

Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Golongan Kapsaisinoid Dengan Metode Ekstraksi Fluida Superkritik Dan Metode Konvensional Dari Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L)

*Isolation and Characterization of Capsaicinoid Compounds with Supercritical Fluid Extraction and Conventional Methods From Fruit Cayenne (*Capsicum frutescens* L)*

Muchammad Reza Ghozaly^{1*}, Elfahmi²

¹Program Studi Farmasi, Universitas Esa Unggul, Jakarta, Indonesia

²Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia

*E-mail: reza.ghozaly@esaunggul.ac.id

ABSTRAK

Buah cabai rawit (*Capsicum frutescens*) mengandung berbagai macam senyawa metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid, dan steroid/terpenoid. Salah satu senyawa golongan alkaloid diantaranya kapsaisin, dihidrokapsaisin, nordihidrokapsaisin, homokapsaisin dan homodihidrokapsaisin. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa golongan kapsaisinoid yang ada di dalam plasenta, kulit, biji dan buah cabai rawit (*Capsicum frutescens*). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi yang dibantu dengan alat ultrasonik dengan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Berdasarkan hasil pengukuran kadar dengan menggunakan *TLC Scanner*, sampel plasenta dalam pelarut etil asetat memiliki kadar senyawa kapsaisin dengan bobot 27,5 mg/gram simplisia. Setelah itu, kristal yang didapat dimurnikan dengan metode pencucian dengan menggunakan pelarut n-heksana. Lalu dilakukan uji kemurnian rentang titik leleh dan KLT dua dimensi. Setelah itu kristal (isolat 1) dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer ¹H-NMR dan ¹³C-NMR. Ekstraksi juga menggunakan alat ekstraksi fluida superkritik (EFS) dengan berbagai variasi suhu dan tekanan. Suhu yang digunakan adalah 40, 60 dan 80⁰C dan tekanan yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah 100, 175 dan 250 bar. Berdasarkan hasil pengukuran kadar dengan menggunakan *TLC Scanner*, sampel hasil EFS pada suhu 40⁰C dan tekanan 175 bar memiliki kadar kapsaisin tertinggi mencapai 32,52 mg.

Kata kunci: *Capsicum frutescens*, kapsaisin, cabai rawit, ekstraksi fluida superkritik

ABSTRACT

Fruit cayenne (*Capsicum frutescens* L) contains a wide variety of secondary metabolites such as alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid group, Alkaloid group is a main component of its plants such as capsaicin, dihydrocapsaicin, nordihydrokapsaicin, homocapsaicin and homodihydrocapsaicin. This study aim to isolate capsaicinoid compounds from placenta, skin, seeds and the fruits of (*Capsicum frutescens* L). Extraction was done by maceration method aided by ultrasonic using n-hexane, ethyl acetate and methanol as solvents. Based on the results of measurements of the levels using TLC Scanner, the crystals obtained from the placenta extract recrystallization in ethyl acetate with a weight of 27,5 mg /grams of crude drug. Therefore, the crystal obtained is purified by washing method using n-hexane. Then the purity is tested by the melting point range and two-dimensional TLC. After the crystal (isolate 1) is characterized by using a spectrophotometer 1H-NMR and 13C-NMR. Extraction was also done using a supercritical fluid extraction (SFE) with a variety of temperatures and pressures. Temperatures used were 40, 60 and 80⁰C. While the pressure used in the extraction process was 100, 175 and 250 bar. Based on the results of measurements of the levels using TLC Scanner, the SFE result had higher levels which is 32,52 mg/grams at 40⁰C and 175 bar.

Keywords: *Capsicum frutescens*, capsaicin, cayenne fruit, Supercritic fluid extraction

PENDAHULUAN

Tanaman cabai adalah salah satu tanaman yang penting dan telah lama digunakan sebagai bahan tambahan dalam makanan, dan obat. Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L) merupakan salah satu dari family terung-terungan (Solanaceae). Tanaman ini termasuk ke dalam golongan tanaman semusin atau tanaman berumur pendek yang tumbuh sebagai perdu/semak, dengan tinggi tanaman dapat mencapai 1,5 m (1). Cabai rawit berasal dari daerah tropis dan subtropics Benua Amerika, khususnya Amerika Selatan. Cabai rawit sampai ke wilayah Asia Tenggara khususnya Indonesia dilakukan oleh pedagang Spanyol dan Portugis.

Berdasarkan penelitian, diperkirakan terdapat 20 spesies cabai yang sebagian besar tumbuh dan berkembang di benua Amerika, tetapi masyarakat Indonesia hanya mengenal beberapa jenis saja, yakni cabai merah besar, cabai keriting, cabai rawit dan paprika (2).

