

EKSTRAKSI SENYAWA FENOL DAUN KENIKIR (*COSMOS CAUDATUS*) DENGAN *PULSE ELECTRIC FIELD* (PEF)

Extraction of Phenolic Compounds from Cosmos caudatus Using Pulse Electric Field (PEF)

Ni'matul Izza*, Shinta Rosalia Dewi, Angky Wahyu Putranto, Dian R. Yuneri,
Maria Yeniaska S. Dachi

Jurusan Keteknikan Pertanian - Fakultas Teknologi Pertanian - Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi: email: izza.nimatul@gmail.com

ABSTRAK

Kenikir (*Cosmos caudatus*) merupakan tumbuhan yang banyak terdapat di Indonesia. Selama ini kenikir hanya dimanfaatkan sebagai sayuran atau lalapan, padahal daun kenikir mempunyai kandungan kimia yang mempunyai sifat antioksidan, antibakteri, dan dapat digunakan sebagai obat. Senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa dalam daun kenikir yang mempunyai sifat antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang berpotensi untuk melawan oksidan berbahaya yang dapat merusak sel tubuh. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi senyawa fenolik daun kenikir dengan *Pulse Electric Field* (PEF). Proses ekstraksi dilakukan dengan variasi rasio bahan: pelarut yaitu 1:4, 1:6, dan 1:8, sedangkan waktu pemaparan PEF yang digunakan adalah 3, 6, 9, 12 detik. Hasil penelitian menunjukkan total fenol dan aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada ekstraksi dengan rasio bahan: pelarut 1:8 selama 6 detik yaitu 5.87 mg GAE/g fw dan 70.74%

Kata kunci : *Cosmos caudatus*, Daun Kenikir, Fenol, *Pulse Electric Field*

ABSTRACT

Kenikir (Cosmos caudatus) leaves is widely found in Indonesia. Mostly, kenikir leaves used as a fresh vegetables or side dish, whereas it contain antioxidant properties, antibacterial, and used as medicine. Phenolic compounds found in the kenikir leaves as antioxidants. Antioxidants function as against the harmful oxidants which can damage cells. In this research, the extraction of phenolic compounds from kenikir leaves is assisted by Pulse Electric Field (PEF). The extraction process was done by varying the ratio of material: solvent is 1:4, 1:6 and 1:8, while the exposure time using PEF are 3, 6, 9, 12 s. The results showed that the highest phenolic compounds and antioxidant activity is reached in the extraction with material: solvent ratio 1: 8 and exposure time 6 s, namely 5.87 mg GAE / g fw and 70.74%

Keywords: Cosmos caudatus, Kenikir Leaves, Phenolic, Pulse Electric Field

PENDAHULUAN

Daun kenikir merupakan salah satu tumbuhan yang banyak terdapat di Indonesia dan dimanfaatkan untuk sayur atau lalapan. Semua bagian kenikir digunakan untuk beberapa tujuan seperti bahan tambahan pangan, obat, dan parfum (Abas *et al.*, 2006;

Hutagalung *et al.*, 2013; Bunawan *et al.*, 2014; Cheng *et al.*, 2015). Daun kenikir juga digunakan sebagai obat beberapa penyakit seperti pengobatan penurunan densitas mineral tulang (Mohamed *et al.*, 2012) dan penurunan tekanan darah (Amalia *et al.*, 2012). Daun kenikir dipercaya dapat mencegah atau mengobati penyakit kanker karena mengandung

senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang berpotensi untuk melawan oksidan berbahaya yang dapat merusak sel tubuh. Antioksidan dapat menghambat inisiasi atau propagasi oksidasi. Oleh karena pentingnya manfaat polifenol, banyak peneliti yang melakukan ekstraksi polifenol dari berbagai jenis tumbuhan (Scalbert *et al.*, 2005; Pandey dan Risvi, 2009; Putra *et al.*, 2010; Suryanto *et al.*, 2011).

