

**STUDI KAPASITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides*) DENGAN
EKSTRAKSI BERTEKANAN TINGGI**

SKRIPSI

**DWI AGUSTINO MARDIKA
0606076293**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
DEPOK
JULI 2010**

**STUDI KAPASITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL
DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides*) DENGAN
EKSTRAKSI BERTEKANAN TINGGI**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana

**DWI AGUSTINO MARDIKA
0606076293**



**UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
DEPOK
JULI 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

**Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk
telah saya nyatakan dengan benar.**

Nama : Dwi Agustino Mardika
NPM : 0606076293
Tanda Tangan : 
Tanggal : 05 Juli 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Dwi Agustino Mardika
NPM : 0606076293
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi : Studi Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides*) Dengan Ekstraksi Bertekanan Tinggi

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik Kimia pada Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Ir. Rita Arbianti, M.Si
Pembimbing II : Tania Surya Utami, S.T, M.T
Penguji : Prof. Dr. Ir. Anondho, M.Eng
Penguji : Dr. Heri Hermansyah, S.T, M.Eng



Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 05 Juli 2010

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi ini ditulis untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik Program Studi Teknik Kimia pada Fakultas Teknik Universitas Indonesia. Saya ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ir. Rita Arbianti, M.Si dan Tania Surya Utami S.T., M.T., selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu dan tenaganya untuk membimbing saya dalam penyusunan skripsi ini;
2. Ibu saya yang senantiasa mendoakan dan mendukung saya baik secara moril maupun materil; Terima kasih atas segala kesabaran dan kasih sayang.
3. Trio Hadiwibowo selaku teman seperjuangan topik ekstraksi bahan alam atas segala kerjasama, berbagi informasi dan kebersamaannya
4. Teman-teman seperjuangan di Lab Bioproses atas kebersamaan dan dukungan selama di laboratorium;
5. Teman-teman saya sesama mahasiswa Departemen Teknik Kimia FTUI khususnya angkatan 2006 atas kebersamaan dan persahabatannya selama ini.
6. Pihak-pihak lain yang telah membantu saya dalam menyelesaikan skripsi ini.

Saya menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan dikarenakan masih terbatasnya ilmu yang saya miliki. Oleh karena itu, saya mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan makalah ini maupun diri saya sendiri di waktu yang akan datang. Akhir kata, saya berharap skripsi ini mampu memberikan peranan dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan bermanfaat bagi siapapun yang membacanya.

Depok, 05 Juli 2010

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dwi Agustino Mardika
NPM : 0606076293
Program Studi : Teknik Kimia
Departemen : Teknik Kimia
Fakultas : Teknik
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneklusif (Non-exclusive Royalty-Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Studi Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides*) Dengan Ekstraksi Bertekanan Tinggi

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 05 Juli 2010

Yang menyatakan



(Dwi Agustino Mardika)

ABSTRAK

Nama : Dwi Agustino Mardika

Program Studi : Teknik Kimia

Judul : Studi Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun *Ageratum conyzoides* dengan Menggunakan Ekstraksi Bertekanan Tinggi

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol daun *Ageratum conyzoides* dengan menggunakan metode ekstraksi bertekanan tinggi dengan sirkulasi pelarut. Penelitian ini akan mengkaji pengaruh variasi tekanan ekstraksi dan waktu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak yang dihasilkan. Waktu ekstraksi antara 5-75 menit dan tekanan ekstraksi antara 2-12 bar. Pada ekstrak dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV dengan metode *carotene bleaching*. Semakin lama waktu ekstraksi, maka semakin besar aktivitas kemudian turun pada waktu ekstraksi di atas 30 menit. Sedangkan semakin besar tekanan ekstraksi akan membuat nilai aktivitas antioksidan semakin besar. Nilai aktivitas antioksidan yang dihasilkan pada tekanan dan waktu ekstraksi optimum sebesar 75,89%.

Kata Kunci : Etanol, Metode Ekstraksi Bertekanan Tinggi, *Carotene Bleaching*, Antioksidan, *Ageratum conyzoides*.

ABSTRACT

Name : Dwi Agustino Mardika

Study Program : Teknik Kimia

Title : Study of Antioxidant Capacity of Extract Ethanol of *Ageratum conyzoides*'s Leaves by Using High Pressure Extraction.

The objective of this study is to measure the antioxidant capacity of the ethanol extract of leaves of *Ageratum conyzoides* by using high-pressure extraction with solvent circulation. This study will examine the influence of pressure variations of extraction and extraction time on antioxidant activity of compounds produced. Extraction time between 5-75 minutes and the extraction pressure between 2-12 bar. On the antioxidant activity of extracts was tested using UV spectrophotometer by carotene bleaching method. The longer time of extraction, the greater the activity then decreased at the time of extraction after 30 minute. Meanwhile, the greater the pressure will make the value of antioxidant activity greater.

Keywords : Ethanol, High Pressure Extraction, *Carotene Bleaching*, Antioxidant, *Ageratum conyzoides*.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
NOMENKLATUR.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Batasan Masalah.....	5
1.5. Sistematika Penulisan	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Antioksidan	7
2.1.1. Klasifikasi Antioksidan	7
2.1.2. Mekanisme Kerja Antioksidan.....	8
2.2. Tanaman Bandotan (<i>Ageratum conyzoides</i>)	10
2.2.1. Penyebaran dan Ekologi Tumbuhan.....	10
2.2.2. Morfologi Tumbuhan	10
2.2.3. Kegunaan Tumbuhan.....	11
2.3. Metode Ekstraksi Tekanan Tinggi.....	12
2.3.1. Proses yang Berlangsung dalam Ekstraksi	12
2.3.2. Pelarut yang Digunakan.....	13
2.4. Faktor-faktor yang Berpengaruh dalam Ekstraksi Bertekanan Tinggi.....	14
2.4.1. Faktor Preparasi Sampel.....	14
2.4.2. Faktor Parameter Ekstraksi.....	15

2.5. Uji Aktivitas Antioksidan metode <i>Carotene Bleaching</i>	16
2.5.1. Karotenoid	17
2.6. Ekstraksi Padat-cair	18
2.6.1. Faktor yang Mempengaruhi Laju Ekstraksi dalam Ekstraksi Padat Cair	18
2.7. <i>State of The Art</i>	19
2.7.1. Penelitian Ekstraksi Bertekanan Tinggi	19
2.7.2. Penelitian Tanaman <i>Ageratum conyzoides</i>	22
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	25
3.1. Rancangan Penelitian	25
3.2. Alat dan Bahan	26
3.3. Prosedur Penghilangan Klorofil	27
3.4. Prosedur Ekstraksi Tekanan Tinggi	28
3.5. Prosedur Ekstraksi Maserasi	28
3.6. Prosedur Isolasi Karotenoid dari Wortel	29
3.7. Metode <i>Carotene Bleaching</i>	29
3.8. Metode Spektrofotometer	30
BAB 4. HASIL DAN ANALISIS	31
4.1. Sistem Peralatan Ekstraksi Bertekanan Tinggi	31
4.1.1. Pompa Bertekanan Tinggi	31
4.1.2. Sistem Perpipaan	32
4.1.3. Pressure Gauge	32
4.1.4. Sistem Katup	33
4.1.5. Kolom Ekstraktor	34
4.1.6. Bejana Pelarut	34
4.1.7. Bejana Ekstrak	35
4.2. Analisis Percobaan	35
4.2.1. Tahap Ekstraksi Perendaman (Maserasi)	36
4.2.2. Tahap Ekstraksi Bertekanan Tinggi	37
4.2.3. Tahap <i>Carotene Bleaching</i>	39
4.3. Analisis Pengaruh Tekanan terhadap <i>Yield</i> Ekstraksi	40

4.4. Analisis Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap <i>Yield</i> Ekstraksi.....	41
4.5. Penentuan Laju Degradasi Beta Karoten.....	42
4.6. Analisis Pengaruh Tekanan terhadap Aktivitas Antioksidan.....	43
4.7. Analisis Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan	45
4.8. Analisis Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Solubilitas Ekstrak Kasar Dalam Etanol 70%.	47
4.9. Kondisi Operasi Optimal	48
4.10. Perbandingan Hasil Ekstraksi dengan Menggunakan Pelarut Etanol dan Pelarut Air Demin.....	49
4.11. Perbandingan Hasil Ekstraksi dengan Metode Bertekanan Tinggi dan Berbantu Gelombang Mikro.....	51
4.12. Metode Perhitungan Kinetika Ekstraksi Bertekanan Tinggi.....	54
4.12.1. <i>Simple Single Plate Model</i> (SSP Model).....	55
4.12.2. <i>Single Plate Model</i> (SP Model).....	55
BAB 5. KESIMPULAN	56
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Properti Fisik Etanol	13
Tabel 2.2. Volume dan <i>Yield</i> Ekstrak Gandum melalui Beberapa Metode.....	20
Tabel 2.3. <i>State of The Art</i> dan Letak Penelitian yang Dilakukan	24
Tabel 3.1. Peralatan dan Kegunaannya	26
Tabel 3.2. Bahan-Bahan dan Kegunaannya.....	27



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Mekanisme Kerja Antioksidan sebagai Pemberi Atom Hidrogen	8
Gambar 2.2. Mekanisme Kerja Autooksidasi pada Asam Lemak Tak Jenuh	9
Gambar 2.3. Mekanisme Reaksi Antioksidasi dari BHT	9
Gambar 2.4. Bunga <i>Ageratum conyzoides</i>	11
Gambar 2.5. Batang, Daun dan Bunga <i>Ageratum conyzoides</i>	11
Gambar 2.6. Skema Alat Metode Ekstraksi Tekanan Tinggi	12
Gambar 2.7. Struktur Molekul Senyawa β -carotene	17
Gambar 2.8. Nilai Aktivitas Antioksidan Maksimum untuk Metode MAE, SFE dan TSE	20
Gambar 2.9. Nilai Aktivitas Antioksidan dari Raspberry yang Diekstrak dengan Metode Ekstraksi CO ₂ Superkritis	21
Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian	25
Gambar 4.1. Pompa Diafragma Bertekanan Tinggi	31
Gambar 4.2. Sistem Panel Kontrol Pompa Bertekanan Tinggi	32
Gambar 4.3. Sistem Perpipaan	32
Gambar 4.4. Pressure Gauge	33
Gambar 4.5. <i>Check Valve</i>	33
Gambar 4.6. <i>Needle Valve</i>	33
Gambar 4.7. Kolom Ekstraktor	34
Gambar 4.8. Bejana Pelarut	34
Gambar 4.9. (a) sampel sebelum <i>pretreatment</i> , (b) Sampel setelah <i>pretreatment</i>	36
Gambar 4.10. Hasil Ekstrak <i>Ageratum conyzoides</i> dari proses Perendaman	37
Gambar 4.11. Hasil Ekstrak <i>Ageratum conyzoides</i> (tanpa pelarut)	37
Gambar 4.12. Hasil Ekstrak <i>Ageratum conyzoides</i> dari Proses Ekstraksi Bertekanan Tinggi	38
Gambar 4.13. Hasil Ekstrak <i>Ageratum conyzoides</i> dari Proses Ekstraksi Bertekanan Tinggi (tanpa pelarut)	39
Gambar 4.14. Sistem Emulsi Awal pada Uji <i>Carotene Bleaching</i>	40
Gambar 4.15. Pengaruh Perubahan Tekanan terhadap <i>Yield</i> Ekstraksi	

Yang Dihasilkan.....	41
Gambar 4.16.Pengaruh Waktu ekstraksi terhadap <i>Yield</i> Ekstraksi yang Dihasilkan	42
Gambar 4.17.Pengaruh Tekanan Ekstraksi terhadap Laju Penurunan Absorbansi ($t_{eks} = 30$ menit).....	43
Gambar 4.18.Data Penurunan Konsentrasi Karoten pada Tiap Sampel	44
Gambar 4.19.Kurva Laju Degradasi Beta Karoten ($t_{eks} = 30$ menit).....	45
Gambar 4.20.Pengaruh Tekanan Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan Yang Dihasilkan ($t_{eks} = 30$ menit)	45
Gambar 4.21.Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Laju Penurunan Absorbansi ($P_{eks} = 12$ Bar)	46
Gambar 4.22.Penurunan Konsentrasi Karoten pada Tiap Sampel ($P_{eks} = 12$ Bar)....	47
Gambar 4.23.Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Laju Degradasi Karoten ($P_{eks} = 12$ Bar)	47
Gambar 4.24.Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan ($P_{eks} = 12$ Bar)	48
Gambar 4.25.Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Solubilitas Ekstrak Kasar dalam Etanol	49
Gambar 4.26.Hasil Ekstraksi dengan Pelarut Etanol (a) dan Air Demin (b)	50
Gambar 4.27.Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Demin dan Etanol	51
Gambar 4.28.Perbandingan Hasil Ekstraksi dengan Metode Bertekanan Tinggi (a) dan Berbantu Gelombang Mikro (b).....	52
Gambar 4.29.Ekstrak tanpa Pelarut dengan Metode Bertekanan Tinggi (a) dan dan Berbantu Gelombang Mikro (b)	52
Gambar 4.30.Perbandingan <i>Yield</i> Ekstraksi untuk Metode Bertekanan Tinggi Dan Berbantu Gelombang Mikro.....	53
Gambar 4.31.Perbandingan Nilai Aktivitas Antioksidan dari Metode Ekstraksi Bertekanan Tinggi dan Berbantu Gelombang Mirko	54

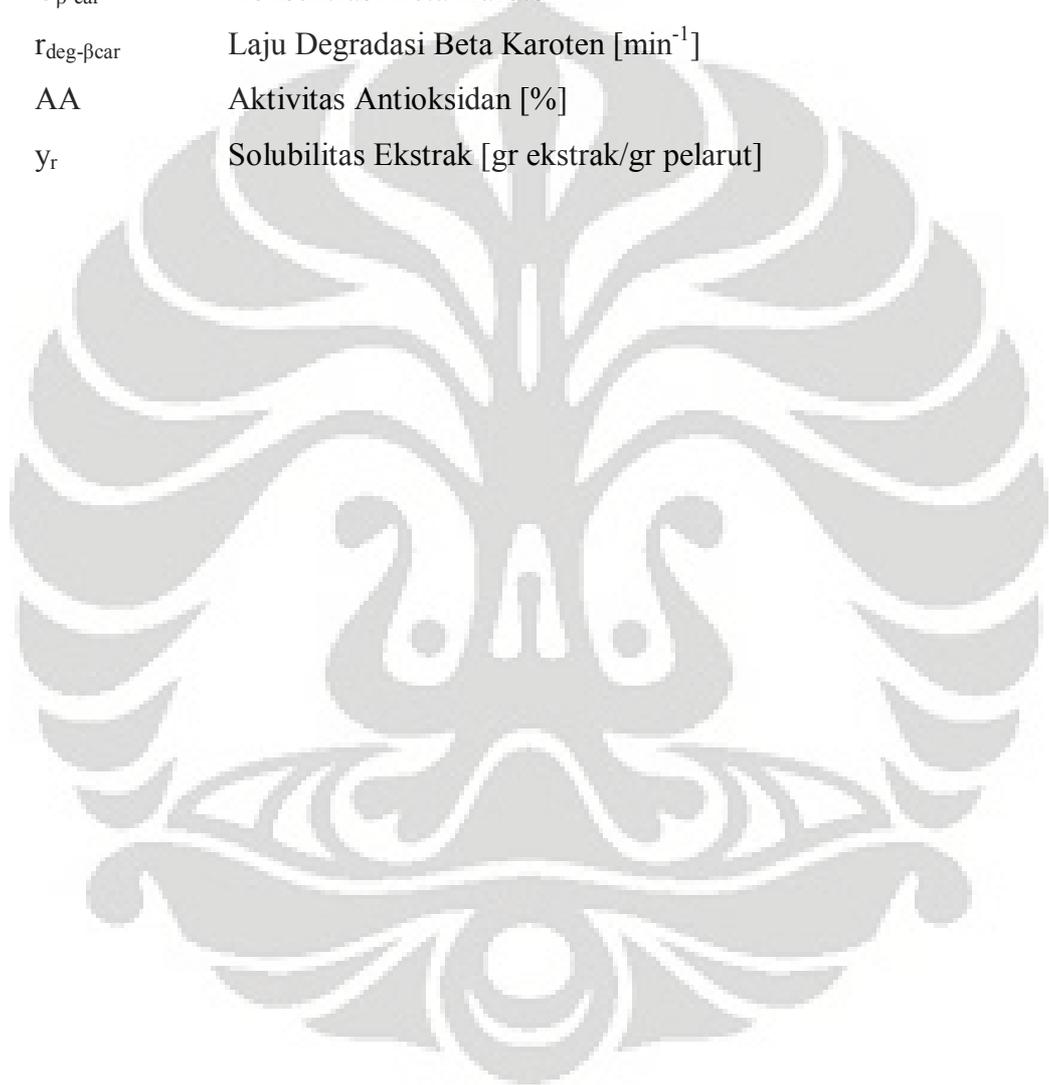
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Berat Ekstrak yang Dihasilkan dari Proses Ekstraksi	56
Lampiran 2. Data Pengukuran Absorbansi Tiap Sampel	57
Lampiran 3. Data Absorbansi Rata-Rata Tiap Sampel	58
Lampiran 4. Data Laju Degradasi	59
Lampiran 5. Nilai Aktivitas Antioksidan	60



NOMENKLATUR

P_{eks}	Tekanan Ekstraksi [Bar]
t_{eks}	Waktu Ekstraksi [min]
A	Absorbansi [-]
t_{ink}	Waktu Inkubasi [min]
$C_{\beta-car}$	Konsentrasi Beta Karoten
$r_{deg-\beta car}$	Laju Degradasi Beta Karoten [min^{-1}]
AA	Aktivitas Antioksidan [%]
y_r	Solubilitas Ekstrak [gr ekstrak/gr pelarut]



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia dikenal dunia sebagai negara yang memiliki tingkat biodiversitas yang tinggi. Indonesia merupakan negara kedua di dunia setelah Brasil yang memiliki keaneka-ragaman hayati tertinggi [1]. Salah satu pemanfaatan dari keanekaragaman hayati tersebut adalah pemanfaatan tanaman herbal sebagai tanaman obat. Sekitar 30.000 jenis tanaman obat Indonesia ternyata belum dimanfaatkan dengan maksimal. Padahal, menggunakan obat alami, selain lebih aman juga lebih murah, namun berkualitas sama seperti obat modern berupa pil, tablet atau yang lazim dikonsumsi masyarakat atau kegunaan-kegunaan lain yang dapat menggantikan peran bahan kimia yang tentunya cukup berbahaya bagi tubuh apabila salah dalam penggunaannya [2]. Tentunya hal ini perlu dilestarikan serta dikaji pemanfaatannya bagi kepentingan orang banyak.