Senyawa kapsaisinoid merupakan senyawa golongan alkaloid yang dominan dalam buah cabai rawit (3). Selain itu, tanaman cabai rawit juga dikenal memiliki beberapa metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid dan karotenoid (4)(5)(6). Ornelas-Paz et al (7) mengatakan bahwa dalam buah cabai rawit mengandung senyawa fenol. Menurut Li et al (8), senyawa golongan kapsaisinoid adalah

alkaloid yang banyak ditemukan dalam buah cabai rawit dengan kandungan utama kapsaisin dan dihidrokapsaisin. Menurut penelitian Sukrasno dkk (9), senyawa golongan kapsaisinoid hanya ditemui pada tanaman marga *Capsicum* dari suku Solanaceae dengan kapsaisin dan dihidrokapsaisin sebagai komponen utamanya dan homokapsaisin, homodihidrokapsaisin dan nordihidrokapsaisin sebagai komponen langka.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Manjunatha dan Srinivasan (10), kapsaisin yang terkandung di dalam buah cabai dapat mengatasi hipolidemia dan sebagai antiinflamasi. Setelah diujikan pada tikus. Sedangkan menurut Darmawan dan Harpenas (2), kapsaisin bisa menumpulkan saraf tepi sehingga berfungsi sebagai antialergi. Kapsaisin dapat mengeluarkan lendir dari paru-paru, dengan demikian cabai rawit dapat membantu menyembuhkan bronchitis, influenza, sinusitis dan asma. Menurut Navarro et al (11), Kapsaisin yang terkandung di dalam buah cabai juga berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa kapsaisinoid juga memiliki efek farmakologis sebagai pereda nyeri,

pencegah kanker dan dapat menurunkan berat badan (12).

Hingga saat ini telah banyak peneliti yang meneliti tentang isolasi senyawa golongan kapsaisinoid khususnya kapsaicin. Namun sejauh ini dalam mengisolasi senyawa golongan kapsaisinoid hingga didapat isolat kapsaisin maupun turunannya pada umumnya menggunakan metode ekstraksi konvensional seperti refluks dan ekstraksi sinambung dengan alat sokhlet. Isolasi senyawa golongan kapsaisinoid dengan metode konvensional mengalami kesulitan karena dalam mengekstraksi senyawa golongan kapsaisinoid biasanya digunakan berbagai macam pelarut dengan kepolaran yang berbeda seperti metanol, etanol, aseton, etil asetat dan air, baik pelarut tunggal maupun kombinasi pelarut (13)(14)(15), sedangkan senyawa golongan kapsaisinoid seperti kapsaisin, dihidrokapsaisin, nordihidrokapsaisin, homokapsaisin memiliki struktur yang mirip, memiliki bobot molekul yang berdekatan dan memiliki kepolaran yang relatif sama (16).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Duarte et al (17), gas CO₂ dalam bentuk fluida superkritik dapat digunakan sebagai pelarut dalam

mengekstraksi senyawa kapsaisinoid dalam tanaman cabai rawit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa oleoresin dan kapsaisinoid memiliki kadar tertinggi ketika diekstraksi dengan tekanan antara 200-220 bar dan dengan kecepatan alir $0,06-0,07 \text{ cm s}^{-1}$. Sedangkan menurut Silva et al (18), hasil ekstrak berbanding lurus dengan waktu proses ekstraksi. Pada penelitian ekstraksi cabai yang dilakukan dengan menggunakan gas CO_2 , ekstraksi dilakukan dengan rentang waktu antara 0 menit hingga 300 menit pada tekanan 150 bar dan suhu 40°C . Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Perva-Uzunalic et al (19), senyawa kapsaisinoid dapat diekstraksi pada tekanan dari mulai 100 hingga 400 bar dan pada suhu 40°C , 60°C dan 80°C . Namun penelitian hingga pada tahap isolasi senyawa kapsaisin masih sangat jarang.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah cabai rawit (*Capsicum frutescens*) yang terdiri dari plasenta, biji dan kulit, etanol 96%, n-heksana, etil asetat, kloroform, metanol, asam klorida, asam sulfat, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi

Liebermann-Bouchard, CO_2 cair, air suling, plat silika gel 60 F₂₅₄ (Merck®), silika gel 60 (Merck®), silika gel GF₂₅₄ (Merck®).

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penggiling simplisia, lemari pengering simplisia, krus porselen, tanur, rotavapor (Buchi®), penyemprot bercak H_2SO_4 10%, timbangan (Mettler Toledo®), bejana kromatografi (Camag®), cawan petri (Pyrex®), mikropipet (Eppendorf®), alat EFS (Reaction Technology), lampu UV (Camag®), penangas air (Memmert®), alat gelas standar, *Melting Point Apparatus* (Electrothermal), spektrofotometer RMI (Agilent), TLC Scanner (Camag), *Linomat* (Camag).

Penyiapan Bahan

Penyiapan bahan meliputi pengumpulan bahan, determinasi tanaman dan pengolahan bahan. Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari perkebunan Manoko Lembang, Bandung pada bulan Desember 2014. Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan

Teknologi Hayati (SITH) Institut Teknologi Bandung.

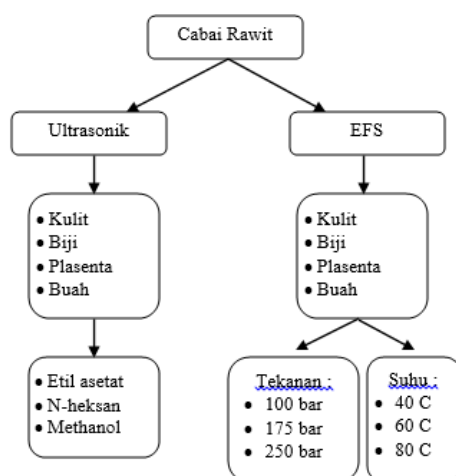
Karakterisasi Serbuk Simplisia

Penetapan karakteristik simplisia meliputi penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu larut air, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan kadar sari larut air dan penetapan kadar air (20).