Ekstraksi fenolik dari tanaman dapat dilakukan dengan beberapa metode, seperti maserasi, perkolasi, digesti, refluks, sokletasi, maupun distilasi uap yang dapat dimodifikasi dengan pemanasan *microwave*, penggunaan ultrasonik, atau pemberian tegangan *Pulse Electric Field* (PEF). Salah satu metode yang mudah untuk dilakukan dan cukup efektif adalah metode ekstraksi secara maserasi, yaitu merendam serbuk tanaman dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel tanaman dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif, sehingga zat aktif akan larut dan akan ditarik keluar bersama dengan pelarut. Akan tetapi, maserasi mempunyai kelemahan yaitu waktu ekstraksi yang lama dan membutuhkan banyak pelarut. Ekstraksi dengan metode maserasi dapat dimodifikasi dengan menggunakan tegangan listrik *Pulse Electric Field* (PEF), sehingga dapat memperpendek waktu ekstraksi dan menurunkan kebutuhan pelarut. Proses ekstraksi menggunakan PEF dilakukan agar senyawa dapat dengan mudah berdifusi ke dalam pelarut. PEF didasarkan pada transformasi sel atau pecahnya sel dimana tegangan dikenakan pada bahan sehingga menaikkan konduktivitas elektrik dan permeabilitas membran sel (Pavlin *et al.*, 2005; Gonzales *et al.*, 2010; Haberl *et al.*, 2013; Zderic *et al.*, 2013; Silve *et al.*, 2016). Aplikasi tegangan dalam waktu yang sangat pendek (beberapa ratus mikrodetik) memungkinkan induksi permeabilitas membran sel (Frey *et al.*, 2006; Asavasanti *et al.*, 2011). Tidak ada gaya yang dibutuhkan untuk membuka bahan selular, sehingga waktu ekstraksi dapat dikurangi, hasil ekstraksi dapat ditingkatkan dan senyawa-senyawa berharga yang penting dapat dengan mudah diperoleh (Puertolas *et al.*, 2012; Siemer *et al.*, 2012; Hejazian *et al.*, 2016). Pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi senyawa fenolik daun kenikir dengan PEF dengan rasio bahan:pelarut dan waktu ekstraksi yang bervariasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian adalah daun kenikir segar, akuades, kain saring, kertas saring Whatman 40, kertas saring, serta bahan kimia dengan kualitas p.a. seperti asam galat, Na_2CO_3 , *Folin Ciocalteau*, metanol, 2,2-difenil-1- pikrilhidrazil (DPPH).

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *microwave*, *Pulse Electric Field*, blender, *rotary evaporator*, Spektorfotometer *UV-Visible* (Genesys 20), timbangan digital, penyaring vakum, corong Buchner, dan peralatan gelas seperti tabung reaksi, pipet ukur, labu takar, gelas beker, gelas ukur, serta corong.

Metode

Ekstraksi Senyawa Fenol dengan PEF

Daun kenikir dan pelarut (air) dengan rasio masing-masing 1:4, 1:6, dan 1:8 (b/v) dihancurkan dengan blender selama 2 menit sampai homogen. Proses ekstraksi dilakukan dengan memasukkan campuran kenikir-air ke dalam *treatment chamber* pada rangkaian alat PEF. Frekuensi PEF diatur sebesar 3 kHz dengan cara mengatur tombol frekuensi. Tegangan keluaran yang digunakan seragam yaitu 3.5 kV. Percobaan dilakukan dengan waktu perlakuan yang berbeda-beda (3, 6, 9, dan 12 detik). Suspensi hasil ekstraksi dengan PEF kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman 40 dengan bantuan *filter vacuum*. Kemudian dilakukan pengurangan kadar air (pengeringan) terhadap filtrat menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50 °C. Hasil ekstrak yang telah dikeringkan ditempatkan dalam botol berwarna gelap untuk mencegah terjadinya degradasi senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak akibat paparan sinar dari luar sebelum dilakukan analisis.

Uji Kandungan Total Senyawa Fenol dan Aktivitas Antioksidan

Penentuan kandungan total fenol dilakukan dengan metode *Folin-Ciocalteu* dengan asam galat sebagai standar (Liu *et al.*, 2013), sedangkan penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) seperti yang dilakukan

oleh Ivanovic *et al.* (2014). Larutan blanko dibuat dengan melarutkan 0.2 ml larutan DPPH 0.1 mM dan 2 ml metanol dalam tabung reaksi, kemudian divortex sampai homogen. Campuran kemudian diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Kapasitas antioksidan diukur dengan menambahkan 7 ml metanol dan 2 ml DPPH ke dalam 1 ml ekstrak fenolik berbagai konsentrasi (10000; 7500; 5000, dan 2500 ppm). Campuran selanjutnya di vortex dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi sampel diukur dengan dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm. Kapasitas absorbansi dihitung dengan persamaan:

$$\text{Kapasitas antioksidan} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\% \dots\dots(1)$$