Ageratum conyzoides (bandotan) merupakan tanaman yang tumbuh dan tersebar di Indonesia, seperti Jawa, Sumatera dan Sulawesi. Selain itu, tumbuhan ini juga tersebar di negara-negara lain, seperti di Filipina, Brazil, Malaysia, Trinidad, Venezuela, dan kawasan Afrika. Tanaman ini sudah dimanfaatkan secara tradisional sebagai obat luka (*wound healing*) dan anti pembengkakan (*anti inflammatory*) [3]. Kedua khasiat tersebut diperoleh dengan cara menumbuk daun bandotan dengan sedikit air dan kemudian membalutkannya ke daerah yang luka. Selain itu, obat ini secara tradisional juga sudah dimanfaatkan sebagai obat radang telinga, rematik, pendarahan rahim, sakit tenggorokan, dan malaria [4]. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, ditemukan pada bagian bunga dan daun tanaman ini senyawa alkaloid, flavonoida, coumarin dan tannin [5]. Alkaloid dan flavonoid merupakan senyawa antioksidan alami. Berdasarkan hasil penelitian ini ekstrak *Ageratum conyzoides* memiliki potensi sebagai antioksidan alami.

Antioksidan merupakan inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal aktif bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Dari segi medis, antioksidan didefinisikan sebagai senyawa-senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen

reaktif [6]. Antioksidan sering disebut sebagai senyawa ajaib karena dapat menangkal penuaan dini dan berbagai penyakit yang menyertainya. Terdapat dua jenis antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Salah satu jenis antioksidan sintetik adalah senyawa BHT yang sudah dilarang penggunaannya di berbagai negara. Pelarangan ini dikarenakan senyawa BHT menimbulkan kontroversi. Beberapa penelitian menyatakan bahwa senyawa ini berpotensi untuk meningkatkan resiko kanker, sedangkan penelitian lain menyatakan senyawa ini memiliki potensi untuk mengurangi resiko kanker. Oleh karena itu, beberapa perusahaan menggantikan penggunaan senyawa BHT ini dengan senyawa antioksidan lain [7]. Dengan demikian, perlu pengembangan antioksidan alami yang lebih aman bagi kesehatan, untuk menggantikan antioksidan-antioksidan sintetik. Salah satu contoh senyawa antioksidan alami adalah vitamin E. Vitamin E dipercaya dapat mencegah lipid peroksidasi dari asam lemak tak jenuh dalam membrane sel dan membantu oksidasi vitamin A serta dapat juga mempertahankan kesuburan. Vitamin E dapat diperoleh dari minyak nabati terutama minyak kecambah, gandum, kacang-kacangan, biji-bijian, dan sayuran hijau [6].

Perolehan kandungan senyawa antioksidan alami pada tanaman *Ageratum conyzoides* dapat menggunakan berbagai macam metode ekstraksi. Di Departemen Teknik Kimia sendiri telah dilakukan kajian mengenai penggunaan beberapa metode ekstraksi (Maserasi, Soxhlet, Sonikasi, dan *High Pressure Extraction*) dalam perolehan senyawa antioksidan dari tanaman *Dillenia indica*. Pada penggunaan metode Maserasi, kendala utama dalam perolehan senyawa antioksidan adalah waktu ekstraksi yang cukup lama dan penggunaan pelarut organik yang cukup banyak. Pada penggunaan metode soxhlet, sonikasi dan *high pressure extraction*, kendala utama dalam perolehan senyawa antioksidan adalah penggunaan pelarut organik yang cukup banyak [8]. Penggunaan pelarut organik yang cukup banyak, seperti etanol, tidak hanya akan meningkatkan biaya operasi tetapi juga dapat menyebabkan masalah bagi lingkungan [9]. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi konvensional, proses ekstraksi menggunakan metode ini membutuhkan waktu yang lama \pm 3 - 7 hari. Metode sonikasi merupakan metode ekstraksi yang merupakan pengembangan dari metode ekstraksi

maserasi. Metode ini memanfaatkan gelombang ultrasonic yang dapat menghancurkan sel daun sehingga dapat mempercepat proses perpindahan massa senyawa aktif dari dalam sel ke palrut. Waktu ekstraksi pada proses ekstraksi sonikasi membutuhkan waktu 3 – 15 menit. Namun, metode ini membutuhkan banyak pelarut yaitu sekitar 150 – 300 mL. Metode lainnya adalah metode ekstraksi fluida superkritis. Metode ekstraksi ini menggunakan fluida dalam kondisi superkritis dalam proses ekstraksinya. Fluida superkritis memiliki viskositas rendah dan koefisien difusi yang tinggi, sehingga dapat mempercepat laju perpindahan massa dan dapat mengurangi waktu ekstraksi. Peralatan yang digunakan dalam metode ekstraksi ini sangat mahal, dapat mencapai harga lebih dari Rp 500 juta untuk satu set alat ekstraksi fluida superkritis [10]. Metode lainnya adalah metode ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro atau biasa disebut dengan *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Metode ini memanfaatkan gelombang mikro yang merupakan bentuk radiasi non-ionisasi elektromagnetik. Waktu ekstraksi dari proses ekstraksi ini cukup singkat yaitu sekitar 10 – 15 menit dengan ekstrak yang dihasilkan cukup banyak.

Pada penelitian ini, perolehan kandungan senyawa antioksidan alami pada tanaman *Ageratum conyzoides* menggunakan metode ekstraksi bertekanan tinggi (*High Pressurized Extractions*). Metode ekstraksi bertekanan tinggi adalah proses ekstraksi yang dilakukan pada tekanan tinggi (tidak mencapai tekanan kritis fluida) dengan menggunakan pelarut dalam hal ini menggunakan etanol. Metode ekstraksi bertekanan tinggi merupakan metode penyerdehanaan dari metode ekstraksi fluida superkritis. Kelebihan dari metode ekstraksi bertekanan tinggi adalah proses ekstraksi berlangsung cepat. Kelemahan dari metode ini adalah biaya yang cukup mahal dalam pembuatan alat.

Dalam penelitian ini, akan digunakan metode ekstraksi tekanan tinggi. Penggunaan metode ekstraksi tekanan tinggi ini akan dilakukan dengan dua variasi optimasi yaitu tekanan dan waktu ekstraksi dengan sirkulasi pelarut etanol. Penggunaan pelarut etanol disebabkan karena mudah didapatkan dan murah.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan sebelumnya, maka dapat dijabarkan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah ekstrak etanol dari daun *Ageratum conyzoides* mempunyai aktivitas antioksidan?
2. Bagaimanakah pengaruh waktu dan tekanan ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol tersebut?
3. Bagaimanakah pengaruh tekanan dan waktu ekstraksi terhadap perolehan ekstrak etanol dari daun *Ageratum conyzoides* ?
4. Bagaimanakah pengaruh penambahan ekstrak pada laju degradasi karoten?
5. Bagaimanakah pengaruh waktu ekstraksi terhadap solubilitas ekstrak kasar *Ageratum conyzoides* dalam etanol 70% ?
6. Bagaimanakah pengaruh kepolaran pelarut terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak yang dihasilkan?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah :

1. Mendapatkan ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan yang berasal dari tumbuhan tropis yang banyak tumbuh di Indonesia dengan metode ekstraksi tekanan tinggi.
2. Mengkaji pengaruh parameter waktu dan tekanan ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak yang dihasilkan dengan menggunakan metode ekstraksi tekanan tinggi.
3. Mengkaji pengaruh parameter waktu dan tekanan ekstraksi terhadap perolehan ekstrak etanol dari daun *Ageratum conyzoides*.
4. Mengkaji efek penambahan ekstrak etanol dari daun *Ageratum conyzoides* terhadap laju degradasi karoten.
5. Mengkaji pengaruh parameter waktu ekstraksi terhadap solubilitas dari ekstrak etanol *Ageratum conyzoides* dalam etanol 70 %.
6. Mengkaji pengaruh kepolaran pelarut terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak yang dihasilkan.

1.4. Batasan Masalah

Adapun batasan masalah yang akan dibahas dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sampel yang akan diuji adalah daun dari tumbuhan *Ageratum conyzoides* yang dibudidayakan oleh Badan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor.
2. Sampel akan diekstraksi dengan menggunakan metode ekstraksi bertekanan tinggi
3. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%.
4. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode *carotene bleaching*.

1.5. Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan skripsi ini adalah:

BAB I : PENDAHULUAN

Terdiri dari latar belakang, rumusan masalah, tujuan penelitian, batasan masalah, dan sistematika penulisan.

BAB II : TINJAUAN PUSTAKA

Berisi tinjauan mengenai hal-hal yang terkait dalam penelitian ini. Penjelasan terdiri dari penjelasan umum mengenai tumbuhan *Ageratum conyzoides* yang meliputi: asal dan penyebarannya, morfologi tumbuhan, kegunaan umum serta penelitian yang pernah dilakukan terhadap tanaman ini. Penjelasan tentang antioksidan yang meliputi: penjelasan umum, klasifikasi, dan mekanisme kerjanya. Penjelasan tentang metode ekstraksi bertekanan tinggi yang meliputi : penjelasan umum, pelarut yang digunakan, parameter yang mempengaruhi, serta penelitian yang pernah dilakukan dalam perolehan senyawa antioksidan dengan menggunakan metode ekstraksi bertekanan tinggi. Penjelasan tentang uji aktivitas antioksidan dengan metode *carotene bleaching*.

BAB III : METODE PENELITIAN

Menjelaskan langkah kerja yang akan dilakukan guna mengaplikasikan metode ekstraksi bertekanan tinggi untuk perolehan senyawa antioksidan dari

daun *Ageratum conyzoides* dan uji aktivitas antioksidan alami yang diperoleh dengan metode *carotene bleaching*.

BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam bab ini akan dibahas tentang hasil dari penelitian yang dilakukan beserta analisis dari hasil yang diperoleh.

BAB V : KESIMPULAN

Bab ini memberi kesimpulan akhir dari hasil penelitian dan hasil analisis yang dilakukan.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya dengan kepada radikal bebas tanpa terganggu sama sekali dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Senyawa antioksidan dapat menghilangkan atau mendeaktifkan radikal-radikal bebas sehingga dapat menghentikan proses oksidasi melalui mekanisme reaksi dengan radikal bebas, mengikat ion logam, menangkap singlet oksigen atau sebagai filter radiasi ultraviolet [11]. Antioksidan berguna untuk menghambat penuaan dan mengatasi berbagai macam penyakit kronis yang diakibatkan oleh radikal bebas.

2.1.1. Klasifikasi Antioksidan

Antioksidan dapat diklasifikasikan berdasarkan sumber dan mekanisme reaksi. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan alami adalah antioksidan yang dihasilkan dari hasil ekstraksi bahan alam tumbuhan, seperti contoh adalah golongan senyawa fenolik atau polifenolik. Golongan polifenolik yang dimaksud dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam-asam organik polifungsional.

Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia seperti BHA (Butil Hidroksi Anisol) dan BHT (Butil Hidroksi Toluena) [12]. BHA banyak digunakan dalam industri makanan, terutama makanan yang mengandung minyak dan lemak. Sedangkan BHT merupakan hasil sintesis reaksi antara *p*-cresol dengan isobutilen. Penggunaan BHT dalam bahan makanan dapat menyebabkan mutasi gen dan terjadinya kanker. Beberapa kasus menunjukkan bahwa seseorang yang mengalami kesulitan dalam proses metabolisme BHT akan terkena dampak yang buruk bagi kesehatannya [7].

Selain itu, berdasarkan mekanisme reaksinya, antioksidan dibagi menjadi dua yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan primer merupakan antioksidan yang proses reaksinya terjadi dengan pemutusan radikal bebas yang reaktif dan diubah menjadi senyawa yang tidak reaktif atau stabil.

Antioksidan sekunder adalah senyawa yang dapat mengurangi laju reaksi autooksidasi lemak dengan beberapa mekanisme, yaitu mengikat oksigen singlet dan menyerap sinar ultraviolet, sebagai contoh adalah senyawa flavonoid [13].

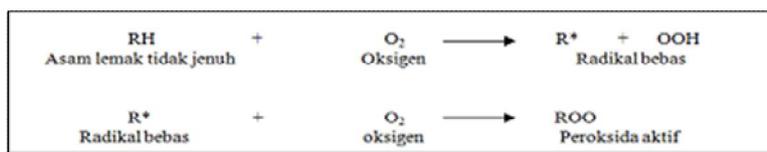
2.1.2. Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Mekanismenya dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Mekanisme Kerja Antioksidan sebagai Pemberi Atom Hidrogen

Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil [9]. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru [9]. Fungsi sekunder antioksidan ini dapat melalui berbagai mekanisme diantaranya adalah (1) pelepasan hidrogen, (2) pelepasan elektron dari antioksidan, (3) addisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan, dan (4) pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan. Prinsip kerja antioksidan dalam menghambat autooksidasi pada lemak dapat dilihat pada Gambar 2.2.

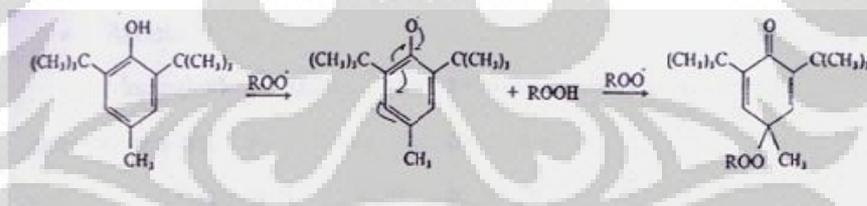


Gambar 2.2. Mekanisme Kerja Autooksidasi pada Asam Lemak Tak Jenuh

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan. Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji [14]. Berikut ini adalah penjelasan detail tentang mekanisme dari antioksidan.

Antioksidan Primer

Antioksidan primer merupakan antioksidan yang mekanisme reaksinya dengan memutus rantai radikal bebas yang sangat reaktif dan diubah dengan senyawa yang tidak reaktif lagi. Antioksidan dapat berperan sebagai donor hidrogen atau berperan sebagai akseptor elektron. Salah satu contoh antioksidan primer adalah BHT (butylated hydroxytoluene) yang mekanisme reaksinya dapat dilihat pada Gambar 2.3 berikut ini :



Gambar 2.3. Mekanisme Reaksi Antioksidasi dari BHT

Antioksidan Sekunder

Berbeda dengan antioksidan primer, antioksidan sekunder merupakan senyawa yang dapat mengurangi kecepatan reaksi autooksidasi lemak dengan beberapa mekanisme, yaitu mengikat oksigen single dan menyerap sinar ultraviolet. Salah satu contoh antioksidan sekunder adalah senyawa flavonoid. Mekanisme reaksi lainnya adalah sebagai deaktivator ion logam, yaitu melalui pembentukan senyawa kompleks.

2.2. Tanaman Bandotan (*Ageratum conyzoides*)

Tanaman bandotan yang memiliki nama ilmiah *Ageratum conyzoides* masuk ke dalam family *Asteraceae* (*compositae*) dan salah satu dari genus *Ageratum*. Tanaman ini banyak ditemukan di daerah Amerika Tengah dan daerah kepulauan Karibia. Tanaman ini juga biasa ditemukan di daerah tropis dan subtropik seperti Brazil. Keberadaan tanaman ini di Indonesia cukup tersebar khususnya di daerah Jawa dan Sumatera. Di daerah Jawa tanaman ini dikenal dengan nama babandotan (Sunda), bandotan (Jawa), dan Dus Wedusan (Madura), sedangkan di Sumatera tanaman ini disebut sebagai bandotan.

2.2.1. Penyebaran dan Ekologi Tumbuhan

Tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides*) ini memiliki persebaran yang cukup luas, dan banyak ditemukan di daerah yang beriklim tropis dan/atau subtropis. Tanaman ini merupakan golongan tanaman liar yang biasa tumbuh di daerah sawah, lading semak belukar, halaman kebun, tepi jalan, kebun, tanggul, dan tepi air. Tanaman ini juga dapat tumbuh di kisaran ketinggian yang cukup besar yaitu 1 – 2100 meter di atas permukaan laut.

Perkembangbiakan dilakukan dengan biji, biasanya penyebaran dilakukan oleh burung-burung pemakan biji atau oleh aliran air secara alami. Perkembangbiakan dengan campur tangan manusia dilakukan dengan can menanam biji *Ageratum conyzoides* di lahan yang subur, di lahan-lahan bekas tebang, ataupun di lahan kosong pada areal hutan tanaman industri. Perkembangbiakan lainnya juga dapat dilakukan dengan cara pencabutan bibit dan anakan pohon di hutan [15].

2.2.2. Morfologi Tumbuhan

Bandotan tergolong dalam tumbuhan terna semusim, tumbuh tegak atau bagian bawahnya berbaring, tingginya sekitar 30 – 90 cm dan bercabang. Batang berbentuk bulat berambut panjang, jika menyentuh tanah akan mengeluarkan akar. Daun tunggal bertangkai, letaknya saling berhadapan dan bersilang, helaian daun bulat telur dengan pangkal membulat dan ujung runcing, tepi bergerigi, panjangnya 1 – 10 cm, lebar 0,5 – 6 cm, kedua permukaan daun berambut panjang

dengan kelenjar yang terletak di permukaan bawah daun, warnanya hijau. Bunga tanaman ini majemuk berkumpul 3 atau lebih, berbentuk malai rata yang keluar dari ujung tangkai, warnanya putih atau ungu. Panjang bonggol bunga 6 – 8 mm, dengan tangkai yang berambut. Buah panjang berwarna hitam dan bentuknya kecil. [16]



Gambar 2.4. Bunga *Ageratum conyzoides* [17].



Gambar 2.5. Batang, Daun, dan Bunga *Ageratum conyzoides* [18].

2.2.3. Kegunaan Tumbuhan

Tanaman ini sebenarnya adalah tanaman liar atau pengganggu bagi tanaman lain. Akan tetapi, tanaman ini memiliki kegunaan dalam pengobatan alternatif herbal. Tanaman ini disinyalir dapat menyembuhkan berbagai penyakit diantaranya adalah radang telinga, penyakit kulit (seperti bisul dan eksim), sakit tenggorokan (termasuk difteri), malaria, influenza, dan sariawan. Bahkan dikatakan juga dapat mengobati penyakit kronis seperti tumor dan pendarahan rahim. Untuk pemanfaatan tanaman ini sebagai obat, ekstrak dari tanaman inilah yang dimanfaatkan. Selain kegunaannya sebagai tanaman obat, tanaman ini juga sering ditanam sebagai tanaman hias [16].

2.3. Metode Ekstraksi Bertekanan Tinggi

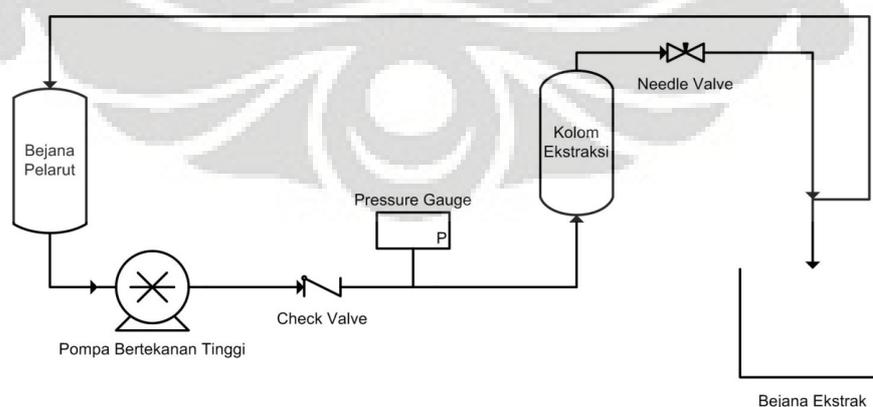
Metode ekstraksi tekanan tinggi adalah proses ekstraksi menggunakan pelarut dalam kondisi tekanan tinggi. Umumnya, pelarut yang digunakan berada dalam kondisi superkritis sehingga proses ini biasa disebut dengan proses ekstraksi fluida superkritis. Namun, dalam penelitian ini fluida yang digunakan sebagai pelarut masih berada dalam kondisi subkritis. Terdapat beberapa pelarut yang dapat digunakan diantaranya adalah etanol, propana, atau butana/isobutana [19].