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder apa saja yang terdapat di dalam suatu tanaman. Pemeriksaan ini meliputi pemeriksaan golongan senyawa kimia meliputi golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, kuinon, saponin, steroid/triterpenoid (21).

Ekstraksi



Proses ekstraksi dilakukan dengan dua metode. Metode pertama menggunakan maserasi yang dibantu dengan alat ultrasonik selama 3 x 20 menit. Sampel yang digunakan adalah plasenta, kulit, biji dan buah cabai rawit dengan bobot masing-masing 2 gram. Masing-masing sampel dilarutkan ke dalam pelarut tunggal n-heksana, etil asetat dan metanol. Lalu dipisahkan antara pelarut dan filtratnya menggunakan kertas saring. Lalu ekstrak cair diuapkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan. Setelah itu masing-masing ekstrak diuji dengan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan pengembang kloroform : metanol : asam asetat (9,5 : 0,5 : 0,1). Selain itu, proses ekstraksi juga menggunakan metode ekstraksi fluida superkritik (EFS) dengan berbagai macam variasi suhu dan tekanan. Variasi suhu yang dilakukan adalah pada suhu 40 °C, 60 °C dan 80 °C. Sedangkan variasi tekanan yang dilakukan adalah 100, 175 dan 250 bar.

Pemurnian dan Karakterisasi

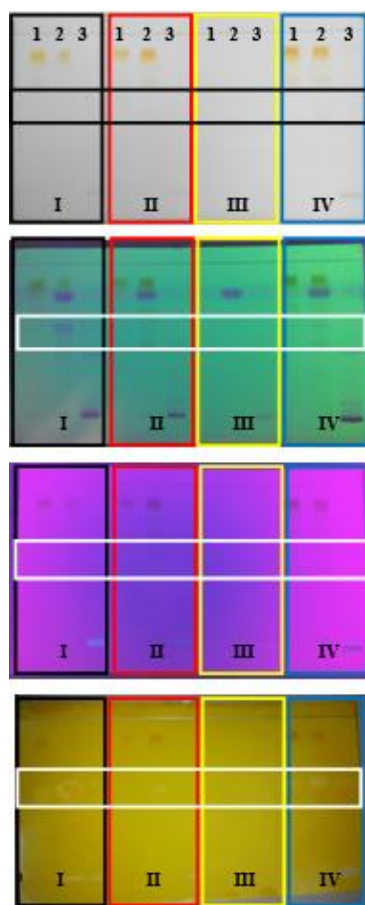
Kristal (isolat hasil maserasi) terbentuk pada saat sampel plasenta dengan pelarut etil asetat diuapkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar. Setelah itu kristal tersebut dipisahkan dengan menggunakan kertas saring dari pelarutnya. Lalu pelarutnya yang masih tersisa dibiarkan menguap. Setelah kristal terbentuk, lalu dilakukan proses pemurnian dengan metode pencucian dengan menggunakan pelarut yang dapat melarutkan pengotor namun tidak melarutkan senyawa target. Pelarut yang digunakan adalah n-heksana. Proses pemurnian dilakukan berulang-ulang. Sedangkan pemurnian isolate yang berasal dari ekstrak EFS dilakukan dengan metode rekristalisasi. Uji kemurnian isolat dilakukan dengan KLT dua dimensi dan uji titik leleh. Isolat dikarakterisasi menggunakan reaksi penampak bercak spesifik, spektrofotometer UV, $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan bahan meliputi pengumpulan buah cabai rawit, sortasi basah, pencucian, pemotongan serta pemisahan plasenta cabai rawit dari kulit dan biji cabai rawit, pengeringan kemudian

penggilingan sehingga didapatkan serbuk kering yang siap diekstraksi. Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu Teknologi Hayati (STIH) Institut Teknologi Bandung. Buah cabai rawit yang digunakan adalah yang berjenis cabai rawit domba berumur 2 minggu berwarna jingga.

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Proses ini dibantu oleh alat ultrasonik, tujuannya agak meningkatkan energi kinetik akibat terjadinya gesekan antara partikel dengan pelarut. Hal ini menyebabkan kelarutan sampel terhadap pelarutnya meningkat saat dilakukan proses ekstraksi. Ekstraksi dilakukan selama 3 x 20 menit. Sampel yang digunakan adalah plasenta, biji, kulit serta buah cabai rawit. Masing-masing sampel diekstraksi dengan menggunakan pelarut tunggal berupa n-heksana, etil asetat dan metanol. Setelah itu masing-masing ekstrak dilihat profil KLT nya dengan pengembang kloroform : metanol : asam asetat (9,5 : 0,5 : 0,1).



Gambar 1. Pola KLT ekstrak plasenta (I), kulit (II), biji (III) dan buah (IV) dengan pelarut n-heksana (1), etil asetat (2), metanol (3) dengan pengembang Kloroform : metanol : asam asetat (9,5:0,5:0,1). A(visible), B(UV 254 nm), C (UV 366 nm), D (penampak bercak dragendorff)

Berdasarkan profil KLT dari plat kromatografi yang telah disemprot dengan penampak bercak dragendorff terlihat bahwa senyawa kapsaisinoid terdapat pada sampel plasenta pada pelarut etil asetat (kotak putih). Dalam literatur, senyawa kapsaisinoid banyak terdapat pada plasenta. Dengan begini diketahui bahwa senyawa kapsaisinoid memiliki sifat semipolar (lebih ke arah non polar).