Analisis Data

Data yang didapatkan dalam penelitian ini adalah kandungan total senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak daun kenikir pada masing-masing kombinasi perlakuan. Data tersebut dianalisis secara deskriptif kualitatif berdasarkan *trend* data yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Total Fenol Ekstrak Daun Kenikir

Ekstraksi senyawa fenolik daun kenikir dengan PEF dilakukan pada berbagai variasi waktu yaitu 3, 6, 9, dan 12 detik. Hasil ekstrak yang diperoleh berwarna coklat gelap dan

pekat. Ekstrak yang diperoleh di analisis total fenolnya dengan Spektrofotometer *UV-Visible* pada panjang gelombang 765 nm. Perhitungan total fenol dalam ekstrak menggunakan kurva standar asam galat. Total fenol dalam ekstrak daun kenikir diukur berdasarkan miligram *Gallic Acid Equivalents* (GAE) per gram sampel daun kenikir basah (*fresh weight*).

Berdasarkan Gambar 1, dapat dilihat bahwa total fenol dalam ekstrak daun kenikir yang diekstraksi dengan PEF berkisar antara 1.78 mg GAE/g fw hingga 5.87 mg GAE/g fw daun kenikir. Berdasarkan hasil tersebut diperoleh bahwa total fenol tertinggi diperoleh pada ekstraksi dengan rasio 1:8 (37.5 g daun kenikir:300 ml akuades) selama 6 detik, yaitu sebesar 5.87 mg GAE/g fw daun kenikir. Apabila dibandingkan antar ketiga rasio (1:4, 1:6, dan 1:8) dapat dilihat bahwa ekstraksi dengan rasio 1:8 mempunyai kandungan fenolik yang lebih tinggi. Hal ini dimungkinkan karena pelarut yang digunakan lebih banyak dibandingkan kedua rasio lainnya, sehingga konduktivitas listrik selama proses ekstraksi lebih besar. Akibatnya ekstraksi menjadi lebih efektif dan fenolik yang terambil lebih banyak. Pada ekstraksi dengan rasio bahan:pelarut 1:8 total fenol yang tereskrak naik pada 3 detik ke 6 detik, namun kemudian menurun secara fluktuatif. Hal ini dapat disebabkan karena senyawa fenolik yang telah terekstrak mencapai maksimal pada detik ke-6, sehingga ketika pemberian tegangan listrik dilanjutkan, senyawa fenolik yang telah terekstrak mengalami kerusakan oleh adanya tegangan listrik. Pada ekstraksi dengan rasio 1:4, semakin lama waktu ekstraksi, semakin tinggi total fenol dalam ekstrak.

Perbandingan total fenol ekstrak daun kenikir pada berbagai penelitian dapat dilihat pada Tabel 1. Pada Tabel 1, dapat dilihat bahwa kandungan total fenol dalam daun kenikir

Tabel 1. Total fenol ekstrak daun kenikir pada berbagai penelitian

No	Total fenol	Satuan	Reference
1	1.52	mg GAE/g <i>fresh weight</i>	Andarwulan, <i>et al.</i> (2010)
2	0.2	mg GAE/g <i>dry weight</i>	Ekstraksi dengan maserasi (Sulaiman <i>et al.</i> , 2011)
3	342.06	mg GAE/100 g <i>fresh weight</i>	Andarwulan <i>et al.</i> (2012)
4	138.2	mg GAE/g <i>dry weight</i>	Ekstraksi dengan sonikasi (Mediani <i>et al.</i> , 2013)
5	587.43	mg GAE/100 g <i>fresh weight</i>	Hasil Penelitian dengan PEF
	5.87	mg GAE/g <i>fresh weight</i>	