Metode ekstraksi ini merupakan cara yang cukup efektif untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang terdapat dalam bahan alam. Dewasa ini, metode ekstraksi tekanan tinggi berkembang cukup pesat. Hal ini dikarenakan metode ekstraksi tekanan tinggi memiliki beberapa keuntungan jika dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional, yaitu :

Tekanan, suhu dan pelarut yang digunakan dapat disesuaikan dengan senyawa yang ingin diekstraksi.

Proses ekstraksi berlangsung lebih cepat jika dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional dengan rendaman maupun metode ekstraksi Soxhlet.

Kekurangan dari metode ekstraksi tekanan tinggi ini adalah sulitnya mencapai kondisi operasi dibutuhkan biaya yang mahal untuk mempersiapkan alat. Selain itu, proses pemisahan pelarut dengan ekstrak juga harus melalui proses terpisah sendiri. Skema alat yang akan digunakan dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6. Skema Alat Metode Ekstraksi Tekanan Tinggi.

2.3.1. Proses yang Berlangsung dalam Ekstraksi

Proses umum dari ekstraksi dapat dibagi menjadi tiga yaitu pelarutan, difusi dan matriks. Pertama, komponen yang terlarut (*solute*) harus dapat terlarut di dalam pelarut. Kedua, *solute* harus dapat berpindah secara cepat, baik melalui difusi atau mekanisme lain, dari bagian dalam matriks tempat *solute* berada. Proses difusi tersebut dapat berupa difusi normal dari *solute* seperti dalam polimer, atau melibatkan difusi dalam fluida melalui pori-pori matriks. Waktu terjadinya difusi akan bergantung kepada koefisien difusi dan bentuk serta ukuran dari matriks atau partikel matriks. Dari semua hal itu, dimensi atau ukuran memegang peranan yang paling penting. Ketiga, *solute* harus dilepaskan oleh matriks. Proses terakhir ini dapat melibatkan proses desorpsi dari pusat matriks, melewati dinding sel, atau keluar dari bentuk yang mengurungnya, seperti pada rantai polimer. Proses ini dapat berlangsung secara lambat dan pada beberapa kasus, komponen yang ingin diekstrak terkunci dalam struktur matriks. Biasanya hal ini disebabkan oleh kehadiran air yang bersifat tidak larut dan dapat menghalangi komponen yang ingin diekstrak. Oleh karena itu, terkadang diperlukan proses pengeringan sebelum dilakukan proses ekstraksi [19].

2.3.2. Pelarut yang Digunakan

Pelarut yang digunakan adalah senyawa alkohol lebih tepatnya adalah etanol. Terdapat beberapa faktor yang perlu diperhatikan dalam pemilihan pelarut diantaranya adalah kepolaran dari senyawa yang ingin diekstraksi. Senyawa etanol atau etil alkohol memiliki gugus senyawa C_2H_5OH . Senyawa ini merupakan jenis pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi karena sifatnya yang dapat melarutkan berbagai senyawa organik [20]. Pemilihan etanol sebagai pelarut didasarkan pada sifatnya yang mudah menguap, tidak menimbulkan bahaya yang signifikan dan ketersediaannya cukup banyak serta harganya terjangkau. Berikut ini adalah properti fisik dari etanol :

Tabel 2.1. Properti fisik etanol [20]

Properti	Nilai
Massa molekul Relatif, gr/mol	46,07

Properti	Nilai
Titik beku, °C	-114,1
Titik didih, °C	78,32
Temperatur kritis, °C	243,1
Tekanan kritis, kPa	6383,48
Densitas, gr/mL	0,7893
Viskositas pada 20 °C, mPa.s = cP	1,17

2.4. Faktor-Faktor yang Berpengaruh dalam Ekstraksi Bertekanan Tinggi[21]

2.4.1. Faktor Preparasi Sampel

Preparasi sampel seperti memperkecil ukuran partikel dan menghilangkan kandungan air dapat mempengaruhi jumlah *yield* yang akan diperoleh dalam proses ekstraksi bertekanan tinggi.

2.4.1.1. Ukuran Partikel

Pengurangan ukuran partikel dapat meningkatkan jumlah *yield* yang akan diperoleh. Sebagai contoh, ketika ukuran partikel biji *hiprose* pada kisaran 1,03 hingga 0,79 dan 0,42 mm *yield* yang diperoleh meningkat seiring dengan pengurangan ukuran partikel. Hal yang sama juga berlaku ketika mengekstrak biji anggur. Ukuran partikel biji anggur yang dianjurkan untuk hasil yang terbaik adalah kurang dari 0,35 mm.

2.4.1.2. Kandungan Air

Sampel yang dilakukan proses pengeringan yang lebih lama akan menghasilkan hasil ekstrak yang sedikit lebih rendah. Hal ini dimungkinkan karena adanya zat yang mudah menguap telah teruapkan pada saat proses pengeringan.

2.4.2. Faktor Parameter Ekstraksi

Faktor parameter ekstraksi seperti tekanan, suhu, laju alir dan arah aliran, waktu ekstraksi, dan penggunaan *co-solvents*, mempengaruhi secara langsung hasil ekstraksi yang didapatkan dalam proses ekstraksi bertekanan tinggi.

2.4.2.1. Faktor Tekanan dan Suhu dalam Proses Ekstraksi Bertekanan Tinggi

Kekuatan pelarutan dari HPE dengan suatu pelarut tergantung pada tekanan dan suhu. Densitas memberikan perkiraan efek gabungan dari kedua variabel tersebut pada kekuatan pelarutan. Selain kondisi operasi tersebut, kesetimbangan pelarutan senyawa murni tersebut dipengaruhi oleh berat molekul dan polaritas. Ketika ekstraksi dilakukan dari substrat padat maka kinetika dan hasil juga tergantung pada interaksi pelarut dengan matriks padat dari substrat.

a) Efek pada kelarutan senyawa antioksidan.

Kesetimbangan kelarutan merupakan informasi dasar yang dapat digunakan untuk menentukan desain dari proses ekstraksi dan separasi. Efek tekanan terhadap kelarutan sangat kecil sehingga terkadang seringkali diabaikan. Pengaruh tekanan ini tidak memiliki efek yang signifikan terhadap kelarutan. Temperatur memberikan efek yang lebih signifikan terhadap kelarutan senyawa antioksidan. Sebagai contoh umumnya, perubahan tekanan sebesar 500 atm hanya merubah kelarutan NaCl sekitar 2,3 % dan NH₄Cl sebesar 5,1 % [22].

b) Yield dan selektivitas dari ekstraksi antioksidan.

Efek dari peningkatan tekanan akan meningkatkan densitas pelarut, dan akan menghasilkan *yield* ekstraksi yang lebih besar. Peningkatan tekanan di bawah titik kritisnya mengakibatkan meningkatnya viskositas fluida dan mengurangi koefisien difusi. Beroperasi pada tekanan tinggi, akan meningkatkan suhu dan mengakibatkan menurunnya *yield* akibat dari penurunan densitas dan kekuatan pelarutan dari fluida. Beroperasi pada tekanan mendekati titik kritis, dimana densitas memiliki pengaruh yang lebih besar terhadap kekuatan pelarutan dibandingkan tekanan uap, kenaikan suhu akan menurunkan *yield* ekstraksi akibat dari penurunan densitas dan kekuatan pelarutan dari fluida. Pada tekanan yang lebih tinggi, kenaikan pengaruh dari tekanan uap secara umum akan meningkatkan solubilitas.

2.4.2.2. Faktor Laju Alir

Hasil ekstraksi dapat meningkat seiring dengan kenaikan laju alir pelarut. Hal ini dimungkinkan karena adanya proses penjenuhan pelarut. Laju alir pelarut yang lebih rendah memungkinkan proses penjenuhan pelarut berlangsung lebih cepat. Sebagai contoh hasil ekstrak dari *flax* yang didapatkan pada laju alir 1L/menit sebesar 66%. Sedangkan hasil ekstrak yang didapatkan pada laju alir 3L/menit sebesar 74 %.

2.4.2.3. Waktu Ekstraksi

Pengaruh waktu ekstraksi terhadap hasil ekstraksi bergantung pada jenis tanaman yang diekstrak. Namun, secara umum peningkatan waktu ekstraksi akan mengakibatkan hasil ekstraksi yang diperoleh lebih besar.

2.5. Uji Aktivitas Antioksidan Metode *Carotene Bleaching*.

Suatu senyawa dikatakan berfungsi sebagai antioksidan jika senyawa tersebut menunjukkan kemampuan untuk menghambat reaksi oksidasi. *Carotene bleaching* adalah salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengevaluasi kemampuan suatu senyawa sebagai antioksidan. Bahan utama dalam metode ini adalah senyawa karotenoid.

Metode *carotene bleaching* merupakan metode spektrofotometri yang didasarkan pada kemampuan antioksidan untuk mencegah peluruhan warna oranye karoten akibat oksidasi dalam sistem emulsi minyak dan karoten. Minyak yang teroksidasi selama pemanasan menghasilkan radikal bebas berupa hidroperoksida. Radikal bebas ini dapat menyerang senyawa karoten yang memiliki banyak ikatan rangkap. Senyawa karoten akan kehilangan ikatan rangkapnya serta gugus kromofornya sehingga kehilangan warna karakteristiknya. Pengukuran penurunan intensitas warna karoten dilakukan dengan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang sinar tampak. Dengan penambahan antioksidan diharapkan laju degradasi warna dari senyawa β -carotene lebih sedikit. Hal ini diindikasikan dengan intensitas warna yang cenderung tidak mengalami perubahan atau mengalami perubahan yang cukup lambat.

Laju degradasi (*degradation rate*) yang terjadi pada karotenoid akan tergantung pada aktivitas antioksidan dan senyawa antioksidan yang ditambahkan. Nilai Aktivitas Antioksidan dihitung menurut persamaan berikut ini [23]:

$$AA = \left[1 - \frac{A_0 - A_t}{A_0^p - A_t^p} \right] \times 100\% \quad (2.1)$$

Dengan :

AA = Aktivitas Antioksidan

A_0 = Absorbansi sampel pada waktu awal ($t=0$)

A_t = Absorbansi sampel pada waktu akhir

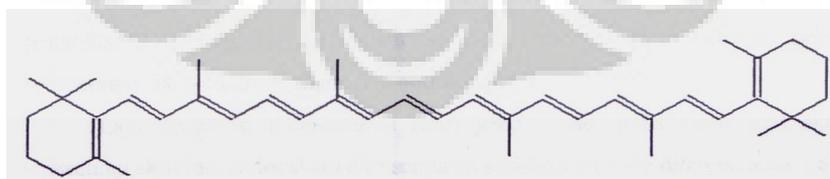
A_t^p = Absorbansi kontrol pada waktu akhir

A_0^p = Absorbansi kontrol pada waktu awal ($t=0$)

Metode *Carotene Bleaching* yang digunakan merupakan metode pendekatan dari metode *carotene bleaching* sistem model linoleat yang dikembangkan oleh Miller pada tahun 1971 [24]. Metode pendekatan ini sudah dilakukan sejak tahun 2007 oleh peneliti dari UI dan telah terbukti dapat menentukan nilai aktivitas antioksidan dari suatu senyawa ekstrak [25].

2.5.1. Karotenoid

Karotenoid adalah pigmen organik yang terjadi secara alamiah dalam tumbuhan dan organisme berfotosintesis lainnya seperti ganggang, beberapa jenis fungi dan beberapa bakteri. Senyawa ini memiliki ikatan isopropene yang membentuk suatu ikatan rantai panjang.



Gambar 2.7. Struktur molekul senyawa β -carotene.

Ikatan rantai yang terdapat dalam senyawa β -carotene dapat menyerap panjang gelombang sinar tampak sehingga senyawa ini mempunyai warna. Spektrum gelombang yang diserap oleh karotenoid paling kuat adalah antara 400-

500 nm yang merupakan spektrum hijau/biru. Oleh karena itu, karotenoid mempunyai warna oranye karena warna merah/kuning dipantulkan ke mata kita [26].

Karotenoid diperoleh dengan mengisolasi secara langsung dari tumbuhan wortel. Proses isolasi karoten dilakukan menggunakan metode yang dilakukan oleh Martina Fikselova [27].

2.6. Ekstraksi Padat-Cair [28]

Ekstraksi padat-cair atau ekstraksi pelarut terjadi dengan pelarutan selektif satu atau lebih zat terlarut dari matriks padat dengan pelarut cair. Unit operasi ini adalah juga ditunjuk pelindian, rebusan, atau elusi. Pada kenyataannya, terminologi bisa spesifik untuk jenis ekstraksi tertentu. Sebagai contoh, lixiviation digunakan ketika tujuannya adalah untuk mendapatkan senyawa alkali, rebusan digunakan ketika di-nya pelarut suhu didih, dan elusi digunakan ketika padatan terlarut berada di permukaan matriks yang solid. Terlepas dari nama yang digunakan, teknik ini adalah salah satu yang tertua unit operasi dalam industri kimia.

2.6.1. Faktor yang Mempengaruhi Laju Ekstraksi dalam Ekstraksi Padat-Cair

Persiapan bahan padat

Penggilingan sebelum ekstraksi pelarut mendorong peningkatan bidang kontak antara pelarut dan matriks padat. Selain itu, dalam banyak kasus langkah ini meningkatkan kontak antara pelarut dan zat terlarut dengan struktur sel.

Tingkat Difusi

Karena kompleksitas struktur sel dan keberadaan dari kompartemen berpori dan berbeda dalam sel, difusivitas bahan biologis memiliki denominasi: difusivitas efektif. Itu difusivitas efektif juga tergantung pada komposisi dan posisi zat terlarut dalam bahan padat.

Suhu

Biasanya, suhu tinggi merupakan faktor penting dalam hal proses ekstraksi. Tinggi suhu memungkinkan peningkatan kelarutan zat terlarut dalam pelarut, meningkatkan laju difusi zat terlarut ke sebagian besar pelarut, sehingga angka transfer massa akan lebih tinggi. Namun, dalam industri makanan, penggunaan suhu yang lebih tinggi dapat menghasilkan hal lain yang tidak diinginkan seperti reaksi degradasi senyawa termolabil. Misalnya, dalam pengolahan kopi, temperatur tinggi dapat menyebabkan hidrolisis.

Pilihan Pelarut

Pemilihan pelarut didasarkan pada beberapa faktor, seperti sifat fitokimia, biaya, dan toksisitas. Pilihan pelarut tersebut juga harus mempertimbangkan karakteristik seperti selektivitas dan kemampuan melarutkan zat yang terlarut, serta tegangan antar-muka-nya, kekentalan, stabilitas, reaktivitas, toksisitas, dan biaya. Terdapat beberapa pembatasan untuk menggunakan pelarut organik karena tingkat toksisitasnya yang tinggi bagi tubuh.

Kelembaban Bahan Padat

Air dalam bahan padat dapat bersaing dengan pelarut untuk ekstraksi zat terlarut, dan dapat mempengaruhi perpindahan massa. Di sisi lain, kelembaban ini diperlukan untuk memungkinkan transportasi dari terlarut, seperti dalam ekstraksi kopi. Namun, di sebagian besar materi kasus dikeringkan dalam kondisi yang tidak menyebabkan degradasi senyawa.

2.7. State of The Art

Subbab ini akan menjelaskan dan *me-review* jurnal-jurnal yang terkait dengan penelitian tentang penggunaan ekstraksi bertekanan tinggi dan penelitian tentang tanaman *Ageratum conyzoides*.

2.7.1. Penelitian Ekstraksi Bertekanan Tinggi

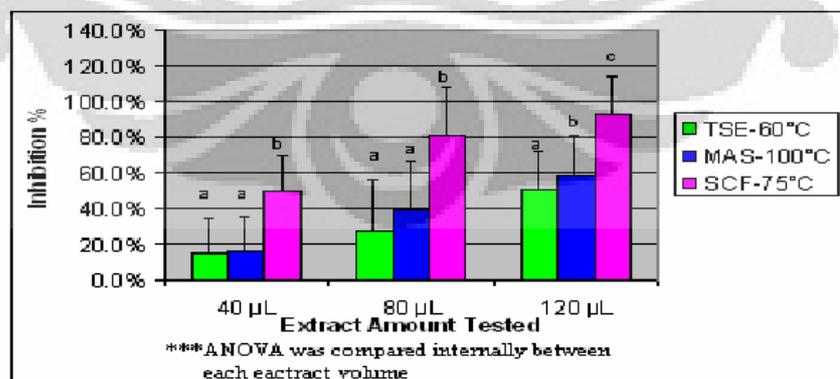
a) Kandungan senyawa fenol dan aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit gandum yang melalui berbagai metode ekstraksi [29]

Penelitian ini membandingkan beberapa metode ekstraksi dalam perolehan senyawa antioksidan (*yield*) dan aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit gandum. Metode ekstraksi yang digunakan adalah *Traditional Solvent Extraction*, *Microwave Assisted Extraction* dan *Supercritical Fluid Extraction*. Perhitungan nilai aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Pada metode MAE, ekstraksi dilakukan dengan dua kali variasi suhu yaitu 60°C dan 100°C, pada TSE ekstraksi dilakukan pada suhu kamar. Pada metode SFE, ekstraksi dilakukan pada suhu 25°C, 50°C, dan 75°C.

Tabel 2.2. Volume dan Yield dari Ekstrak Gandum melalui beberapa metode

Extractions:	TSE	MAS (60°C)	MAS (100°C)	SFT (25°C)	SFT (50°C)	SFT (75°C)	STD. DEV.
Avg. Totals:	(a) 10.4	(b) 18.0	(c) 19.7	(d) 14.9	(a) 10.7	(c) 20.3	2.1
Avg. Yield (g)	1.4	1.8	1.7	1.3	1.4	1.7	0.2
Concentration (mg/ml)	23.38	30.18	41.23	79.00	107.63	130.05	44.0

Dari Tabel 2.2 dapat dilihat bahwa nilai volume konsentrasi terbesar diperoleh pada proses ekstraksi dengan metode SFE yaitu sebesar 20.3 dan 130.05. Hal ini membuktikan bahwa metode SFE akan memberikan *yield* yang lebih besar jika dibandingkan metode lain yang diujikan pada penelitian ini.