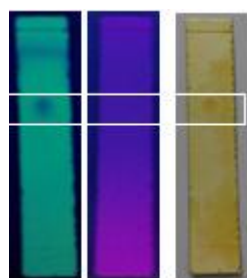
Setelah itu masing-masing sampel dalam plat KLT diukur kadarnya dengan menggunakan *TLC Scanner*. Hasilnya terdapat dalam tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Hasil pengukuran kadar senyawa kapsaisinoid metode maserasi dari sampel plasenta, kulit, biji dan buah

Sampel	Pelarut	Kadar (mg/g)
Plasenta	N-heksana	13,51
Plasenta	Etil asetat	27,5
Plasenta	Metanol	8,88
Kulit	N-heksana	7,18
Kulit	Etil asetat	11,71
Kulit	Metanol	8,13
Biji	N-heksana	3,34
Biji	Etil asetat	2,78
Biji	Metanol	3,64
Campuran	N-heksana	20,45
Campuran	Etil asetat	16,2
Campuran	Metanol	10,3

Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa diantara 12 sampel yang di maserasi dengan menggunakan tiga pelarut berbeda dapat diketahui bahwa kadar senyawa kapsaisinoid paling tinggi terdapat pada sampel ke-2 yang berupa plasenta dengan pelarut etil asetat. Setelah itu masing-masing ekstrak dipekatkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan. Kristal yang terbentuk saat proses penguapan pelarut dipisahkan dengan cara

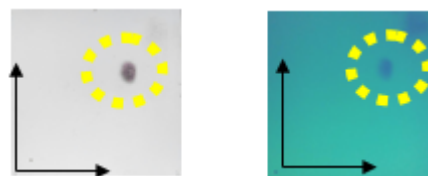
disaring dengan kertas saring. Pemantauan menggunakan KLT dengan menggunakan sinar UV 254 nm menunjukkan bahwa senyawa kapsaisin memberikan warna biru muda sedangkan pada sinar UV 366 nm tidak berpendar. Setelah disemprot dengan penampak bercak Dragendorff menunjukkan warna jingga. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa merupakan senyawa golongan alkaloid



Gambar 2. Pola KLT Isolat kapsaisin hasil maserasi dengan pengembang Kloroform : metanol : asam asetat (9,5:0,5:0,1). A (UV 254 nm), B (UV 366 nm), C (penampak bercak dragendorff)

Dari 2 gram simplisia yang digunakan dalam maserasi berhasil didapatkan kristal isolat dengan bobot total 27,5 mg/gram. Setelah itu dilakukan uji kemurnian dengan uji titik leleh dan KLT dua dimensi. Hasil uji kemurnian isolat 1 menunjukkan titik leleh antara 63,5-64,0°C. Sedangkan kapsaisin standar memiliki titik leleh 64,5°C. Lalu dilakukan uji kemurnian dengan KLT dua dimensi dengan menggunakan kombinasi

pengembang dengan kepolaran berbeda. Pengembang pertama menggunakan kloroform : metanol : asam asetat (9,5 : 0,5 : 0,1), sedangkan pengembang kedua menggunakan kombinasi kloroform : metanol : asam asetat (9,0 : 1,0 : 0,1).



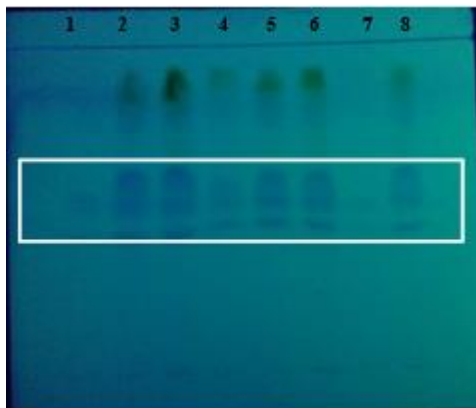
Gambar 3. KLT dua dimensi isolat 1 fase diam silika gel F 254, fase gerak (1) kloroform : metanol : asam asetat (9,5 : 0,5 : 0,1) : (2) kloroform : metanol : asam asetat (9,0 : 1,0 : 0,1), penampak bercak H₂SO₄ 10 % dalam metanol. (A) Visibel, (B) UV 254 nm.

Selain dengan metode maserasi, ekstraksi juga menggunakan metode ekstraksi fluida superkritik. Dalam ekstraksi ini digunakan berbagai macam variasi suhu dan tekanan. Suhu yang digunakan adalah 40 °C, 60 °C, dan 80 °C. Sedangkan tekanan yang digunakan adalah 100, 175, dan 250 bar. Bobot sampel yang digunakan adalah 25 gram.

Tabel 2. Rendemen ekstrak kulit cabai rawit (gr)

Tekanan (Bar)	Suhu (°C)		
	40	60	80
100	0,81	2,4	1,27
175	0,89	1,67	1,54
250	0,92	1,02	-

Setelah itu ekstrak diuji pola pemisahannya dengan KLT dengan menggunakan pengembang kloroform : metanol : asam asetat dengan perbandingan 9,5 : 0,5 : 0,1. Hasil pengamatan ditunjukkan pada gambar 4.