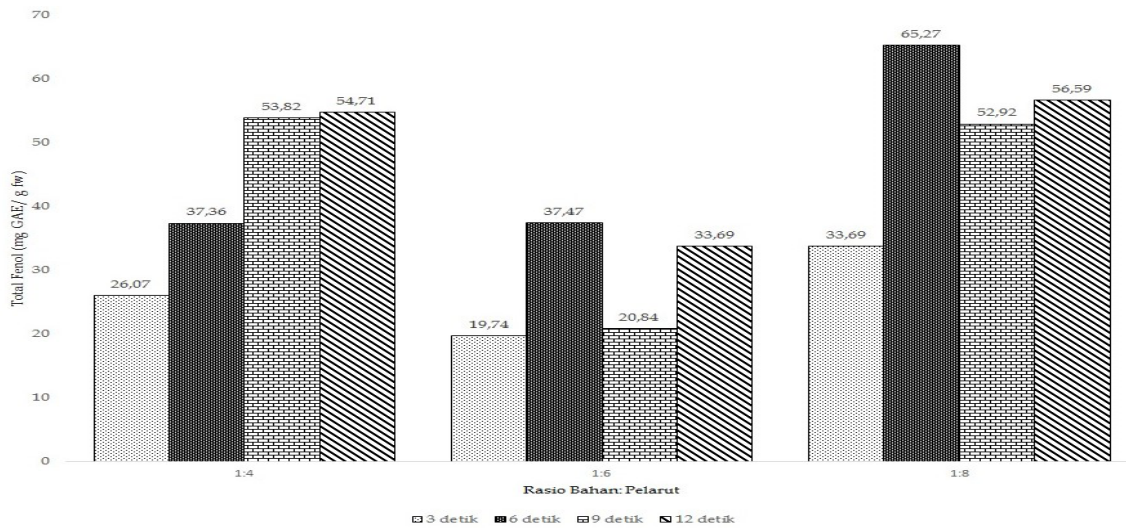
kir (tanpa ekstraksi) adalah 1.52 mg GA/g fw (Andarwulan *et al.*, 2010), sementara itu, setelah ekstraksi akan diperoleh 342.06 mg GAE/100 g fw (Andarwulan *et al.*, 2012). Total fenol tertinggi yang diperoleh dengan ekstraksi PEF yaitu 5.87 mg GAE/g fw (587.43 mg GAE/100 g fw) masih lebih baik dibandingkan dengan hasil penelitian ekstraksi daun kenikir dengan maserasi (Sulaiman *et al.*, 2011), *et al.*, 2013), namun tidak lebih baik jika dibandingkan dengan hasil ekstraksi dengan sonikasi (Mediani, *et al.*, 2013).

Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir

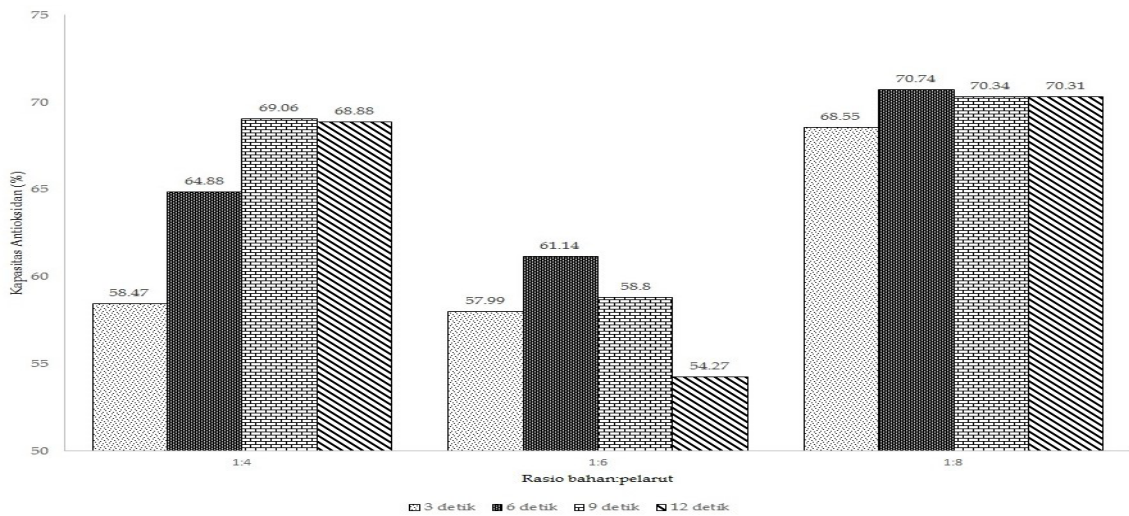
Penentuan kapasitas antioksidan dalam penelitian ini dilakukan dengan me-

tode DPPH. Metode ini dilakukan dengan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh senyawa yang terkandung dalam ekstrak kenikir. Sebagai akibat dari penangkapan radikal tersebut, terjadi reduksi senyawa DPPH yang menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning. Pembacaan absorbansi pada spektrofotometer *UV-Vis* dapat diketahui kemampuan antioksidasi dari ekstrak daun kenikir. Hasil kapasitas antioksidan ekstrak daun kenikir hasil ekstraksi PEF dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada Gambar 2 dapat dilihat bahwa kapasitas antioksidan dalam ekstrak daun