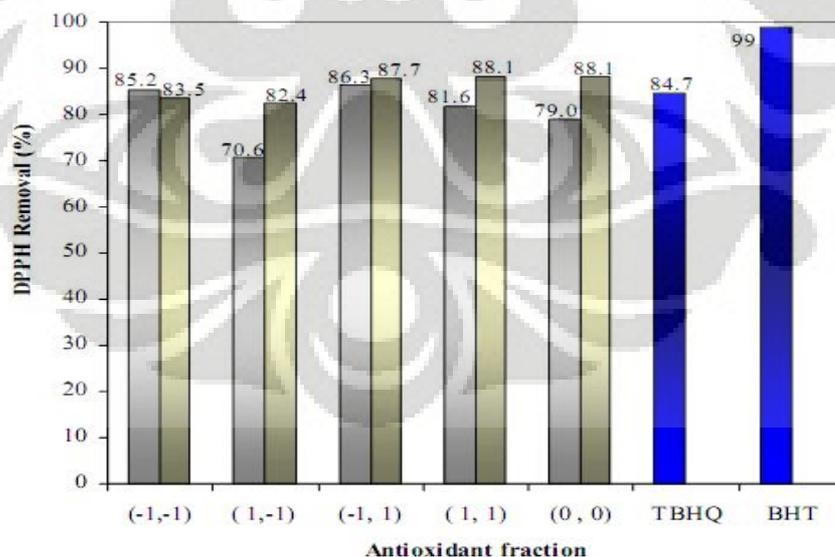
Gambar 2.8. Nilai Aktivitas Antioksidan Maksimum untuk Metode MAE, SFE dan TSE.

Selain menghasilkan *yield* yang lebih besar, metode SFE juga memperoleh ekstrak dengan nilai aktivitas antioksidan yang paling besar. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 2.8.

b). Ekstraksi Fluida Superkritis untuk Memperoleh Senyawa Antioksidan dari buah raspberry dan ampas kertas [30].

Penelitian yang berkaitan dengan penggunaan metode karbondioksida superkritis dalam perolehan senyawa antioksidan sudah banyak dilakukan, salah satunya penelitian yang dilakukan oleh Flores, Forero, dan Bolanos, Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh senyawa antioksidan dari *raspberry* dengan menggunakan metode ekstraksi CO₂ superkritis. Sampel yang akan diekstrak dalam penelitian ini berasal dari biji buah *raspberry* dan limbah kertas dari perusahaan local setempat.

Proses ekstraksi dilakukan pada laju alir CO₂ sebesar 0.16 kg/jam dengan memvariasikan suhu pada kisaran 35 – 55 °C dan densitas CO₂ pada kisaran 0.65 – 0.85 gr/mL. Pada gambar 2.6 dapat dilihat bahwa ekstrak yang dihasilkan memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dan bervariasi seiring dengan variasi suhu dan densitas CO₂ yang dilakukan.



Gambar 2.9. Nilai aktivitas antioksidan dari raspberry yang diekstrak dengan metode ekstraksi CO₂ superkritis.

2.7.2. Penelitian Tanaman *Ageratum conyzoides*

a). Review jurnal tentang penelitian awal *Ageratum conyzoides*[2].

Jurnal ini meringkas secara lengkap tentang penelitian awalan dari Tanaman *Ageratum conyzoides*. Selain menjelaskan penyebaran dari tanaman ini, jurnal ini juga beberapa penelitian yang telah dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa apa saja yang terdapat pada tanaman *Ageratum conyzoides*, serta pemanfaatan dari tanaman ini sebagai obat.

Pada jurnal ini tanaman *Ageratum conyzoides* memiliki kandungan metabolit seperti flavonoid, alkaloid, cumarins, minyak esensial, dan tannins. Kebanyakan dari senyawa tersebut merupakan senyawa aktif. Tanaman *Ageratum conyzoides* ini juga telah dimanfaatkan secara tradisional di beberapa Negara. Di Afrika Selatan tanaman ini digunakan sebagai obat untuk pneumonia, tapi pada umumnya tanaman ini digunakan untuk menyembuhkan luka. Dalam beberapa percobaan juga telah dibuktikan bahwa ekstrak tanaman ini memiliki bioaktivitas.

(b). Pengujian *Allelopathic* potensial dari *Ageratum conyzoides*[31].

Potensi *allelopathic* dari *Ageratum conyzoides* diteliti dilab. Pada penelitian ini residu ekstrak aseton dari tanaman ini memiliki efek inhibisi terhadap pertumbuhan dari *Amaranthus caudatus*, *Digitaria sanguinalis*, dan *Lactuca sativa*. Adanya efek perubahan aktivitas *allelopathic* terhadap perubahan konsentrasi ekstrak yang diberikan dapat menyimpulkan bahwa *Ageratum conyzoides* memiliki kandungan *allelochemical*.

(c). Peningkatan penyembuhan luka kulit oleh metanol ekstrak dari *conyzoides ageratum* pada tikus wistar[32].

Penelitian ini menguji efek ekstrak metanolik dari *Ageratum conyzoides* terhadap penyembuhan luka. Pengujian dilakukan kepada 20 mencit (wistar rat) yang dibagi ke dalam dua kelompok. Sepuluh tanaman merupakan control (tidak diberi ekstrak *Ageratum conyzoides* pada

lukanya) dan sepuluh ekor lainnya merupakan kelompok eksperimen (diberi ekstrak *Ageratum conyzoides* pada lukanya). Tiap binatang diberikan luka sebesar 2 cm x 2 cm pada kulitnya. Dari hasil penelitian didapatkan bahwa binatang yang diberi ekstrak bandotan pada lukanya lebih cepat sembuh lukanya dibandingkan dengan mencit control. Parameter penyembuhannya dapat dilihat dari kontraksi luka pada mencit. Kontraksi luka pada mencit control sebesar $55,0 \pm 4,2\%$, sedangkan mencit eksperimen sebesar $82,3 \pm 1,6\%$.

(d). Kajian terhadap profil fitokimia dan farmakologi dari *Ageratum conyzoides*[33].

Pada jurnal ini dijelaskan mengenai profil fitokimia dan farmakologi dari *Ageratum conyzoides*. Pada hasil penelitian ini diketahui bahwa selain memiliki khasiat tradisional seperti untuk menyembuhkan luka, dan sebagai antibakteri. Ekstrak bandotan ini ternyata memiliki banyak sekali kegunaan. Beberapa senyawa kimia telah berhasil diisolasi dari ekstrak tanaman ini. Senyawa-senyawa tersebut adalah alkaloid, cumarin, flavonoids, chromenes, benzofurans, sterols, dan terpenoid. Ekstrak tanaman ini juga dapat berfungsi sebagai insektisida, anti jamur, dan nematisida.

(e). Potensi Antioksidan dari Ekstrak Daun *Ageratum conyzoides* dalam tikus yang terkena diabetes[34].

Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun *Ageratum conyzoides* dalam serum dari tikus yang terkena diabetes dievaluasi dengan menggunakan *Ferric Reducing Antioxidant Power Assays* (FRAPA), dengan menentukan atas malonadehis, lipid hidroperoksida, dan gugus protein thiol. Pada penelitian ini didapatkan bahwa sampel yang diberi ekstrak *Ageratum conyzoides* memiliki nilai FRAP yang lebih besar jika dibandingkan sampel kontrol yang tidak diberi ekstrak *Ageratum conyzoides*.

(f). **Aktivitas Insektisida Ekstrak Petroleum Eter dari *Ageratum conyzoides* [35]**

Penelitian ini menguji aktivitas insektisida ekstrak petroleum eter dari *Ageratum conyzoides*. Aktivitas ekstrak diuji kepada larva *Musca domestica* dan *Cynthia carye*. Selain itu, ekstrak ini juga memiliki aktivitas insektisida terhadap *Acanthoscelides obtectus* dewasa. Penelitian ini juga berhasil mengisolasi senyawa chromene precocene II, yang memiliki tingkat racun yang tinggi terhadap *Musca domestica*. Selain itu, penelitian ini berhasil mengisolasi dua jenis flavonoid yaitu euraplestin dan lucidin dimetil eter.

Ringkasan dari *state of the art* dan posisi dari penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3. State of The Art dan Letak Penelitian yang Dilakukan

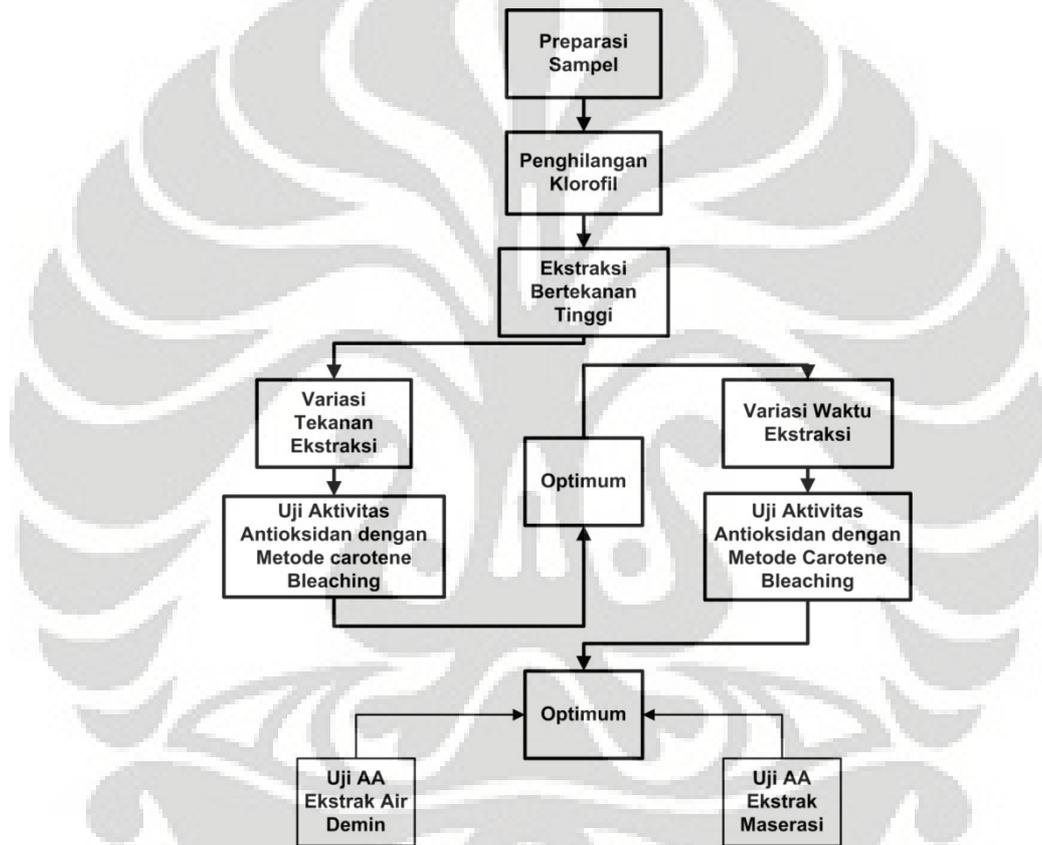
Metode Ekstraksi	Maserasi		Sachin, Jain; 2009 (Alkohol 95 %; Akar)				
			Oladejo, et.al; 2003 (Metanol, Daun)				
				B, Fathihah; 2005 (Alkohol 95 % dan Air Demin; Daun)			
					Noguchi, Tako; 2001 (Aseton; Batang)		
						Nyemb, et.al; 2009 (Air Demin; Daun)	
	Soxhlet	Calle, Jairo et.al; 1990 (Petroleum Ether; Daun)					
	High Pressure Extraction						
	Microwave Assisted Extraction						
	Aktivitas Insektisida	Penyembuh Luka	Antiulcer, Cryptiprotective	Allelopati	Antioksidan Potensial	Aktivitas Antioksidan	
Aktivitas Ekstraknya							

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Berikut ini adalah rancangan penelitian yang akan dilakukan yang terdiri dari preparasi sampel, proses ekstraksi bertekanan tinggi, dan uji aktivitas antioksidan. Hasil dari uji aktivitas antioksidan akan dibandingkan dengan hasil aktivitas antioksidan yang diperoleh pada ekstrak dengan air demin serta ekstrak etanol dengan metode maserasi.



Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian

Pada Gambar 3.1 di atas dapat dilihat alur dari penelitian ini. Berikut ini adalah penjelasan dari alur penelitian tersebut:

1. Preparasi Sampel

Sampel adalah daun *Ageratum conyzoides* yang dibudidayakan oleh Badan Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik. Sampel tersebut sudah dipreparasi ukurannya hingga sebesar 70 mesh. Sebelum diekstrak, sampel disimpan dalam wadah tertutup pada suhu ruang. Selanjutnya,

dilakukan penghilangan klorofil pada sampel. Klorofil merupakan zat yang memiliki nilai absorbansi sendiri sehingga dapat mengurangi validitas data absorbansi pada saat menguji nilai aktivitas antioksidannya.

2. Proses Ekstraksi

Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi pada sampel guna mendapatkan ekstrak etanol dari daun *Ageratum conyzoides*. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode ekstraksi bertekanan tinggi dengan variasi dua variabel yaitu tekanan dan waktu ekstraksi guna mendapatkan nilai optimum pada masing-masing variabel.

3. Uji Aktivitas Antioksidan

Pada ekstrak yang didapatkan pada setiap variasi variabel yang dilakukan, dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode *carotene bleaching*. Dari hasil uji aktivitas antioksidan akan didapatkan nilai aktivitas antioksidan dari ekstrak yang didapatkan.

3.2. Alat dan Bahan

Peralatan dan bahan-bahan yang digunakan selama penelitian terdiri atas berbagai macam dengan jenis dan fungsinya dapat dilihat pada sebagai berikut.

Tabel 3.1. Peralatan dan kegunaannya

No.	Nama Alat	Kegunaan
1.	Beaker glass, gelas ukur, labu erlenmeyer, pipet volume, pipet kapiler	Wadah bahan, alat bantu penelitian
2.	Timbangan analit digital dengan ketelitian 0,0001 gram	Menimbang sampel, ekstrak, dan bahan lainnya
3.	Oven	Menginkubasi sampel

No.	Nama Alat	Kegunaan
4.	Spektrofotometer UV	Mengukur absorbansi sampel pada uji aktivitas antioksidan.
5.	Kertas saring	Penyaring
6.	<i>Sentrifuge</i>	Melakukan sentrifugasi pada sampel yang akan dihilangkan klorofilnya
7.	<i>Vorteks</i>	Wadah dalam penghilangan klorofil

Tabel 3.2. Bahan-bahan dan kegunaannya

No.	Nama Bahan	Kegunaan
1.	Daun <i>Ageratum conyzoides</i>	Sampel
2.	Etanol	Pelarut
3.	Minyak goreng curah	Media uji aktivitas
4.	BHT	Pembanding aktivitas antioksidan
5.	Wortel	Sumber karoten pada uji aktivitas
6.	Kloroform	Pelarut karotenoid
7.	Aquades	Pelarut universal
8.	Aseton 80 %	Pelarut dalam penghilangan klorofil

3.3. Prosedur Penghilangan Klorofil

Klorofil yang terkandung dalam daun harus dihilangkan guna menghilangkan impurities yang nantinya akan mempengaruhi keakuratan dalam penentuan absorbansi dari antioksidan yang dihasilkan. Adapun prosedurnya dapat dilihat sebagai berikut:

1. Memasukkan padatan bubuk dedaunan kering ke dalam tabung erlenmeyer lalu melarutkan sejumlah volume larutan aseton 80 % (rasio larutan aseton 80 % dengan sampel biasanya 1:1 atau 1:2)
2. Mengaduk secara merata dengan vorteks selama 30 detik (dilakukan tidak terus menerus setiap 5 detik)
3. Mendinginkan hingga 5 menit

4. Membagi sampel menjadi beberapa bagian sama rata untuk ditempatkan dalam tabung sentrifuge
5. Mensentrifuge larutan yang terjadi (3300 g/10 menit)
6. Mengambil supernatan dari hasil sentrifuge larutan di atas. Supernatan merupakan larutan bagian atas di dalam tabung sentrifuge setelah sampel melalui proses sentrifuge yang akan dipisahkan dari sampel.

3.4. Prosedur Ekstraksi Tekanan Tinggi

Langkah-langkah dalam ekstraksi tekanan tinggi adalah sebagai berikut:

1. Memasukkan sampel yang sudah dipreparasi dan diambil klorofilnya ke dalam kolom ekstraksi sekitar 2 gram.
2. Membuka *needle valve* dengan bukaan sesuai kalibrasi untuk laju alir pelarut 1,5 mL/menit.
3. Mengeset alat dalam keadaan pelarut yang disirkulasi.
4. Menyalakan pompa untuk mengalirkan pelarut dari tangki ke kolom ekstraksi.
5. Mengatur tekanan pelarut pada 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 bar.
6. Melakukan variasi waktu ekstraksi sebesar 5, 15, 30, 45, 60, dan 70 menit pada suhu ruang.
7. Hasil ekstraksi ditampung pada bejana ekstrak.

Hasil ekstraksi pada kondisi optimum pada masing-masing variabel disimpan untuk selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan.

3.5. Prosedur Ekstraksi Maserasi

Langkah-langkah dalam ekstraksi maserasi adalah sebagai berikut :

1. Memasukkan sampel, yang sudah dipreparasi dan diambil klorofilnya, sebanyak 5 gram ke dalam labu Erlenmeyer.
2. Memasukkan pelarut etanol sebanyak 250 mL ke dalam labu Erlenmeyer.
3. Memasukkan *stirrer* ke dalam larutan ethanol-sampel.
4. Menutup labu erlenmeyer tersebut dengan menggunakan aluminium foil.
5. Meletakkan labu erlenmeyer tersebut ke alat pengaduk magnetis.
6. Menyalakan alat pengaduk magnetis.

7. Mendingkankan sistem ekstraksi tersebut berlangsung selama 3 hari.
8. Mematikan alat pengaduk magnetis.
9. Memisahkan ekstrak dan pelarut dengan residunya.
10. Hasil ekstraksi (ekstrak dan pelarut) ditampung pada gelas beaker untuk selanjutnya dihilangkan pelarutnya.

3.6. Prosedur Isolasi Karotenoid dari Wortel

Isolasi karoten dilakukan sesuai dengan metode yang dilakukan oleh Martina Fikselkova [27].

1. Menghancurkan sejumlah wortel sebagai sumber karotenoid.
2. Melarutkan wortel yang sudah dihancurkan dengan etanol 96 %
3. Menyaring wortel yang sudah dilakukan pelarutan dengan etanol 96 %
4. Melarutkan wortel yang sudah disaring dengan kloroform
5. Menyaring sisa wortel dengan sistem larutan karotenoid-kloroform
6. Menyimpan dan menutup dengan rapat sistem larutan karotenoid-kloroform yang didapatkan

3.7. Metode Carotene Bleaching

Uji aktivitas antioksidan dengan metode *carotene bleaching* menggunakan senyawa karotenoid. Adapun uji aktivitas antioksidan dilakukan sesuai prosedur sebagai berikut:

1. Memipet sekitar 4 mL larutan karotenoid-kloroform, kemudian dicampurkan ke dalam 2 gram minyak goreng curah.
2. Campuran diencerkan dengan etanol-kloroform dengan perbandingan 3:2 hingga 100 mL.
3. Melarutkan fraksi ekstrak ke dalam campuran tersebut sebanyak 5 % dari jumlah minyak yang ditambahkan dan menginkubasi pada suhu 50 °C.
4. Mencari nilai absorbansi dari campuran karotenoid dengan minyak saja dan campuran karotenoid, minyak dan ekstrak menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang $\lambda = 453$ nm pada waktu 0, 15, 30, 60, 75, dan 120 menit.