Gambar 4. Pola KLT ekstrak EFS dengan fluida CO₂ (1) 40°C/100 bar, (2) 40°C/175 bar, (3) 40°C/250 bar, (4) 60°C/100 bar, (5) 60°C/175 bar, (6) 60°C/250 bar, (7) 80°C/100 bar, (8) 80°C/175 bar dengan pengembang Kloroform : metanol : asam asetat (9,5:0,5:0,1) pada UV 254 nm

Masing-masing ekstrak yang didapatkan dari hasil proses EFS berupa bentuk padatan. Agar mudah dikeluarkan dari dalam *chamber* maka dilarutkan terlebih dahulu menggunakan kloroform dan ditampung ke dalam botol. Setelah itu pelarutnya dibiarkan menguap dengan cara diangin-anginkan dalam suhu ruangan. Setelah itu, masing-masing ekstrak diuji kadar dengan menggunakan *TLC Scanner*,

hasilnya dapat dilihat pada gambar 6 di bawah ini.

Tabel 3. Hasil pengukuran kadar kapsaisinoid ekstrak kulit cabai rawit metode EFS dengan *TLC Scanner*

No	Suhu	Tekanan	Kadar (mg/g)
1	40 ⁰ C	175	32,52
2	40 ⁰ C	250	21,81
3	60 ⁰ C	100	6,03
4	60 ⁰ C	175	10,44
5	60 ⁰ C	250	19,15
6	80 ⁰ C	100	5,14
7	80 ⁰ C	175	10,36

Dari hasil pengukuran di atas terlihat bahwa sampel cabai yang diekstraksi pada suhu 40 °C dan pada tekanan 175 bar memiliki kadar kapsaisinoid paling tinggi. Kadar senyawa ini mencapai 32,52 mg/g ekstrak. Sampel yang diekstraksi pada suhu 40 °C dan pada tekanan 250 bar memiliki kadar yang mencapai 21,81 mg/g ekstrak, sedangkan sampel diekstraksi pada suhu 60 °C dan pada tekanan 250 bar memiliki kadar yang mencapai 19,15 mg/g ekstrak. Setelah itu masing-masing ekstrak dipekatkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan. Dari ketujuh sampel yang direkristalisasi, terbentuk kristal pada enam sampel.

Tabel 4. Bobot kristal kapsaisinoid (miligram)

Tekanan (Bar)	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)		
	40	60	80
100	-	36,6	11,2
175	377,1	52,4	77,6
250	-	72,8	-

Hasil Analisa Isolat

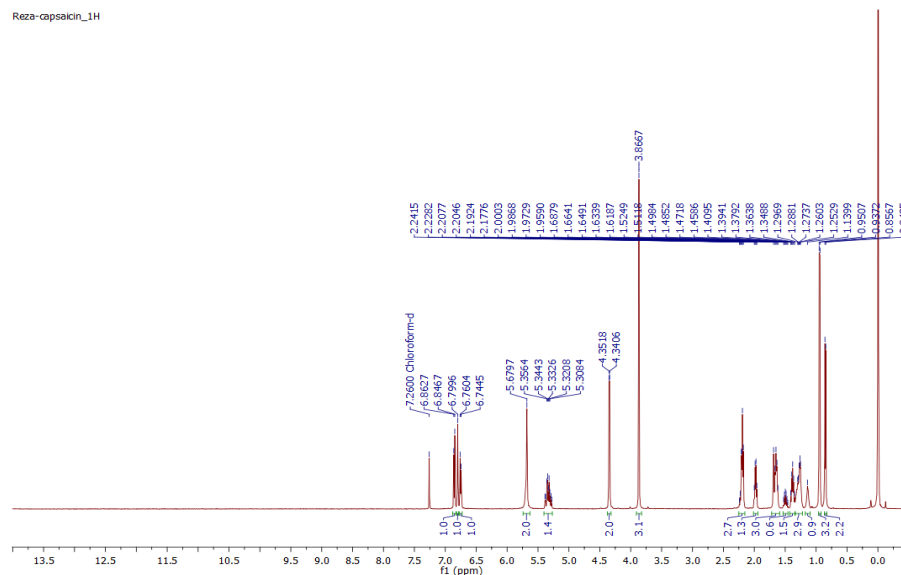
Senyawa berupa kristal berwarna putih tulang, memiliki titik leleh $63,5 - 64,0^{\circ}\text{C}$. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ_{H} (ppm) : 0,94 (3H, d) ; 0,85 (3H, d) ; 1,38 (1H, dt) ; 1,65 (3H, m) ; 1,98 (2H, dd) ; 2,21 (3H, dt) ; 3,87 (3H, s) ; 4,35 (2H,

d) ; 5,33 (2H, m) ; 5,68 (2H, s) ; 6,75 (1H, d) ; 6,80 (1H, s) ; 6,85 (1H, d).

