Advances in Cytology & Pathology*. 2(1): 17-19.
- Otieno, A. J. 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.
- Padalia RC, Verma RS, Chauhan A, Chanotiya CS. 2015. The essential oil composition of *Melaleuca leucadendra* L. grown in India: A novel source of (*E*)-nerolidol. *Industrial Crops and Products*. 69: 224-227.
- 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(4): 386-393.
- Pérez EE, Baülmer ER, Crapiste GH, Carelli AA. 2018. Effect of sunflower collets moisture on extraction yield and oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 121(2): 1-12.
- Perrier A, Delsart C, Boussetta N, Grimi N, Citeau M, Vorobiev E. 2017. Effect of ultrasound and green solvents addition on the oil extraction efficiency from rapeseed flakes. *Ultrasonics Sonochemistry*. 39: 58-65.
- Petrović L, Lepojević Z, Sovilj V, Adamović D, Tešvić V. 2007. An investigation of CO₂ extraction of marigold (*Calendula officinalis* L.). *Journal of the Serbian Chemical Society*. 72(4): 407-413.
- Pieczykolan A, Pietrzak W, Rój E, Nowak R. 2019. Effects of supercritical carbon dioxide extraction (SC-CO₂) on the content of tiliroside in the extracts from *Tilia* L. flowers. *Open Chemistry*. 17(1): 302-312.
- Pitpiangchan P, Dilokkunanant U, Sukkatta U, Vajrodaya S, Haruethaitanasan V, Punjee P, Rukthaworn P. 2009. Comparative study of scented compound extraction from *Plumeria obtusa* L. *Kasetsart Journal (Natural Science)*. 43: 189-196.
- Rahman MM, Ahmad SH, Mohamed MTM, Ab Rahman MZ. 2014. Antimicrobial compounds from leaf extracts of *Jatropha curcas*, *Psidium guajava*, and *Andrographis paniculata*. *Scientific World Journal* 635240.
- Rahmawati A, Pang D, Ju YH, Soetaredjo FE, Ki OL & Ismadji S. 2015. Supercritical CO₂ extraction of phytochemical compounds from *Mimosa pudica* Linn. *Chemical Engineering Communications*. 202(8): 1011-1017.
- Sahar WMH dan Aida HS. 2018. GC/MS identification and applications of bioactive seaweed extracts from Mediterranean coast of Egypt. *The Egypt Journal of Aquatic Research*. 22(5): 1-21.
- Saxena S dan Rao PB. 2021. Pharmacological and phytochemical assessment of *Anagallis arvensis* L. leaf extracts. *Asian Journal of Chemistry*. 33(8): 1831-1841.

- Span R dan Wagner W. 1996. A new equation of state for carbon dioxide covering the fluid region from the triple-point temperature to 1100 K at pressures up to 800 MPa. *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. 25(6):1509–1596.
- Suetsugu T, Tanaka M, Iwai H, Matsubara T, Kawamoto Y, Saito C, Sasaki Y, Hoshino M, Quitain AT, Sasaki M, Sakamoto J, Goto M. 2013. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from Kabosu (*Citrus sphaerocarpa* Tanaka) peel. *Flavour*. 2(18): 1-8.
- Sundari E, Brata NT, Alimi MY. 2016. Pola perilaku nitor bunga kamboja di area pemukiman sebagai upaya meningkatkan kondisi sosial ekonomi (studi kasus di Kabupaten Cilacap). *Solidarity*. 5(2): 134-142.
- Uwineza PA dan Waśkiewicz A. 2020. Recent advances in supercritical fluid extraction of natural bioactive compounds from natural plant materials. *Molecules*. 25(17): 3847.
- Varsha KK, Devendra L, Shilpa G, Priya S, Pandey A, Nampoothiri KM. 2015. 2,4-Di-tert-butyl phenol as the antifungal, antioxidant bioactive purified from a newly isolated *Lactococcus* sp. *International Journal of Food Microbiology*. 211: 44-50.
- Viet TD, Xuan TD, Anh LH. 2021. α -Amyrin and β -Amyrin isolated from *Celastrus hindsii* leaves and their antioxidant, anti-xanthine oxidase, and anti-tyrosinase potentials. *Molecules*. 26(23): 7248.
- Wartini NM, Putra GPG, Ina PT. 2014. Chemical composition of essential oil of cendana frangipani flower (*Plumeria alba*) with re-extraction using ethanol solvents. *Agroindustrial Journal*. 3(2): 158-162.
- Wen S, Gu D, Zeng H. 2018. Antitumor effects of beta-amyrin in Hep-G2 liver carcinoma cells are mediated via apoptosis induction, cell cycle disruption and activation of JNK and P38 signalling pathways. *Journal of the Balkan Union of Oncology*. 23(4): 965-970.
- 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, Cheng H. 2016. Essential oil composition of the flowers of *Plumeria rubra* cv. *acutifolia* from China. *Chemistry of Natural Compounds*. 52 (1): 154.