5. Mengukur absorbansi larutan 5 % BHT sebagai kontrol positif dengan spektrofotometer UV.

3.8. Metode Spektrofotometer

Deteksi absorbansi dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer yang ada di Laboratorium Bioproses. Berikut ini adalah prosedur dari spektrofotometer.

1. Menyiapkan sampel yang akan diuji
2. Mengeset panjang gelombang pada angka 453
3. Menunggu sekitar 10 menit untuk stabilisasi alat
4. Memasukkan larutan standar pada kuvet (pastikan kuvet yang digunakan adalah kuvet kaca karena kloroform dapat melarutkan plastik)
5. Memasukkan kuvet kaca yang berisi larutan standar dalam alat spektrofotometer
6. Mengeset absorbansi pada titik 0
7. Memasukkan kuvet kaca yang berisi sampel yang akan diuji pada tempat sampel.
8. Mencatat nilai absorbansi yang terekam di alat spektrofotometer.

BAB 4

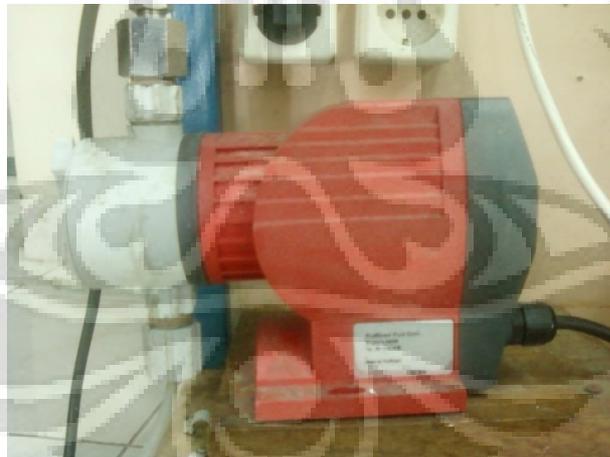
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Sistem Peralatan Ekstraksi Bertekanan Tinggi

Pada subbab ini akan dijelaskan sistem peralatan ekstraksi bertekanan tinggi dan deskripsi kegunaannya. Sistem peralatan ini dapat melakukan ekstraksi dengan tekanan tinggi. Kemampuan dari peralatan ini adalah beroperasi pada tekanan maksimal 12 bar. Apabila melebihi tekanan tersebut maka sistem peralatannya akan banyak terjadi kebocoran, seperti contohnya adalah akan terjadi kebocoran pada sistem ekstraktor bertekanan tinggi, serta pada sambungan-sambungan pipa sistem alat ini.

Pompa Bertekanan Tinggi

Pompa bertekanan tinggi ini berguna untuk meningkatkan tekanan ekstraksi serta mengalirkan pelarut. Pompa ini merupakan pompa berjenis diafragma. Pada sistem instrumentasinya, terdapat dua sistem kontrol. Sistem kontrol pertama mengatur jumlah dorongan per satuan detik, sistem kontrol yang selanjutnya untuk mengatur banyaknya laju alir pelarut.



Gambar 4.1. Pompa Diafragma Bertekanan Tinggi



Gambar 4.2. Sistem Panel Kontrol Pompa Diafragma Bertekanan Tinggi.

Sistem Perpipaan

Sistem perpipaan untuk sistem setelah pompa hingga menuju ke kolom ekstraktor terbuat dari stainless steel. Pipa stainless tersebut berdiameter $\frac{1}{4}$ inci. Sistem perpipaan dari kolom ekstraktor menuju bejana pelarut terbuat dari plastik. Sedangkan sistem perpipaan dari bejana pelarut ke sambungan pipa plastik sebelum pompa terbuat dari bahan silika.



Gambar 4.3. Sistem Perpipaan

Pressure Gauge

Pressure gauge dari peralatan ini merupakan alat instrumentasi yang mengindikasikan besarnya tekanan dalam sistem peralatan ekstraksi bertekanan tinggi. Skala bacaan tekanan maksimum untuk instrumentasi ini sebesar 25 bar.



Gambar 4.4. Pressure Gauge

Sistem Katup

Valve atau katup yang digunakan dalam alat ini ada dua, yaitu *needle valve* dan *check valve*. *Needle valve* berfungsi untuk mengatur laju alir yang keluar dari kolom ekstraktor. *Check valve* berfungsi untuk mencegah adanya aliran balik setelah pompa bertekanan tinggi.



Gambar 4.5. Check Valve



Gambar 4.6. Needle Valve

Kolom Ekstraktor

Kolom ini merupakan tempat terjadinya ekstraksi bertekanan tinggi. Kolom ini merupakan tempat ditaruhnya sampel untuk diekstrak pada tekanan tinggi. Kolom ini berdiameter luar 18 mm, tebal 3,2 mm, dan tinggi 180 mm. Untuk menahan sampel yang diekstrak, pada bagian bawah dan atas kolom ini diletakkan penyaring dengan ukuran yang sesuai dengan ukuran sampel. Penyaring ini diletakkan untuk mencegah adanya sampel yang ikut terbawa pelarut.



Gambar 4.7. Kolom Ekstraktor

Bejana Pelarut

Bejana ini digunakan untuk menampung sejumlah pelarut yang akan digunakan dalam proses ekstraksi bertekanan tinggi. Bejana ini terbuat dari plastik.



Gambar 4.8. Bejana Pelarut

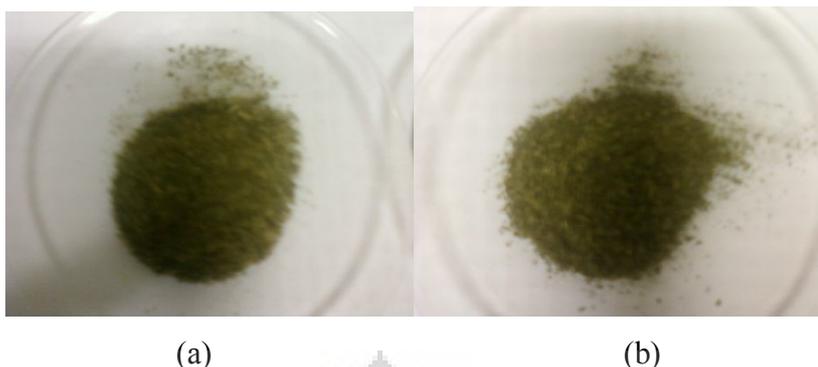
Bejana Ekstrak

Bejana ekstrak yang digunakan merupakan labu Erlenmeyer. Selang yang menghubungkan antara kolom ekstraktor dengan bejana ekstrak akan dipindahkan ke bejana ekstrak. Pemindahan rangkaian ini dilakukan setelah proses ekstraksi selesai dilakukan.

4.2. Analisis Percobaan

Dua tahap preparasi sampel dilakukan. Yang pertama adalah pengurangan ukuran partikel dan penghilangan klorofil. Pengurangan ukuran partikel dilakukan agar luas area kontak antara pelarut dan sampel padat lebih besar sehingga memungkinkan untuk mendapatkan *yield* yang maksimal. Proses pengurangan ukuran partikel dilakukan oleh Badan Penelitian Tanaman Aromatik dan Obat. Ukuran partikelnya sebesar 70 mesh. Selanjutnya sampel tersebut dihilangkan kandungan klorofilnya.

Penghilangan klorofil perlu dilakukan guna menghilangkan klorofil yang memiliki nilai absorbansi sendiri sehingga dapat mengurangi validitas data absorbansi pada saat proses uji aktivitas antioksidan. Proses penghilangan klorofil dilakukan dengan cara melarutkan sejumlah sampel ke dalam aseton yang merupakan salah satu jenis pelarut yang baik untuk klorofil [36]. Sampel yang telah dilakukan *pretreatment* akan membuat sampel mengeluarkan warna asli daunnya. Setelah itu campuran sampel dan aseton tersebut di-*vorteks*. *Vorteks* dilakukan untuk memungkinkan sistem campuran tersebut tercampur merata dan membuat hancur dinding sel dari sampel sehingga proses pelarutan klorofil dalam aseton lebih optimal. Sampel yang belum dan sudah dilakukan preparasi dapat dilihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9. (a) Sampel sebelum *pretreatment*, (b) Sampel setelah *pretreatment*.

Pada gambar di atas memang tidak terlihat perbedaan yang signifikan antara sampel yang sudah dihilangkan klorofilnya dengan yang belum dihilangkan klorofilnya. Pada proses penghilangan klorofil dinyatakan bahwa ekstrak yang berwarna lebih gelap menunjukkan bahwa sudah ada sebagian klorofil yang terlarut dalam pelarutnya [36]. Pada saat dikeringkan, sampel tersebut hampir sama dengan sampel yang belum dihilangkan klorofilnya.

4.2.1. Tahap Ekstraksi Perendaman (Maserasi)

Tahap ekstraksi maserasi ini dilakukan untuk mendapatkan data kontrol baik untuk nilai aktivitas antioksidan, maupun untuk nilai *yield* yang dihasilkan dari proses ekstraksi tersebut. Proses maserasi dilakukan dalam 3 hari dengan cara melarutkan 5 gram sampel padat *Ageratum conyzoides* ke dalam 250 mL etanol 96 %. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pengaduk agar proses ekstraksi merata dan mendapatkan hasil ekstraksi yang optimal. Hasil ekstraksi maserasi dapat dilihat pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10. Hasil Ekstrak *Ageratum conyzoides* dari Proses Perendaman.

Hasil ekstrak *Ageratum conyzoides* dari proses ini berwarna hijau tua. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa masih terdapatnya klorofil dalam sampel yang diuji. Ekstrak *Ageratum conyzoides*, yang sudah dihilangkan pelarutnya, berwarna lebih pekat dan berwujud seperti *slurry*. Hasil ekstraknya dapat dilihat pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11. Hasil Ekstrak *Ageratum conyzoides* (tanpa pelarut)

4.2.2. Tahap Ekstraksi Bertekanan Tinggi

Proses ekstraksi menggunakan serangkaian alat ekstraksi yang ada di Laboratorium Bioproses Departemen Teknik Kimia. Proses ekstraksi dilakukan dengan mensirkulasikan pelarut yang digunakan. Hal ini dilakukan untuk menghemat penggunaan pelarut pada proses ekstraksi. Variasi yang dilakukan adalah variasi tekanan dan waktu ekstraksi. Variasi ini dilakukan untuk melihat pengaruh dari variable operasi tersebut terhadap *yield* ekstraksi dan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol *Ageratum conyzoides*.

Variasi pertama yang dilakukan adalah variasi tekanan pada laju alir pelarut dan waktu ekstraksi yang tetap. Variasi dilakukan pada tekanan 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 bar. Variasi kedua yang dilakukan adalah variasi waktu ekstraksi pada

laju alir dan waktu ekstraksi yang tetap serta pada tekanan optimal yang didapatkan dari hasil variasi pertama. Variasi ini dilakukan tidak hanya untuk melihat pengaruh dari perubahan waktu ekstraksi terhadap *yield* yang dihasilkan, dan nilai aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol tanaman ini, tapi juga melihat pengaruhnya terhadap solubilitas dari ekstrak etanol *Ageratum conyzoides* dalam pelarut etanol.

Pada hasil ekstraksi, dari segi kualitatif, tidak terlihat perbedaan yang cukup signifikan antara ekstrak yang dihasilkan pada tiap variasi. Hal yang perlu dicatat dari proses ekstraksi adalah jumlah ekstrak dengan pelarut yang dihasilkan menjadi lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah pelarut yang digunakan. Hal ini mungkin terjadi karena rangkaian alat masih cukup terbuka (tidak tertutup sempurna) khususnya pada sambungan antara kolom ekstraktor dengan bejana pelarut. Hal ini dapat memungkinkan terjadinya penguapan pelarut pada saat proses stabilisasi tekanan dan pengambilan ekstrak. Selain itu, hal lain yang membuat jumlah ekstrak dan pelarut tersebut lebih sedikit adalah masih terdapatnya pelarut yang tertinggal di dalam kolom ekstraksi bersama dengan sampel ekstrak. Hasil ekstraksi bertekanan tinggi dapat dilihat pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12. Hasil Ekstrak *Ageratum conyzoides* dari Proses Ekstraksi Bertekanan Tinggi

Setelah dilakukan proses penghilangan pelarut, ekstrak yang dihasilkan berwarna agak kecoklatan sampai berwarna coklat gelap. Hasil penghilangan pelarut dapat dilihat pada Gambar 4.13.



Gambar 4.13. Hasil Ekstrak *Ageratum conyzoides* dari Proses Ekstraksi Bertekanan Tinggi (tanpa pelarut)

4.2.3. Tahap *Carotene bleaching*

Tahapan ini dilakukan untuk melihat, secara kuantitas, nilai aktivitas antioksidan dari suatu senyawa. Metode ini juga dilakukan untuk melihat ada atau tidak perubahan nilai aktivitas antioksidan untuk tiap parameter variasi yang diujikan. Nilai aktivitas antioksidan yang didapatkan akan menjadi acuan untuk menentukan parameter operasi optimal untuk tiap parameter yang diuji. Metode ini digunakan karena merupakan metode yang sederhana dan aman. Bahan alam yang dimanfaatkan pada tahap ini adalah karotenoid yang diisolasi langsung dari wortel sebagai sumber karotenoid [27].

Senyawa karotenoid diperoleh dengan cara menghancurkan wortel terlebih dahulu. Kemudian, wortel halus diekstrak dengan menggunakan etanol untuk menarik senyawa polar. Campuran kemudian disaring dan padatan ekstrak yang dihasilkan diekstrak kembali dengan menggunakan kloroform. Penggunaan kloroform dipilih karena karotenoid sangat larut dalam kloroform. Kemudian campuran kloroform-karotenoid tersebut disimpan sebagai sumber senyawa karotenoid.

Metode *carotene bleaching* dapat menentukan nilai aktivitas antioksidan dari suatu senyawa dengan mekanisme pencegahan pemucatan warna oranye dari karotenoid. Radikal bebas yang berasal dari minyak curah akan membentuk radikal-radikal bebas apabila dipanaskan. Radikal bebas inilah yang akan menyerang struktur karotenoid. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut dapat mencegah radikal bebas menyerang struktur karotenoid [24].

Indikator pemucatan warna oranye akibat serangan radikal bebas adalah menurunnya nilai absorbansi dari emulsi minyak curah, ekstrak, dan karotenoid. Absorbansi diukur menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 453 nm. Panjang gelombang tersebut merupakan spektrum panjang gelombang yang diserap paling kuat oleh karotenoid[37]. Pengambilan data untuk tiap sampel dilakukan 2 kali (metode duplo) untuk memvalidasi data yang dihasilkan. Pada tahap ini dilakukan juga pengukuran absorbansi kontrol negative (blank) dan kontrol positif (BHT).

Proses *carotene bleaching* dilakukan pada suhu pemanasan 50 °C. Pemanasan dilakukan dengan menggunakan inkubator. Pemanasan ini yang akan mengoksidasi minyak curah dan membentuk radikal peroksida. Radikal peroksida inilah yang kemudian akan menyerang ikatan konjugasi rangkap dari karotenoid.

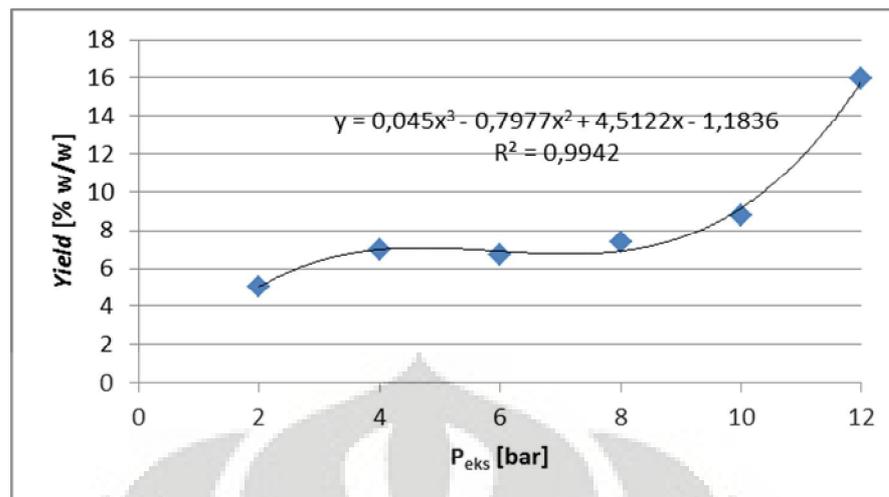
Hasil dari uji aktivitas sampel variasi tekanan ekstraksi yang memberikan nilai aktivitas antioksidan terbesar akan digunakan untuk variasi berikutnya, yaitu dengan variasi waktu ekstraksi. Sistem emulsi awal pada uji carotene bleaching dapat dilihat pada Gambar 4.14.



Gambar 4.14. Sistem Emulsi Awal pada Uji Carotene Bleaching.

4.3. Analisis Pengaruh Tekanan terhadap *Yield* Ekstraksi

Tekanan divariasikan dari 2, 4, 6, 8, 10, dan 12 bar. Data yang diambil untuk tiap sampel dilakukan 2 kali (metode duplo). Pengaruh tekanan terhadap *yield* ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 4.15.

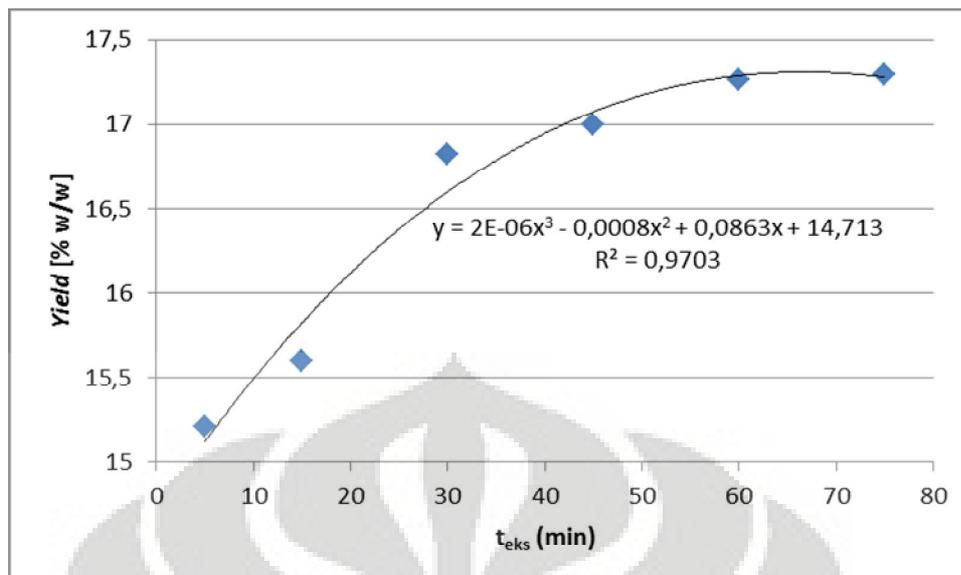


Gambar 4.15. Pengaruh perubahan tekanan terhadap *yield* ekstraksi yang dihasilkan.