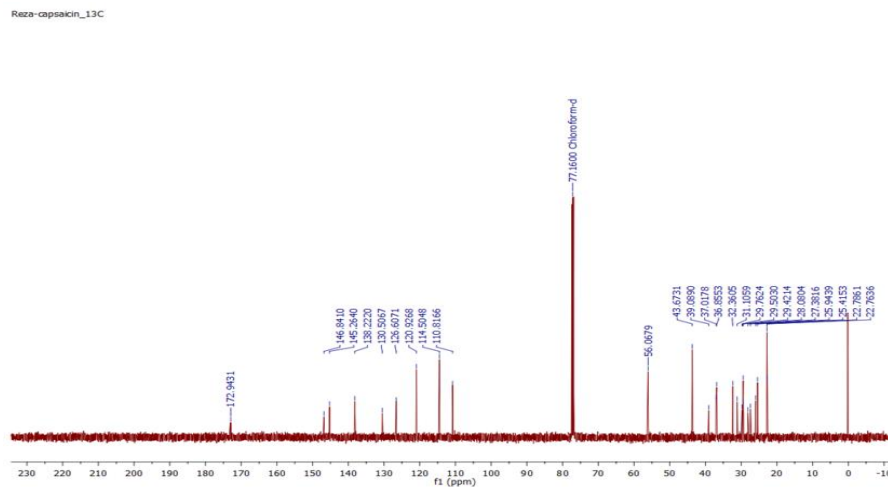
Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ_{C} (ppm) : 22,51 ; 22,51 ; 25,67 ; 29,15 ; 30,83 ; 32,1 ; 36,58 ; 43,4 ; 55,7 ; 110,5 ; 114,13 ; 120,61 ; 126,36 ; 129,97 ; 137,8 ; 144,88 ; 146,38 ; 172,24.

Spektrum UV-Visible. Berdasarkan gambar 7, senyawa kapsaisin memiliki dua panjang gelombang, yaitu A(233 nm) dan B (283 nm). Sedangkan menurut penelitian Yao (22), kapsaisin memiliki panjang gelombang 227 nm dan 282 nm.

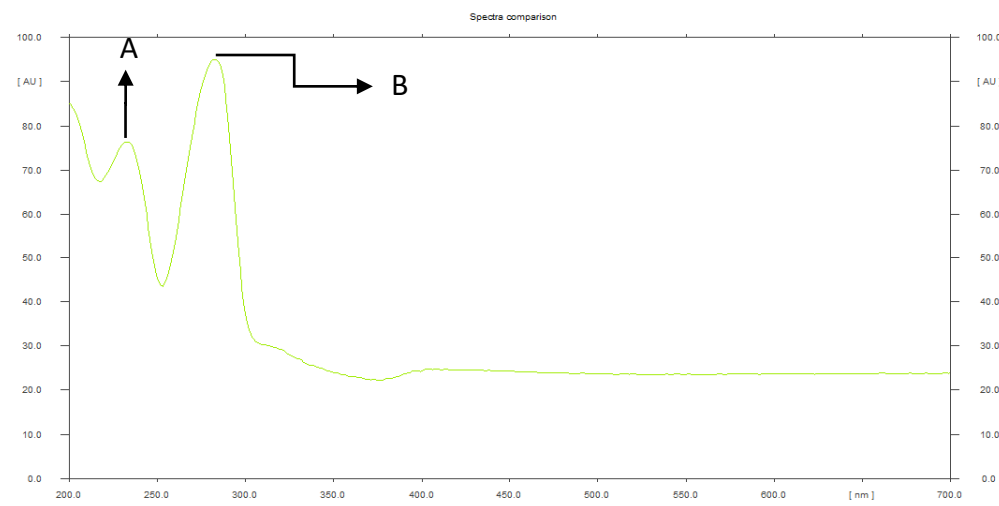
Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Kapsaisin



Gambar 5. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Kapsaisin

Spektrum ^{13}C -NMR KapsaisinGambar 6. Spektrum ^{13}C -NMR Kapsaisin

Spektrum UV-Visible



Gambar 7. Spektrum UV-Visible

Pada proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan dibantu alat ultrasonik, digunakan empat sampel yang terdiri dari plasenta, kulit, biji

dan buah cabai rawit. Masing-masing sampel dilarutkan dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Pemantauan menggunakan KLT dengan

menggunakan sinar UV 254 nm menunjukkan bahwa senyawa kapsaisin memberikan warna biru muda sedangkan pada sinar UV 366 nm tidak berpendar. Setelah disemprot dengan penampak bercak Dragendorff menunjukkan warna jingga. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa merupakan senyawa golongan alkaloid.

Setelah itu kristal yang diperoleh dari dimurnikan dengan cara pencucian dengan pelarut n-heksana. Hal ini karena setelah dilakukan percobaan dengan berbagai pelarut, senyawa kapsaisinoid memiliki sifat semipolar sedangkan pengotornya larut dalam pelarut n-heksana. Setelah itu dilakukan uji kemurnian dengan metode titik leleh dan KLT 2 dimensi. Senyawa hasil isolasi diperoleh berupa kristal berwarna putih kekuningan dengan titik leleh 63,5 – 64,0 °C. Senyawa kapsaisin standar memiliki titik leleh 64,5°C. Hasil pengukuran kadar dengan *TLC Scanner* menunjukkan bahwa sampel plasenta dengan pelarut etil asetat memiliki kadar senyawa kapsaisinoid terbesar yaitu 27,5 mg/gram.