Gambar 1. Total fenol ekstrak kenikir hasil ekstraksi dengan PEF



Gambar 2. Kapasitas antioksidan ekstrak kenikir hasil ekstraksi dengan PEF

kenikir yang diekstrak dengan PEF berkisar antara 54.27% hingga 70.74%. Berdasarkan hasil tersebut diperoleh bahwa kapasitas antioksidan tertinggi diperoleh pada ekstraksi dengan rasio 1:8 selama 6 detik, yaitu sebesar 70.74%. Jika dibandingkan dari ketiga rasio bahan:pelarut yang digunakan, dapat dilihat bahwa rasio bahan:pelarut yang menghasilkan ekstrak dengan kapasitas antioksidan tertinggi adalah rasio 1:8, yaitu rasio dimana proporsi bahan paling kecil. Hal ini disebabkan oleh banyaknya pelarut yang digunakan sehingga bahan (campuran daun kenikir dan air) memiliki konduktivitas listrik yang paling besar. Akibatnya, proses ekstraksi menggunakan PEF menjadi lebih efektif sehingga senyawa antioksidan yang diambil semakin banyak.

Pengaruh waktu pada proses ekstraksi dengan PEF juga dapat dilihat pada Gambar 2. Secara umum dapat dilihat bahwa grafik waktu pada ketiga rasio bahan:pelarut yang digunakan memiliki *trend* yang sama, yaitu naik kemudian turun. Hal ini dapat terjadi karena pada awal ekstraksi, senyawa antioksidan yang terekstrak semakin banyak, namun sampai pada waktu tertentu mencapai maksimal, kemudian mengalami penurunan karena dimungkinkan senyawa antioksidan mengalami kerusakan akibat aliran listrik bertegangan tinggi yang terlalu lama. Seperti dapat dilihat pada rasio bahan 1:6 dan 1:8, kapasitas antioksidan mencapai maksimum pada waktu 6 detik, kemudian mengalami penurunan. Pada rasio bahan 1:4, kapasitas antioksidan mencapai maksimum dengan waktu ekstraksi 9 detik, dan mengalami penurunan saat waktu ekstraksi 12 detik.

SIMPULAN

Pada penelitian ini telah dilakukan ekstraksi senyawa fenolik dari daun kenikir menggunakan PEF. Ekstraksi menggunakan PEF terbukti dapat memperpendek waktu ekstraksi dibandingkan hanya dengan maserasi biasa atau metode ekstraksi yg lain. Ekstrak fenolik daun kenikir juga terbukti dapat mencegah radikal DPPH. Total fenol dan aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada ekstraksi dengan rasio bahan:pelarut 1:8 selama 6 detik yaitu 5.87 mg GAE/g fw dan 70.74%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kementerian Riset dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia atas pemberian dana penelitian di bawah program BOPTN Universitas Brawijaya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abas, F, Lajis, N, H, Israf, D, A, Khozirah, S, Umi, K, Y. 2006. Antioxidant and nitric oxide inhibition activities of selected Malay traditional vegetables. *Food Chem.* 95(4):566-573
- Amalia, L, Anggadireja, K, Sukrasno, Fidriany, I, Inggriani, R. 2012. Antihypertensive potency of wild *Cosmos (Cosmos caudatus Kunth, Asteraceae)* leaf extract. *J. Pharmacol. Toxicol.* 7(8):359-368
- Andarwulan, N, Batari, R, Sandrasari, D, A, Bolling, B, Wijaya, H. 2010. Flavonoid content and antioxidant activity of vegetables from indonesia. *Food Chemistry.* 121:1231-1235
- Andarwulan, N, Kurniasih, D, Apriady, R, A, Rahmat, H, Roto, A, V, Boling B, W. 2012. Polyphenols, carotenoids and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. *Journal of Functional Foods.* 4(1):339-347
- Asavasanti, S, Ristenpart, W, Stroeve, P, Barrett, D, M. 2011. Permeabilization of plant tissues by monopolar pulsed electric fields: effect of frequency. *J. Food Sci.* 76(1):98-111
- Bunawan, H, Baharum, S, N, Bunawan S, N, Amin, N, M, Noor, N, M. 2014. *Cosmos caudatus kunth*: a traditional medicinal herb. *J. Pharmacol.* 8(3):420-426
- Cheng, S, H, Nisak, M, Y, B, Anthony, J, Ismail, A. 2015. Potential medicinal benefits of *Cosmos caudatus* (Ulam Raja): A scoping review. *J. Res. Med Sci.* 20(10):1000-1006
- Frey, W, White, J, A, Price, R, O, Blackmore, P, F, Joshi, R, P, Nuccitelli, R, Beebe, S, J, Schoenbach, K, H, Kolb, J, F. 2006. *Biophys. J.* 90(10):3608-3615
- Gonzales, M, E, Barret, D, M. 2010. Thermal, high pressure, and electric field processing effects on plant cell membrane integrity and relevance to fruit and vegetable quality. *J. Food Sci.* 75(7):121-130