Dari Gambar 4.15. dapat dilihat bahwa secara umum kenaikan tekanan akan meningkatkan *yield* ekstraksi yang dihasilkan. Tekanan yang semakin tinggi akan membuat tahanan sel pada sampel semakin berkurang dan juga akan meningkatkan laju transfer massa [38]. Pada tekanan antara 2 sampai 10 bar, terlihat bahwa kenaikan *yield* lebih sedikit jika dibandingkan pada tekanan 12 bar. Hal ini terjadi karena masih terdapat efek tahanan sel pada tekanan tersebut, sedangkan pada tekanan 12 bar tahanan sel sudah tidak memiliki efek yang signifikan [38].

4.4. Analisis Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap *Yield* Ekstraksi

Variasi waktu ekstraksi yang dilakukan adalah 5, 15, 30, 45, 60, dan 75 menit. Pengambilan data *yield* ekstraksi dilakukan 2 kali (menggunakan metode duplo). *Yield* ekstraksi yang dihasilkan dari variasi waktu ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 4.16.



Gambar 4.16. Pengaruh waktu ekstraksi terhadap *yield* ekstraksi yang dihasilkan.

Dari Gambar 4.16. dapat dilihat bahwa peningkatan waktu ekstraksi akan meningkatkan *yield* ekstraksi yang dihasilkan. Peningkatan waktu ekstraksi membuat lama kontak antara pelarut dengan sampel menjadi lebih besar. Hal ini membuat semakin banyak kandungan dalam sampel yang terlarutkan di dalam pelarut. Selain itu, peningkatan waktu ekstraksi pada sistem sirkulasi pelarut, membuat kontak berulang terjadi lebih banyak dan menyebabkan *solute* berdifusi secara maksimal [39].

Pada Gambar 4.16. juga dapat dilihat pada tekanan 10 dan 12 bar tidak terjadi perubahan banyak *yield* yang signifikan. Hal ini mungkin terjadi karena mulai terjadinya penjumlahan pada pelarut.

4.5. Penentuan Laju Degradasi Beta Karoten

Laju degradasi beta karoten merupakan salah satu parameter kualitatif yang dapat mengindikasikan tingkat aktivitas antioksidan dari ekstrak yang diuji. Laju degradasi karoten yang rendah menunjukkan bahwa kemampuan suatu ekstrak untuk menghambat terjadinya reaksi oksidasi terhadap karoten cukup tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak tersebut cukup tinggi [40].

Banyak peneliti yang mengasumsikan bahwa laju reaksi oksidasi beta karoten berorde satu. Sehingga, dalam menentukan laju degradasi dari beta karoten digunakan model kinetika sederhana berorde satu [41]. Dari data absorbansi yang didapatkan dari hasil eksperimen dapat dikonversikan ke dalam nilai konsentrasi dari beta karoten. Konversi ini menggunakan kurva kalibrasi yang dibuat dan digunakan oleh Achmad Reza pada tahun 2006 [42]. Dari data konsentrasi yang diperoleh maka nilai laju degradasi dapat dihitung dengan menggunakan persamaan berikut :

$$\text{Laju degradasi} = \ln \frac{C_{A0}}{C_A} \times \frac{1}{t} \quad (4.1)$$

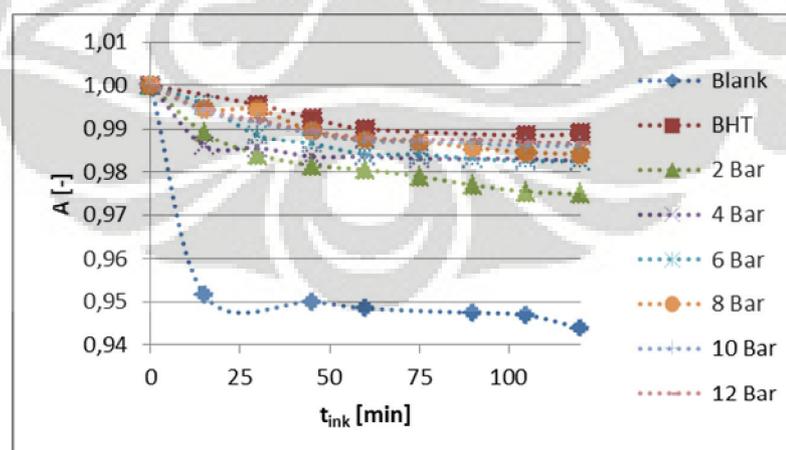
dimana : C_{A0} = konsentrasi awal beta karoten

C_A = konsentrasi beta karoten pada waktu t

t = waktu inkubasi (menit)

4.6. Analisis Pengaruh Tekanan terhadap Aktivitas Antioksidan

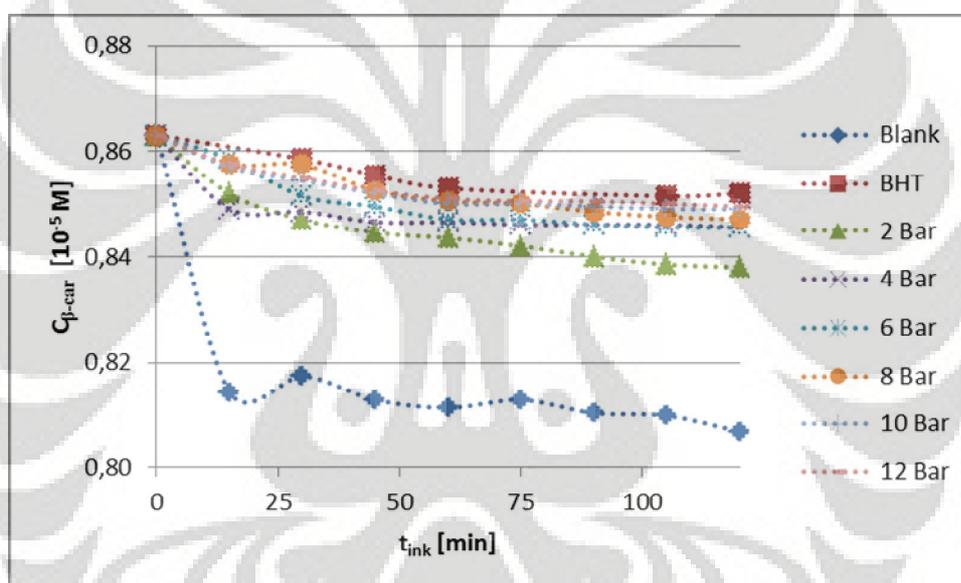
Aktivitas antioksidan dapat dilihat dari tingkat degradasi absorbansi dari emulsi karoten, minyak dan etanol-kloroform yang terjadi. Semakin drastisnya tingkat degradasi absorbansi maka tingkat aktivitas antioksidan senyawa tersebut semakin kecil. Perubahan nilai absorbansi yang terjadi, pada tahap variasi ini, dapat dilihat pada Gambar 4.17.



Gambar 4.17. Pengaruh Tekanan Ekstraksi terhadap Laju Penurunan Absorbansi ($t_{eks} = 30$ menit).

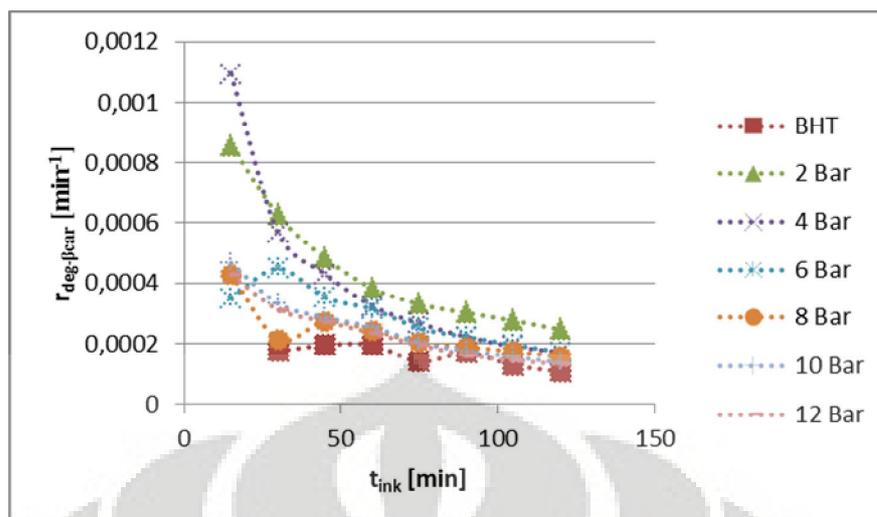
Dari Gambar 4.17 dapat dilihat bahwa sampel Blank memiliki nilai penurunan absorbansi yang paling besar. Hal ini sesuai dengan yang seharusnya terjadi, bahwa karoten pada sampel Blank, yang menjadi kontrol negatif, tidak memiliki tahanan terhadap serangan radikal peroksida [43]. Hal ini yang menyebabkan penurunan nilai absorbansi menjadi lebih besar. Dari gambar tersebut juga terlihat, secara kualitatif, bahwa sampel pada tekanan 12 bar memiliki nilai penurunan absorbansi paling sedikit.

Dari data absorbansi ini, kita dapat mengubahnya menjadi data konsentrasi karoten dengan mengubahnya berdasarkan kurva kalibrasi yang dibuat oleh Achmad Reza [42]. Data konsentrasi karoten dapat dilihat pada Gambar 4.18.



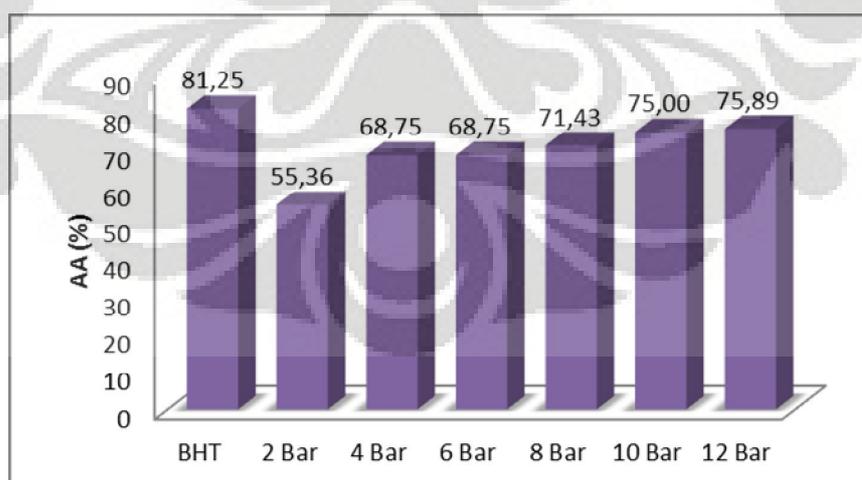
Gambar 4.18. Data Penurunan Konsentrasi Karoten pada Tiap Sampel (t_{eks} = 30 Menit)

Dari data penurunan konsentrasi, kita dapat membuat grafik laju degradasi karotenoid dalam sistem emulsi. Hal ini bertujuan untuk melihat laju penghambatan degradasi karoten pada tiap sampel uji. Grafik laju degradasi karoten dapat dilihat pada Gambar 4.19.



Gambar 4.19. Kurva Laju Degradasi Beta Karoten ($t_{eks} = 30$ menit)

Secara umum, pada gambar tersebut dapat dilihat bahwa semakin lama waktu inkubasi maka tingkat laju degradasinya semakin sedikit. Hal ini juga sesuai dengan data yang didapatkan oleh Othman pada penelitian tahun 2007 [40]. Pada gambar tersebut dapat dilihat bahwa laju degradasi yang lebih kecil (setelah BHT sebagai control positif) adalah ekstrak dengan tekanan 12 bar. Secara kualitatif, ekstrak pada tekanan 12 bar merupakan ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling besar dibandingkan ekstrak lainnya. Kuantifikasi nilai aktivitas antioksidannya dapat dilihat pada Gambar 4.20.



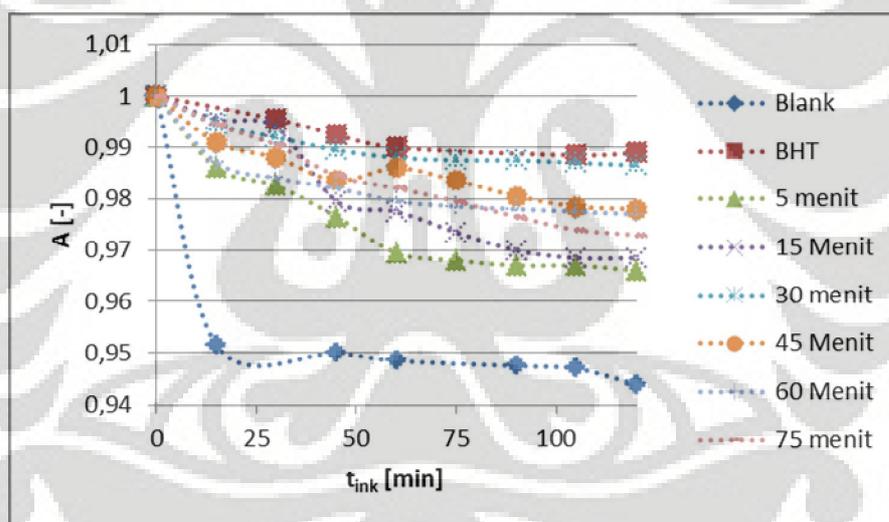
Gambar 4.20. Pengaruh tekanan ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan ($t_{eks} = 30$ menit).

Dari Gambar 4.20. dapat dilihat bahwa peningkatan tekanan ekstraksi akan meningkatkan nilai aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol *Ageratum conyzoides*. Peningkatan tekanan akan meningkatkan laju transfer massa, serta meningkatkan penetrasi solvent ke dalam sel tumbuhan dengan menghancurkan dinding sel dari tanaman sampel. Hal ini akan memungkinkan senyawa-senyawa yang memiliki aksi antioksidan, yang berada di dalam bagian dinding sel, akan terlarut dalam etanol [38].

Nilai aktivitas antioksidan maksimal yang dihasilkan adalah sebesar 75,89 %. Nilai ini lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai aktivitas antioksidan dari senyawa BHT (sebagai kontrol positif) yang sebesar 81,25 %.

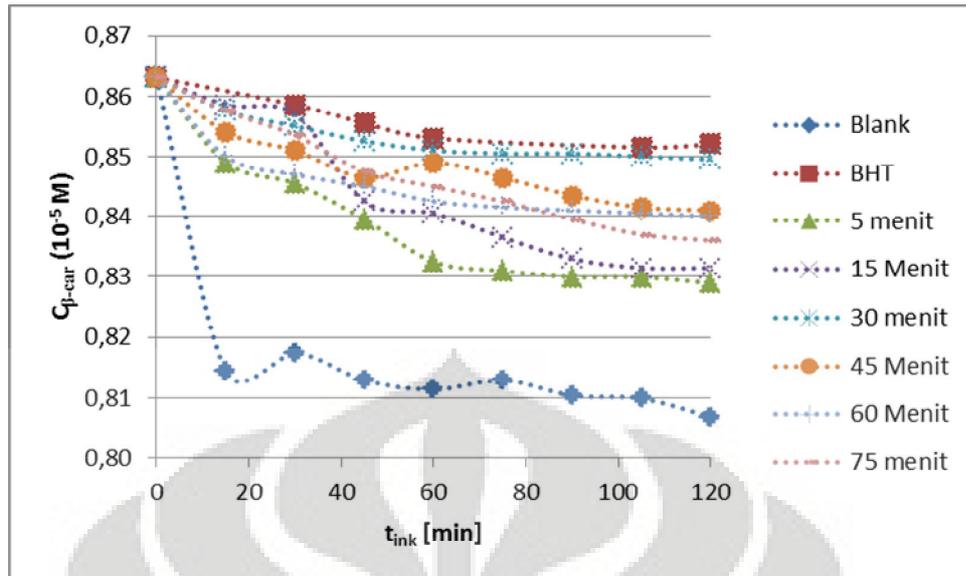
4.7. Analisis Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan

Pengaruh waktu ekstraksi terhadap penurunan tingkat absorbansi dapat dilihat pada Gambar 4.21.



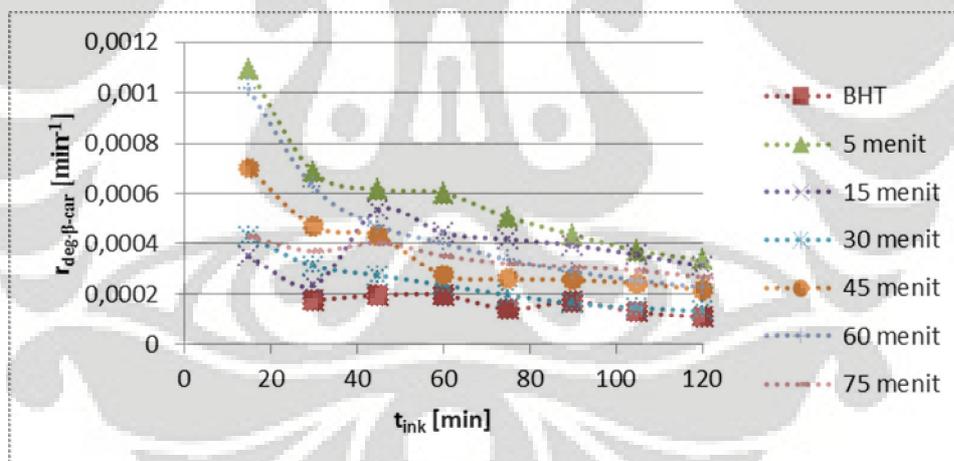
Gambar 4.21. Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Laju Penurunan Absorbansi ($P_{eks} = 12$ Bar)

Dari Gambar 4.21. dapat dilihat bahwa sampel pada tekanan 12 bar dan waktu ekstraksi selama 30 menit memiliki nilai penurunan absorbansi yang paling kecil. Dari data absorbansi tersebut, diperoleh data konsentrasi karoten dengan mengkonversi absorbansi ke konsentrasi melalui kurva kalibrasi konsentrasi karoten yang dibuat oleh Ahmad Reza [42]. Data konsentrasi karoten dapat dilihat pada Gambar 4.22.



Gambar 4.22. Penurunan Konsentrasi pada Tiap Sampel ($P_{eks} = 12$ Bar)

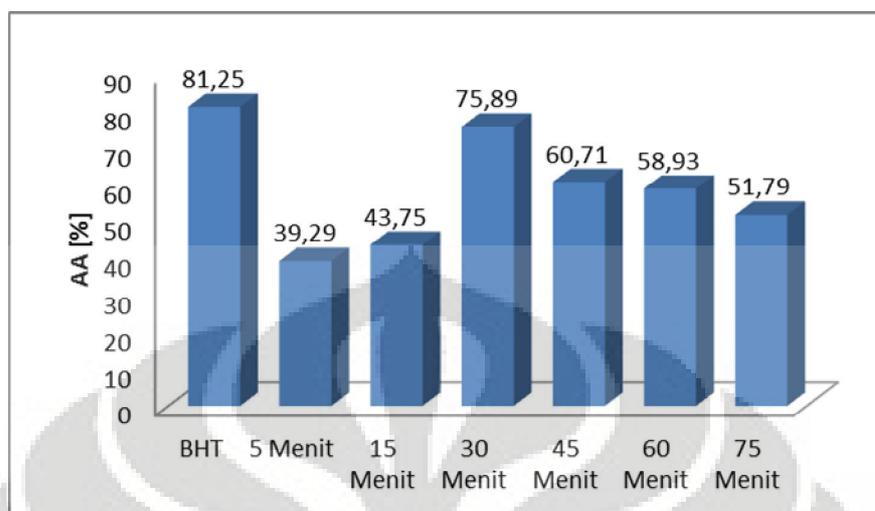
Dari data penurunan konsentrasi tersebut kita dapat melihat perbandingan laju degradasi tiap ekstrak pada Gambar 4.23. Pembuatan grafik ini bertujuan untuk melihat secara kualitatif penghambatan laju degradasi karoten dalam sistem uji.