Spektrum ¹H-NMR menunjukkan adanya tiga proton yang merupakan bagian dari senyawa aromatik (δ 6,75 ; 6,80 ; dan 6,85). Berdasarkan penelitian yang

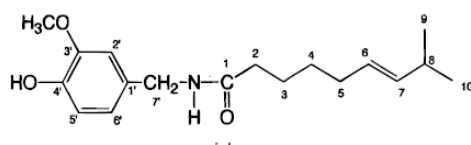
dilakukan oleh Kobata et al (3), posisi atom H tersebut menunjukkan pola senyawa fenil. Senyawa fenil muncul pada geseran kimia 146,38 ; 144,88 ; 129,97 ; 120,61 ; 114,13 dan 110,5 pada data spektrum ¹³C-NMR. Senyawa golongan metoksil (δ 3,87) dan golongan isopropyl (δ 0,94 dan 0,85) juga telah dibuktikan terdapat dalam isolat ini dan ditunjukkan pada data ¹H-NMR pada tabel 5.

Tabel 5. Perbandingan ¹H-RMI Isolat 1 dengan Kapsaisin

Proton	Isolat δ H	Kapsaisin	
		Kobata et al	Ochi et al
2	2,21 (3H, dt)	2,19 (t)	2,20 (m)
3	1,65 (3H, m)	1,65 (quint)	1,65 (m)
4	1,38 (1H, dt)	1,38 (quint)	1,39 (m)
5	1,98 (2H, dd)	1,98 (q)	1,99 (m)
6	5,33 (2H, m)	5,30 (dt)	5,34 (dd)
7	5,68 (2H, s)	5,37 (dd)	5,40 (dt)
8		2,20 (oct)	2,24 (m)
9	0,94 (3H, d)	0,95 (d)	0,95 (d)
10	0,85 (3H, d)	0,95 (d)	0,95 (d)
2'	6,75 (1H,d)	6,79 (d)	6,90 (d)
5'	6,80 (1H, d)	6,85 (d)	
6'	6,85 (1H,d)	6,74 (dd)	6,88 (dd)
7'	4,35 (2H,d)	4,33 (d)	4,39 (d)
O-Me	3,87 (3H, s)	3,85 (s)	3,91 (s)
OH		5,87 (s)	

Tabel 6. Perbandingan ¹³C-RMI Isolat 1 dengan Kapsaisin

Proton	Isolat δ C	Kapsaisin	
		Kobata et al	Ochi et al
1	172,24	172,9	173,1
2	36,58	36,7	37,0
3	25,67	25,3	25,4
4	29,15	29,3	29,5
5	32,1	32,2	32,4
6	126,36	126,5	126,7
7	137,8	138,1	138,3
8	30,83	31,0	31,1
9	22,51	22,7	22,8
10	22,51	22,7	22,8
1'	129,97	130,3	130,5
2'	110,5	110,7	110,4
3'	148,68	146,8	147,5
4'	144,88	145,2	142,3
5'	114,13	114,4	124,2
6'	120,61	120,7	122,9
7'	43,4	43,5	43,7
O-Me	55,7	55,9	56,4

**Gambar 6. Struktur senyawa kapsaisin (3)**

Selain itu telah dilakukan proses ekstraksi dengan metode ekstraksi fluida superkritik (EFS). Dari tabel 3 diketahui bahwa proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan 8 variasi yaitu pada suhu 40⁰, 60⁰ dan 80⁰C dan dengan tekanan 100, 175 dan 250 bar. Dari 8 variasi yang telah

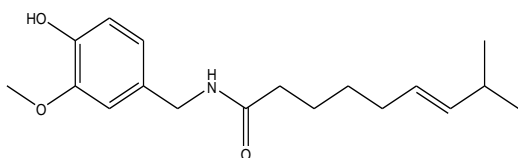
dilakukan dapat diketahui bahwa hasil ekstraksi yang memiliki rendemen paling besar didapat pada suhu 60⁰C dengan tekanan 100 bar dengan rendemen 9,6 %. Kadar terkecil terdapat pada suhu 80⁰ C dan 100 bar menghasilkan 5,14 mg/gram. Sedangkan kadar terbesar didapat pada suhu 40⁰C dengan tekanan 175 bar dengan jumlah 32,52 mg/gram. Setelah itu masing-masing ekstrak dipekatkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan. Dari 7 sampel yang di-rekristalisasi, terbentuk kristal pada enam sampel.

Sifat fluida superkritik adalah memiliki densitas menyerupai cairan, viskositas mirip dengan gas dan kemampuan difusitas menengah antara cairan dan gas. Dengan sifat ini, fluida CO₂ memiliki transfer massa yang besar sehingga cocok digunakan untuk mengekstraksi senyawa dengan sifat semipolar - non polar, khususnya kapsaisin. Keunggulan utama fluida superkritik dibandingkan dengan cairan adalah difusivitas yang lebih besar. Meskipun tidak sebesar gas, difusivitas fluida superkritik yang 1000 kali lebih besar dari difusivitas cairan, menghasilkan laju transfer massa yang lebih besar. Oleh sebab itu dari tujuh variasi suhu dan tekanan yang dilakukan, enam diantaranya

dapat dilakukan rekristalisasi. Selain itu, fluida juga memiliki densitas lebih kecil dari cairan. Hal inilah yang menyebabkan kadar kapsaisin yang diperoleh lebih kecil dari metode maserasi. Pada maserasi, sampel 2 gram dapat menghasilkan 55 mg kapsaisin, sedangkan pada sampel EFS, sampel dengan bobot 25 gram dapat menghasilkan 32,52 mg