- Haberl, S, Miklavcic, D, Sersa, G, Frey, W, Rubinsky, B. 2013. Cell membrane electroporation-part 2: the applications. *IEEE Electrical Insulation Magazine*. 29(1):29-37
- Hejazian, M, Phan, D, T, Nguyen, N, T. 2016. Mass transport improvement in microscale using diluted ferrofluid and a non-uniform magnetic field. *RSC Advances*. 67
- Hutagalung, D, Marsaulina, I, Naria, E. 2013. Pengaruh ekstrak daun kenikir (*Tagetes erecta* L.) sebagai repellent terhadap nyamuk *Aedes* spp. *Jurnal Kesehatan Lingkungan dan Keselamatan Kerja*. 2(2)
- Liu, Y, Wei, S, Liao, M. 2013. Optimization of ultrasonic extraction of phenolic compounds from euryale ferox seed shells using response surface methodology. *Industrial Crops and Products*. 49:837-843
- Mediani, A, Abas, F, Khiatib, A, Tan, C, P. 2013. *Cosmos Caudatus* as a potential source of polyphenolic compounds: optimisation of oven drying conditions and characterisation of its functional properties. *Molecules*. 18:10452-10464
- Mohamed, N, Khee, S, G, S, Shuid, A, N, Muhammad, N, Suhaimi, F, Othman, F, Babji, A, S, Soelaiman, I, N. 2012. The effects of *cosmos caudatus* on structural bone histomorphometry in ovariectomized rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012:1-6
- Pandey, K, B, Rizvi, S, I. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid. Med. Cell Longev*. 2(5):270-278
- Pavlin, M, Kanduser, M, Rebersek, M, Pucihar, G, Hart, F, X, Magjarevic, R, Miklavcic. 2005. Effect of Cell Electroporation on the Conductivity of a Cell Suspension. *Biophys. J*. 88(6):4378-4390
- Puertolas, E, Luengo, E, Alvarez, I, Raso, J. 2012. Improving mass transfer to soften tissues by pulsed electric fields: fundamentals and applications. *Ann. Rev. Food Sci. Tech*. 3:1-510
- Putra, G, P, G, Wartini, N, M, Anggreni, A, A, M, D. 2010. Karakterisasi enzim polifenol oksidase biji kakao (*Theobroma cacao* Linn.). *Agritech*. 30(3)
- Scalbert A, Johnson, I, T, Saltmarsh, M. 2005. Polyphenols: antioxidants and beyond. *Am. J. Clin. Nutr*. 81(2):2155-2175
- Siemer, C, Toepfl, S, Heinz, V. 2012. Mass transport improvement by PEF applications in the area of extraction and distillation, distillation-advances from modeling to applications. Dilihat 20 Maret 2016. <<http://www.intechopen.com/books/distillation-advances-from-modeling-to-applications/mass-transport-improvement-by-pef-applications-in-the-area-of-extraction-and-distillation->>
- Silve, A, Leray, I, Poignard, C, Mir, L, M. 2016. Impact of external medium conductivity on cell membrane electroporation by microsecond and nanosecond electric pulses. *Nature Scientific Reports*. 6:19957
- Sulaiman, S, F, Sajak, A, A, B, Ooi, K, L, Supriatno, Seow, M, E. 2011. Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables. *J. Food Composition and Analysis*. 24:506-515
- Suryanto, E, Momuat, L, I, Taroreh, M, Wehantouw, F. 2011. Potensi senyawa polifenol antioksidan dari pisang goroho (*Musa sapient sp.*). *Agritech*. 31(4):289-290
- Zderic, A, Zondervan, E, Meuldijk, J. 2013. Breakage of cellular tissue by pulsed electric field: extraction of polyphenols from fresh tea leaves. *Chemical Engineering Transactions*. 32:1795-1800