Gambar 4.23. Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Laju Degradasi Karoten ($P_{eks} = 12$ Bar)

Dari gambar tersebut, dapat dilihat bahwa ekstrak dengan tekanan ekstraksi 12 bar dan waktu ekstraksi 30 menit memiliki laju degradasi karoten yang paling rendah. Sehingga, secara kualitatif dapat dinyatakan bahwa sampel ekstrak tersebut memiliki nilai aktivitas antioksidan yang paling besar jika

dibandingkan dengan sampel ekstrak lainnya. Hasil kuantifikasi nilai aktivitas antioksidan dari tiap ekstrak dapat dilihat pada Gambar 4.24.



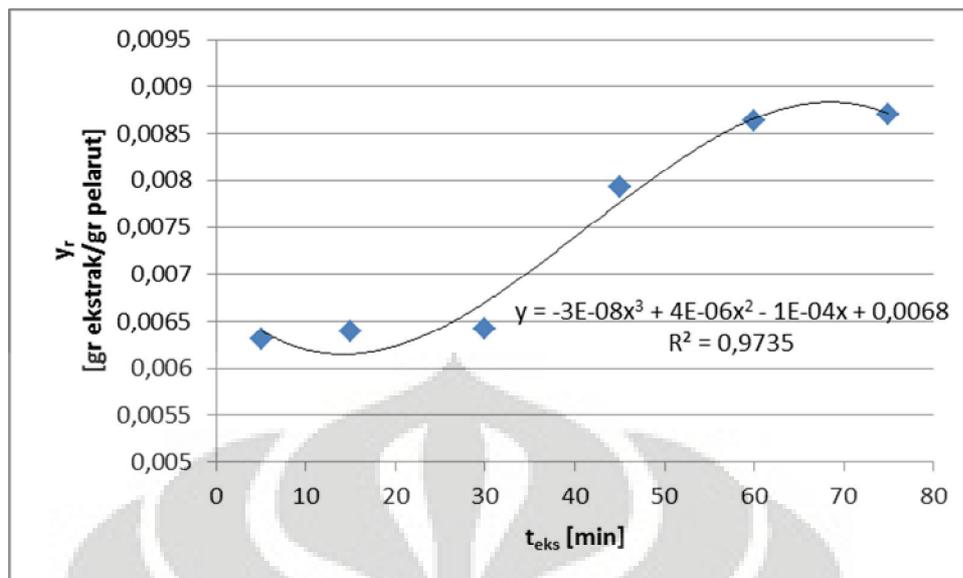
Gambar 4.24. Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Aktivitas Antioksidan ($P_{eks} = 12$ bar).

Dari Gambar 4.24. dapat dilihat bahwa pada kisaran waktu ekstraksi antara 5 – 30 menit terjadi peningkatan nilai aktivitas antioksidan seiring dengan peningkatan waktu ekstraksi. Pada menit ke 45 sampai 75 didapatkan bahwa nilai aktivitas antioksidan semakin menurun. Hal ini mungkin terjadi karena adanya degradasi dari senyawa antioksidan yang terdapat di ekstrak etanol *Ageratum conyzoides*. Degradasi dari suatu senyawa dalam ekstrak merupakan fungsi suhu dan waktu [44]. Sehingga pada saat tertentu, nilai aktivitas antioksidan akan semakin turun seiring dengan meningkatnya waktu ekstraksi.

Selain itu, pada proses ekstraksi bertekanan tinggi, kenaikan waktu ekstraksi pada tekanan tinggi akan menyebabkan terjadinya kenaikan suhu pada sistem ekstraksi[21]. Kenaikan suhu ini juga dapat menjadi faktor terjadinya degradasi senyawa antioksidan dalam ekstrak kasar *Ageratum conyzoides*.

4.8. Analisis Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Solubilitas Ekstrak etanol dalam Etanol 70%

Percobaan ini dimaksudkan untuk melihat pengaruh waktu ekstraksi terhadap kelarutan dari ekstrak etanol dalam pelarut etanol 70%. Hasil dari percobaan ini dapat dilihat pada Gambar 4.25.



Gambar 4.25. Pengaruh Waktu Ekstraksi terhadap Solubilitas Ekstrak etanol dalam etanol 70 %.

Dari Gambar 4.25. dapat dilihat bahwa semakin meningkatnya waktu ekstraksi akan meningkatkan kelarutan dari ekstrak etanol dalam pelarut etanol 70 %. Pada sistem ekstraksi bertekanan tinggi dengan sirkulasi pelarut, semakin meningkatnya waktu ekstraksi akan membuat semakin banyak ekstrak yang terlarut dalam etanol. Namun, pada saat waktu tertentu solubilitas akan menjadi semakin konstan seiring dengan adanya penjumlahan pada pelarut.

4.9. Kondisi Operasi Optimal

Kondisi optimal yang diambil adalah kondisi operasi yang menghasilkan nilai aktivitas antioksidan yang paling besar. Dari hasil percobaan, didapatkan variabel operasi yang optimal adalah pada tekanan 12 bar dan waktu ekstraksi 30 menit. Pada kondisi operasi tersebut dihasilkan *yield* ekstraksi sebesar 16,83 % dengan aktivitas antioksidan sebesar 75,89 %.

4.10. Perbandingan Hasil Ekstraksi dengan Menggunakan Pelarut Etanol dan Pelarut Air Demin serta Metode Maserasi.

Percobaan ini dilakukan untuk melihat pengaruh tingkat kepolaran pelarut terhadap nilai aktivitas antioksidan serta *yield* ekstraksi yang dihasilkan. Proses percobaan ini dilakukan pada kondisi operasi optimum yang telah didapatkan

pada tahap percobaan sebelumnya yaitu pada tekanan 12 bar dan waktu ekstraksi 30 menit. Secara kualitatif, terdapat perbedaan yang mencolok antara ekstrak yang dihasilkan dengan etanol dan air demin. Warna ekstrak etanol berwarna agak kehijauan sedangkan warna hasil ekstraksi air demin agak kecoklatan (lebih mirip air teh). Hal ini mungkin terjadi karena tingkat kepolaran pelarut cukup berbeda, sehingga komponen-komponen yang terlarut berbeda. Komponen-komponen yang lebih polar akan terekstrak pada proses ekstraksi yang menggunakan air demin karena air demin lebih polar jika dibandingkan dengan etanol. Hasil ekstraksi untuk masing-masing pelarut dapat dilihat pada Gambar 4.26.

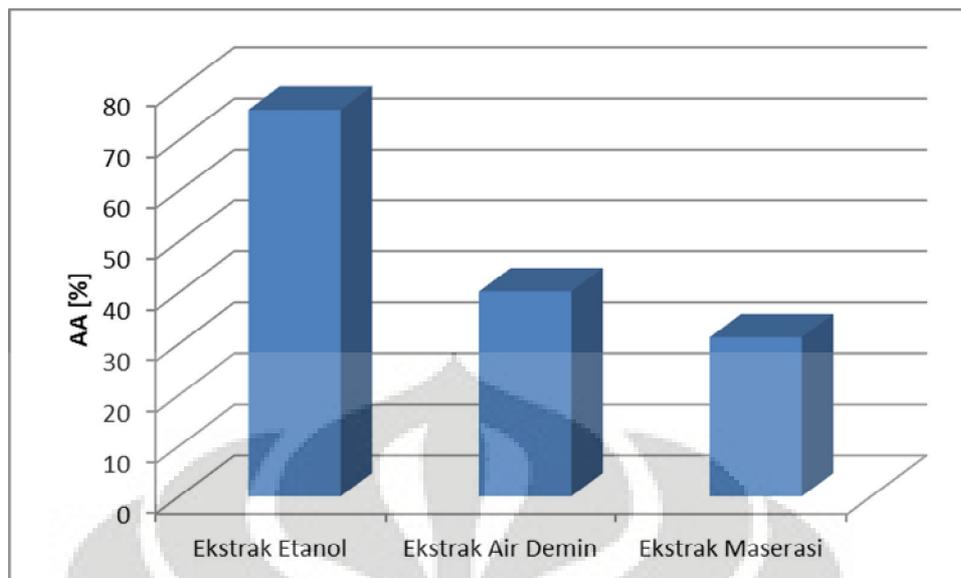


(a)

(b)

Gambar 4.26. Hasil Ekstraksi dengan Pelarut Etanol (a) dan Air Demin (b)

Dari perbedaan warna tersebut memungkinkan adanya perbedaan tingkat aktivitas antioksidan pada ekstrak air demin. Hasil perbandingan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 4.27.



Gambar 4.27. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Demin dan Etanol serta Metode Maserasi

Dari gambar tersebut terlihat bahwa aktivitas antioksidan ekstrak air demin lebih kecil jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol. Hal ini terjadi karena tingkat kepolaran pelarut akan mempengaruhi zat-zat yang terlarut pada proses ekstraksi. Dari percobaan ini juga dapat disimpulkan bahwa semakin polar suatu pelarut maka akan semakin rendah tingkat aktivitas antioksidannya.

Selain itu, metode ekstraksi juga berpengaruh terhadap hasil aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Ekstrak dari hasil ekstraksi bertekanan tinggi memiliki nilai aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan nilai aktivitas hasil ekstraksi maserasi.

4.11. Perbandingan Hasil Ekstraksi dengan Metode Bertekanan Tinggi dan Berbantu Gelombang Mikro.

Perbandingan dilakukan untuk melihat pengaruh dari metode yang digunakan terhadap hasil yang didapatkan. Dari penampakan hasil ekstraksi, tidak terdapat perbedaan yang cukup signifikan antara metode bertekanan tinggi dengan berbantu gelombang mikro. Perbandingan hasil ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 4.28.



(a)

(b)

Gambar 4.28. Perbandingan Hasil Ekstraksi dengan Metode Bertekanan Tinggi (a) dan Berbantu Gelombang Mikro (b).

Dari Gambar 4.28. dapat dilihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil dari kedua metode tersebut. Warna dari hasil ekstraksi berwarna hijau agak tua. Hasil ekstrak tanpa pelarut dilihat pada Gambar 4.27.

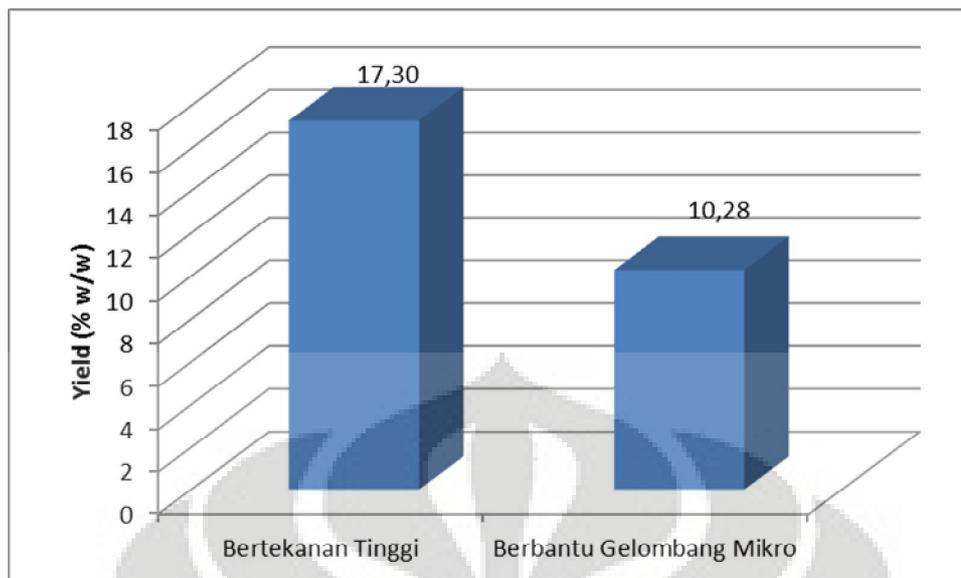


(a)

(b)

Gambar 4.29. Ekstrak tanpa Pelarut dengan Metode Bertekanan Tinggi (a) dan Berbantu Gelombang Mikro (b).

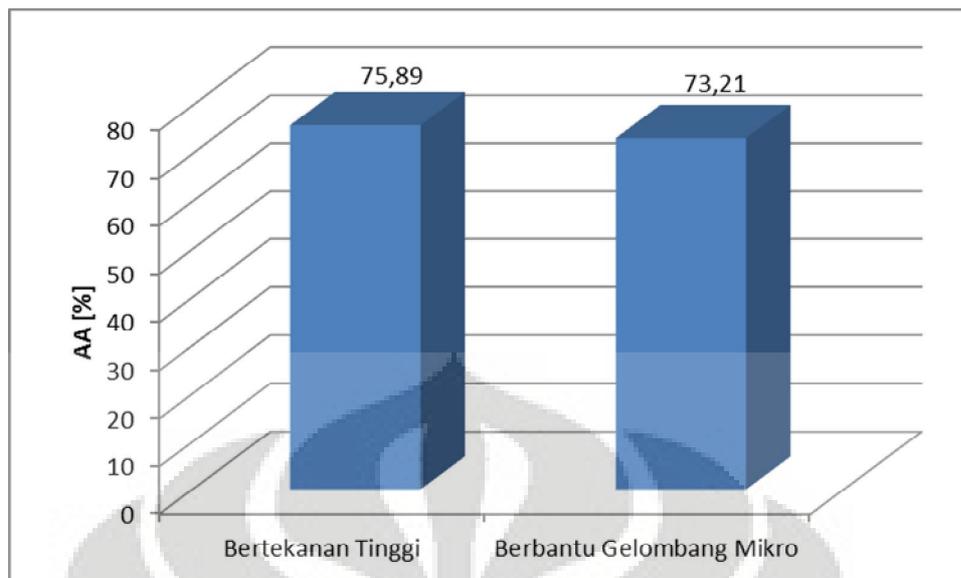
Selain perbandingan penampakan hasil ekstraksi, *yield* ekstraksi yang dihasilkan pada parameter optimal untuk tiap metode juga dibandingkan. Perbandingan *yield* ekstraksi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 4.30.



Gambar 4.30. Perbandingan *Yield* Ekstraksi untuk Metode Bertekanan Tinggi dan Berbantu Gelombang Mikro.

Dari Gambar 4.30. dilihat bahwa hasil ekstraksi dari metode bertekanan tinggi memiliki nilai yang lebih besar jika dibandingkan dengan metode berbantu gelombang mikro. Hal ini dapat dikarenakan pada metode bertekanan tinggi kekuatan pelarutan yang lebih besar [21]. Selain itu pada metode berbantu gelombang mikro terdapat parameter suhu yang bisa menyebabkan terjadinya degradasi dari senyawa-senyawa yang terlarut [45]. Hal-hal itulah yang mungkin menyebabkan terjadinya perbedaan jumlah *yield* ini.

Perbandingan terhadap nilai aktivitas antioksidan juga dilakukan pada dua metode ini. Pada Gambar 4.31 dapat dilihat perbandingan nilai aktivitas antioksidan yang dihasilkan dari kedua metode ini.



Gambar 4.31. Perbandingan Nilai Aktivitas Antioksidan dari Metode Ekstraksi Bertekanan Tinggi dan Berbantu Gelombang Mikro.

Dari Gambar 4.31 terlihat bahwa ekstrak hasil metode bertekanan tinggi memiliki nilai aktivitas antioksidan yang lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak hasil metode berbantu gelombang mikro. Perbedaan angka ini terjadi karena pada metode ekstraksi berbantu gelombang mikro terdapat parameter suhu yang dapat menyebabkan terjadinya degradasi senyawa aktif dalam ekstrak [45]. Faktor itulah yang dapat menyebabkan hasil ekstraksi metode bertekanan tinggi memiliki nilai aktivitas antioksidan yang lebih besar jika dibandingkan dengan hasil ekstraksi berbantu gelombang mikro.

4.12. Metode Perhitungan Kinetika Ekstraksi Bertekanan Tinggi

Pada sistem ekstraksi padat-cair, perhitungan kinetika ekstraksi bergantung pada satu parameter penting yaitu difusivitas matriks. Nilai difusivitas matriks untuk tiap tanaman dan kondisi akan berbeda-beda. Hal inilah yang menjadi halangan utama untuk perhitungan secara langsung kinetika ekstraksi pada tekanan tinggi. Pada sistem ini, permodelan merupakan cara pendekatan yang bisa digunakan untuk menghitung kinetika ekstraksi bertekanan tinggi. Berikut ini beberapa metode permodelan yang dapat dilakukan untuk sistem ekstraksi bertekanan tinggi.

4.12.1. Simple Single Plate Model (SSP Model)

Model ini merupakan model yang diberikan oleh Bartle et al [46], yang telah termodifikasi untuk menghitung jumlah minyak yang terekstrak dan ditulis ulang dalam istilah derajat ekstraksi. Model ini mengasumsikan :

- 1) Minyak yang terekstrak terdistribusi merata di dalam partikel berbentuk plat,
- 2) Semua partikel berada pada tahap ekstraksi yang sama,
- 3) Transpor intrapartikel digambarkan oleh proses difusi melewati ketebalan dari partikel,
- 4) Konsentrasi dalam fasa cair diabaikan,
- 5) Tahanan transfer massa diabaikan,
- 6) Massa yang terekstraksi dari *bed* sama dengan yang terekstraksi dari partikel (neraca massa fasa cair diabaikan).

Persamaan model SSP ditulis dengan istilah derajat ekstraksi dapat dilihat pada persamaan berikut :

$$E(t) = E_{\infty} \left[1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2} e^{(-D_m(2n+1)^2 \pi^2 t)/\delta^2} \right] \quad (4.2)$$

$E(t)$ dan E_{∞} adalah derajat ekstraksi setelah waktu t dan *infinite*, D_m adalah difusivitas matriks, δ adalah ketebalan dari plat dan n adalah bilangan bulat. Pada model ini, D_m merupakan parameter yang ditentukan (*adjustable parameter*).

4.12.2. Single Plate Model (SP Model)

SP model merupakan model yang diturunkan dari persamaan yang ditawarkan oleh Wong [47]. Model ini dikembangkan dengan asumsi yang sama dengan model SSP kecuali pada tahanan eksternal. Berikut ini adalah persamaan modelnya :

$$E(t) = E_{\infty} \left\{ 4 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\sin^2 \beta_n}{2\beta_n^2 + \beta_n \sin 2\beta_n} \times \left[1 - e^{-\left(\frac{2\beta_n}{\delta}\right)^2 D_m t} \right] \right\} \quad (4.3)$$

$$\beta_n \tan \beta_n = \frac{k_f \delta}{2D_m} \quad (4.4)$$

Dimana k_f adalah koefisien film dan β_n adalah akar positif dari persamaan implisit. Pada model ini, D_m merupakan parameter yang ditentukan (*adjustable parameter*).

BAB 5

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Berat ekstrak maksimum yaitu sebesar **0.3459 gram** didapat pada kondisi operasi 12 Bar dan 75 menit. Sedangkan untuk aktivitas antioksidan yang maksimum didapat pada kondisi operasi 12 Bar dan 30 Menit yaitu sebesar **75,89 %**.
2. Aktivitas antioksidan semakin besar seiring dengan bertambahnya tekanan ekstraksi. Besarnya tekanan ekstraksi akan membuat koefisien transfer massa pada proses ekstraksi semakin besar. Selain itu, tekanan ekstraksi yang besar menyebabkan pelarut dapat masuk dan menghancurkan dinding sel dari sampel. Sehingga akan semakin banyak zat yang terlarut.
3. Aktivitas antiosidan semakin besar pada titik tertentu seiring dengan bertambahnya waktu ekstraksi. Namun, pada titik tertentu, bertambahnya waktu ekstraksi akan mengakibatkan nilai aktivitas antioksidan dari ekstrak akan semakin kecil. Hal ini disebabkan oleh adanya faktor degradasi senyawa aktif akibat kenaikan suhu sistem ekstraksi seiring dengan bertambahnya waktu ekstraksi.
4. Ekstrak yang dihasilkan dengan metode ekstraksi bertekanan tinggi memiliki tingkat aktivitas antioksidan yang lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak yang didapatkan pada metode maserasi. Metode ekstraksi tekanan tinggi memiliki aktivitas antioksidan maksimum sebesar **75,89 %** sedangkan ekstrak hasil maserasi hanya memiliki nilai aktivitas antioksidan sebesar **31,25 %**.
5. Tingkat kepolaran pelarut juga memiliki efek terhadap aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Semakin polar suatu pelarut maka aktivitas antioksidannya semakin kecil. Ekstrak air demin hanya menghasilkan aktivitas antioksidan sebesar **40,18%**.

6. Penambahan ekstrak bandotan, pada sistem emulsi uji carotene bleaching, akan memperlambat laju degradasi dari karoten yang terkandung dalam sistem emulsi uji tersebut.
7. Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan kondisi operasi yang digunakan pada proses ekstraksi (tekanan ekstraksi, waktu ekstraksi dan pelarut yang digunakan).
8. Aktivitas antioksidan juga dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan.



DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. *Indonesia Negara II Memiliki Kenekaragaman Hayati*. ANTARA News. <http://www.antara.co.id/arc/2008/12/10/indonesia-negara-ii-miliki-keanekaragaman-hayati/> (diakses tanggal 17 Maret 2009)
2. Anonim. *Pemanfaatan Tanaman Belum Maksimal*. <http://bisniskeuangan.kompas.com/read/xml/2008/12/01/1611215/pemanfaatan.tanaman.obat.belum.maksimal> (diakses tanggal 17 Maret 2009)
3. Dalimartha, Setiawan. *Sejuta Manfaat Daun Bandotan*. <http://rihael.wordpress.com/2009/01/12/sejuta-manfaat-daun-bandotan/> (diakses tanggal 16 Juni 2010)
4. Anonim. Bandotan. <http://id.wikipedia.org/wiki/Bandotan> (diakses tanggal 16 Juni 2010)
5. Ming, Lin Chau .(1999). *Ageratum conyzoides A Tropical Source of Medicinal and Agricultural Products*. Alexandria : ASHS Press.
6. Sofia, Dina. *Antioksidan dan Radikal Bebas*. <http://www.chem-is-try.org/?sect=artikel&ext=81> (diakses tanggal 17 Maret 2009)
7. Anonim. *Butylated Hydroxytoluene*. http://en.wikipedia.org/wiki/Butylated_hydroxytoluene#Controversy (diakses pada tanggal 17 Maret 2009)
8. Utami, Tania Surya, et.al. (2007). *Comparison of Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Dillenia indica Leaves Extracts Obtained Using Various Techniques*. University of Indonesia.
9. Mendiola, et.al. *Antioxidants in Plant Foods and Micro Algae Extracted Using Compressed Fluid*. Journal of Food Chemistry. 2008.
10. Napitupulu, Damaris. (2009, November 12). SFC Teknik Kimia UI 12 NOP. 2009 Rev. November 12, 2009. analisis@prima.net.id
11. G., Scott. (1998). *Antioxidant*. Japan:Bull. Chem. Soc.
12. Daeli, Jurhasratman. *Makalah Seminar Literatur JHD (2)*. <http://julhasratman.blogspot.com/2007/09/makalah-seminar-literatur-jhd-2.html>. (diakses pada tanggal 17 Maret 2009).

13. Winarsi, Hery. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*.
14. Ardiansyah. *Antioksidan dan Peranannya bagi Kesehatan*. <http://www.beritaiptek.com/zberita-beritaiptek-2007-01-23-Antioksidan-dan-Peranannya-Bagi-Kesehatan.shtml>. (diakses pada tanggal 17 Maret 2009).
15. Anonim. *BANDOTAN (Ageratum conyzoides)*. http://www.aagos.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/lipi_pdi/bandotan.htm. (diakses pada tanggal 17 Maret 2009)
16. Anonim. *Bandotan*. <http://obat-alam.blogspot.com/2008/04/bandotan.html>. (diakses pada tanggal 20 Maret 2009)
17. Anonim. Billy Goat. <http://birds.intanzania.com/billy-goat-weedy-gardener>. (diakses pada tanggal 23 Juni 2010)
18. Anonim. *Learntanii*. http://learntanii.blogspot.com/2009_01_01_archive.html. (diakses pada tanggal 23 Juni 2010)
19. Bertucco, A and G. Vetter. (2001). *High Pressure Process Technology*. Elsevier.
20. Anonim. *Ethanol*. <http://en.wikipedia.org/wiki/Ethanol>. (Diakses pada tanggal 19 Maret 2009)
21. Jose. L. Martinez. (2008). *Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds*. Taylor and Francis Groups.
22. Romdhoni. *Larutan*. romdhoni.staff.gunadarma.ac.id.
23. Al Saikhan, et. al. *Antioxidant Activity and Phenolic Content in Different Genotypes of Potato (Solanum tuberosum, L)*. Journal of Food Science. 1995. 60:341-343/
24. Shon, Mi-Yae. (2002). *Antioxidants and Free Radical Scavenging Activity of Phellinus baumii (Phellinus of Hymenochaetaceae) Extracts*. Food Chemistry Journal. Elsevier.

25. Utami, Tania Surya, et.al. (2007). *Comparison of Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Dillenia indica Leaves Extracts Obtained Using Various Techniques*. University of Indonesia.
26. Evens, Martha. *Beta-carotene*.
http://www.chm.bris.ac.uk/motm/carotene/beta-carotene_home.html.
(Diakses pada tanggal 25 Maret 2009)
27. Fikselkova, Martina. (2008). Extraction of Carrot (*Daucus carota* L.) Carotenes under Different Conditions. *Journal of Food Science*.
28. Meireles, Angela. (2008). *Extracting Bioactive Compound for Food Products*. Taylor & Francis Group. New York.
29. Holliday, Darryl Lourey. *Phenolic Compound and Antioxidant Activity of Oat Bran by Various Extraction Methods*. Thesis. Nicole State University. 2006.
30. Flores, et al. *Supercritical Fluid Extraction of Antioxidant Fraction from Raspberry Seeds and Waste Pulps*. *Journal of Supercritical Fluid*. 2007
31. Noguchi Kato. (2001). *Assesment of The Allelopathic Potential of Ageratum conyzoides*. Kagawa University. Japan.
32. Oladejo, et.al. (2003). Enhancement of Cutaneous Wound Healing By Methanolic Extracts of *Ageratum conyzoides* in The Wistar Rat. *Journal of Biomedical Research*. University of Ibadan.
33. Kamboj, Anjoo an Ajay Kumar. (2008). *Ageratum conyzoides* L.: A review on its phytochemical and pharmacological profile. India.
34. Nyemb, et.al. (2009). Antioxidant potential of aqueous leaf extract of *Ageratum conyzoides* Linn. In diabetic rats. *Journal of Pharmacognosy and Ohytotherapy*. Cameroun.
35. Calle, Jairo et.al. (1990). *Insecticidal Activity of The Petroleum Ether Extract of Ageratum conyzoides* L. *Revista Colombiana de Quimica*. Colombia.
36. Prof. Hoff. *Chlorophyll Removing Methods*.
<http://www.newton.dep.anl.gov/askasci/gen01/gen01570.htm>. Department of Energy, USA. (diakses tanggal 15 Maret 2010)

37. Evens, Martha. Colourings. http://www.chm.bris.ac.uk/motm/carotene/beta-carotene_colourings.html. School of Chemistry. University of Bristol. (diakses pada tanggal 15 Juni 2010)
38. Prasad, et.al. (2009). *Effects of High Pressure Extraction on The Extraction Yield, Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Longan Fruit Pericarp*. Journal of Food Science and Emerging Technologies. Elsevier.
39. Kasetsart. (2004). *Effect of Sample Preparation methods and Extraction Time on Yield and Antioxidant Activity from Kratonbok (Careya sphaerica Roxb.) Leaves*. Journal of Natural Science.
40. Othman, Azizah et. al. *Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans*. Journal of Food Chemistry. 2007.
41. Takahashi, Atsushi, et. Al. (1999). Kinetic Model for Autooxidation of Beta Carotene in Organic Solutions. JAOCS.
42. Reza, Achmad. (2009). Pemanfaatan Gelombang Mikro dalam Proses Ekstraksi Daun Simpup (Dillenia indica) untuk Memperoleh Senyawa Antioksidan. Skripsi. Universitas Indonesia.
43. Burton, Graham. (1989). *Antioxidant Action of Carotenoids*. Journal of Chemistry. Canada.
44. Montengolo, Gonzalez. (2010). *The Effect of Extraction Temperature, Time, and Number of Steps on The Antioxidant Capacity of Methanolic Banana Peel Extracts*. Journal of Separation and Purification Technology. Elsevier.
45. Spigno, Giorgia. (2006). *Effects of Extraction Time, Temperature, and Solvent on Concentration and Antioxidant Activity of Grape Marc Phenolics*. Journal of Food Engineering. Elsevier.
46. Bartle et.al. (1991). *A model for Dynamic Extraction Using a Supercritical Fluid*. Journal of SupFlu. Proc. Int. Symp. USA.
47. H.Y. Wong. (1977). *Heat Transfer for Engineers*. Longman Group Limited. London.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Berat Ekstrak yang dihasilkan dari proses ekstraksi

Variasi Tekanan Ekstraksi

Sampel ($t_{\text{eks}} = 30$ menit)	Berat Ekstrak (gram)
2 Bar	0.100867
4 Bar	0.139
6 Bar	0.1455
8 Bar	0.1521
10 Bar	0.1756
12 Bar	0.33575

Variasi Waktu Ekstraksi

Sampel (Peks = 12 Bar)	Berat Ekstrak (gram)
5 Menit	0.3043
15 Menit	0.3119
30 Menit	0.3365
45 Menit	0.3399
60 Menit	0.3452
75 Menit	0.3459

Lampiran 2. Data Pengukuran Absorbansi Tiap Sampel

Variasi Tekanan Ekstraksi ($t_{eks} = 30$ menit)

Sampel	Absorbansi								
	0	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	0.948	0.898	0.902	0.895	0.896	0.898	0.895	0.895	0.893
	0.947	0.9	0.902	0.9	0.896	0.897	0.895	0.894	0.89
BHT	0.9	0.902	0.895	0.893	0.891	0.891	0.887	0.889	0.889
	0.9	0.903	0.896	0.89	0.889	0.891	0.887	0.888	0.89
2 Bar	0.893	0.882	0.877	0.875	0.874	0.872	0.87	0.869	0.868
	0.893	0.882	0.877	0.874	0.873	0.872	0.87	0.868	0.868
4 Bar	0.848	0.835	0.834	0.832	0.832	0.832	0.832	0.832	0.831
	0.849	0.834	0.834	0.832	0.832	0.831	0.831	0.831	0.831
6 bar	1.894	1.89	1.884	1.882	1.879	1.879	1.878	1.878	1.878
	1.895	1.89	1.882	1.88	1.878	1.878	1.877	1.876	1.876
8 Bar	0.979	0.975	0.975	0.97	0.968	0.968	0.966	0.965	0.964
	0.98	0.973	0.973	0.968	0.966	0.965	0.964	0.963	0.963
10 Bar	1.051	1.045	1.043	1.041	1.039	1.039	1.038	1.037	1.037
	1.052	1.046	1.043	1.04	1.038	1.038	1.038	1.038	1.038
12 Bar	0.828	0.823	0.82	0.817	0.816	0.815	0.815	0.815	0.814
	0.827	0.821	0.819	0.817	0.815	0.815	0.815	0.814	0.814

Variasi Waktu Ekstraksi ($P_{eks} = 12$ Bar)

Sampel	Absorbansi								
	0	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	0.948	0.898	0.902	0.895	0.896	0.898	0.895	0.895	0.893
	0.947	0.9	0.902	0.9	0.896	0.897	0.895	0.894	0.89
BHT	0.9	0.902	0.895	0.893	0.891	0.891	0.887	0.889	0.889
	0.9	0.903	0.896	0.89	0.889	0.891	0.887	0.888	0.89
5 Menit	0.833	0.819	0.812	0.807	0.806	0.805	0.803	0.803	0.802
	0.832	0.818	0.818	0.811	0.798	0.796	0.796	0.796	0.795
15 Menit	0.782	0.777	0.775	0.765	0.76	0.755	0.753	0.752	0.752
	0.783	0.779	0.778	0.759	0.76	0.757	0.752	0.75	0.75
30 Menit	0.828	0.823	0.82	0.817	0.816	0.815	0.815	0.815	0.814
	0.827	0.821	0.819	0.817	0.815	0.815	0.815	0.814	0.814
45 Menit	0.927	0.918	0.916	0.91	0.914	0.912	0.909	0.906	0.905
	0.928	0.919	0.915	0.912	0.913	0.91	0.907	0.906	0.906
60 Menit	1.002	0.989	0.989	0.985	0.982	0.98	0.98	0.98	0.979
	1.001	0.988	0.982	0.982	0.98	0.98	0.979	0.978	0.978
75 Menit	0.831	0.826	0.823	0.816	0.813	0.811	0.81	0.81	0.809
	0.826	0.82	0.815	0.81	0.808	0.805	0.8	0.795	0.794

Lampiran 3. Data Absorbansi Rata-rata Tiap Sampel

Variasi Tekanan Ekstraksi ($t_{eks} = 30$ menit)

Sampel	Absorbansi Rata-Rata								
	0	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	0.948	0.899	0.902	0.898	0.896	0.898	0.895	0.895	0.892
BHT	0.900	0.903	0.896	0.892	0.890	0.891	0.887	0.889	0.890
2 Bar	0.893	0.882	0.877	0.875	0.874	0.872	0.870	0.869	0.868
4 Bar	0.849	0.835	0.834	0.832	0.832	0.832	0.832	0.832	0.831
6 Bar	1.895	1.890	1.883	1.881	1.879	1.879	1.878	1.877	1.877
8 Bar	0.980	0.974	0.974	0.969	0.967	0.967	0.965	0.964	0.964
10 Bar	1.052	1.046	1.043	1.041	1.039	1.039	1.038	1.038	1.038
12 Bar	0.828	0.822	0.820	0.817	0.816	0.815	0.815	0.815	0.814

Variasi Waktu Ekstraksi ($P_{eks} = 12$ Bar)

Sampel	Absorbansi Rata-Rata								
	0	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	0.948	0.899	0.902	0.898	0.896	0.898	0.895	0.895	0.892
BHT	0.900	0.903	0.896	0.892	0.890	0.891	0.887	0.889	0.890
5 Menit	0.833	0.819	0.815	0.809	0.802	0.801	0.800	0.800	0.799
15 Menit	0.783	0.778	0.777	0.762	0.760	0.756	0.753	0.751	0.751
30 Menit	0.828	0.822	0.820	0.817	0.816	0.815	0.815	0.815	0.814
45 Menit	0.928	0.919	0.916	0.911	0.914	0.911	0.908	0.906	0.906
60 Menit	1.002	0.989	0.986	0.984	0.981	0.980	0.980	0.979	0.979
75 Menit	0.829	0.823	0.819	0.813	0.811	0.808	0.805	0.803	0.802

Lampiran 4. Data Laju Degradasi

Variasi Tekanan Ekstraksi ($t_{eks} = 30$ menit)

Sampel	Laju Degradasi							
	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	0.00387	0.00181	0.00133	0.00103	0.00080	0.00070	0.00061	0.00056
BHT	-0.00019	0.00017	0.00019	0.00019	0.00014	0.00017	0.00013	0.00011
2 Bar	0.00086	0.00063	0.00048	0.00038	0.00033	0.00030	0.00028	0.00025
4 Bar	0.00109	0.00057	0.00043	0.00032	0.00027	0.00022	0.00019	0.00017
6 Bar	0.00035	0.00045	0.00035	0.00031	0.00025	0.00022	0.00020	0.00017
8 Bar	0.00043	0.00021	0.00027	0.00024	0.00020	0.00019	0.00017	0.00016
10 Bar	0.00047	0.00033	0.00029	0.00025	0.00020	0.00018	0.00016	0.00014
12 Bar	0.00043	0.00031	0.00027	0.00023	0.00020	0.00016	0.00014	0.00013

Variasi Waktu Ekstraksi ($P_{eks} = 12$ Bar)

Sampel	Laju Degradasi							
	15	30	45	60	75	90	105	120
Blank	0.003868	0.001811	0.00133	0.001029	0.000798	0.0007	0.000606	0.000561
BHT	-0.00019	0.000175	0.000195	0.000195	0.00014	0.000169	0.000128	0.000107
5 menit	0.001094	0.000685	0.000615	0.000602	0.000505	0.000435	0.000372	0.000336
15 menit	0.00035	0.000233	0.000536	0.000442	0.000417	0.000394	0.000355	0.000311
30 menit	0.000428	0.000311	0.000273	0.000234	0.000195	0.000163	0.000145	0.000132
45 menit	0.000701	0.000468	0.00043	0.000273	0.000258	0.000255	0.000241	0.000216
60 menit	0.001015	0.000626	0.00047	0.000402	0.000337	0.000288	0.000252	0.000226
75 menit	0.000428	0.00037	0.000404	0.000352	0.000322	0.000308	0.000292	0.000266

Lampiran 5. Nilai Aktivitas Antioksidan

Variasi Tekanan Ekstraksi ($t_{eks} = 30$ menit)

Sampel	AA (%)
BHT	81.25
2 Bar	55.35714
4 Bar	68.75
6 Bar	68.75
8 Bar	71.42857
10 Bar	75
12 Bar	75.89286

Variasi Waktu Ekstraksi ($P_{eks} = 12$ Bar)

Sampel	AA (%)
BHT	81.25
5 Menit	39.28571
15 Menit	43.75
30 Menit	75.89286
45 Menit	60.71429
60 Menit	58.92857
75 Menit	51.78571