KESIMPULAN

Senyawa golongan kapsaisinoid yang berhasil diisolasi menggunakan metode maserasi dan EFS adalah kapsaisin (8-Methyl-N-vanillyl-trans-6-nonenamide)



Kondisi ekstraksi optimum untuk mengekstraksi kapsaisin dengan metode maserasi adalah menggunakan pelarut etil asetat, sedangkan kondisi optimum untuk mengekstraksi kapsaisin dengan metode ekstraksi fluida superkritik adalah pada suhu 40⁰C dan pada tekanan 175 bar. Isolat yang diperoleh dari metode maserasi adalah senyawa kapsaisin dengan kadar 27,5 mg/gram.

Dari hasil pengukuran kadar dengan menggunakan *TLC Scanner* menunjukkan bahwa kadar senyawa kapsaisin yang

diperoleh dari hasil maserasi lebih tinggi dibandingkan pada hasil EFS. Namun metode EFS lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa kapsaisin

DAFTAR PUSTAKA

1. Cahyono B. Cabai Rawit, Teknik Budidaya & Analisis Usaha Tani. Yogyakarta: Penerbit Kanisius; 2003.
2. Dermawan R, Harpenas A. Budi Daya Cabai Unggul, Cabai Besar, Cabai keriting, Cabai Rawit, dan Paprika. Jakarta: Penebar Swadaya; 2010.
3. Kobata K, Todo T, Yazawa S, Iwai K, Watanabe T. Novel Capsaicinoid-like Substance, Capsiate and Dihydrocapsiate, from the Fruits of a Nonpunguent Cultivar, C-19 Sweet, of Pepper (*Capsicum annum* L). *J Agric Food Chem.* 1998;46(5).
4. Deepa N, Kaur C, George B, Singh B, Kapoor HC. Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annum* L.) genotypes during maturity. *LWT e Food Sci Technol.* 2007;40(1):121–9.
5. Materska M, Perucka I. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annum* L.). *J Agric Food Chem.* 2005;53(5):1750–6.

6. Topuz A, Ozdemir F. Assessment of carotenoids, kapsaisinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annum*L.) grown in Turkey. *J Food Compos Anal.* 2007;20(7):596–602.
7. Ornelas-Paz J., Burrola JM., Cruz S., Rodriguez V., Junquera V., Olivas G., et al. Effect of Cooking On The Capsaicinoids and Phenolic Content Of Mexican Peppers. *Food Chem.* 2010;119(4):1619–25.
8. Li F, Lin Y, Wang X, Geng Y, Wang D. Preparative Isolation and Purification of Capsaicinoids from *Capsicum frutescens* Using High-Speed Counter Current Chromatography. *J Sep Purification Technol.* 2009;64(3):304–8.
9. Sukrasno, Kusmardiyani S, Tarini S, Sugiarto N. Kandungan Kapsaisin dan Dihidro-kapsaisin Pada Berbagai Buah *Capsicum*. *J Indones Math Soc.* 1997;2(1):28–34.
10. Manjunatha H, Srinivasan K. Protective Effect of Dietary Curcumin and Capsaicin On Induced Oxidation of Low-Density Lipoprotein, Iron-Induced and Carrageenan-Induced Inflammation in Experimental Rats. *Fed Eur Biochem Soc.* 2006;273(19):4528–37.
11. Navarro JM, Flores P, Garrido C, Martinez V. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chem.* 2006;96:66–73.
12. Luo X-J, Peng J, Li Y-J. Recent advances in the study on kapsaisinoids and capsinoids. *Eur J Pharmacol.* 2011;650(1):1–7.
13. Barbero GF, Liqid A, Palma M, Barroso CG. Ultrasound-assisted extraction of kapsaisinoids from peppers. *Talanta.* 2008;75(5):1332–7.
14. Kahkonen MP, Hopia AI, Heinonen M. Berry phenolics and their antioxidant activity. *J Agric Food Chem.* 2001;49(8):4076–82.
15. Stalikas CD. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J Sep Sci.* 2007;30(18):3268–95.
16. Peng A, Ye H, Li X, Chen L. Preparative Separation of Capsaicin and Dihydrocapsaicin from *Capsicum frutescens* by High-Speed Counter-Current Chromatography. *J Sep Sci.* 2009;32(17):2967–73.
17. Duarte C, Moldao-Martins M, Gouveia AF, da Costa SB, Leitao A., Bernardo-

- Gil MG. Supercritical fluid extraction of red pepper (*Capsicum frutescens* L). *J Supercrit Fluids*. 2004;30:155–161.
18. Silva LPS, Aguiar AC, De Barbero GF, Martinez J. Scale-Up of SFE from Pepper Using Supercritical Carbon Dioxide. In: III Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids Cartagena de Indias (Colombia). 2013.
19. Perva-Uzunalic A, Skerget M, Weinreich B, Knez Z. Extraction of chilli pepper (var. Byedige) with supercritical CO₂: effect of pressure and temperature on kapsaisinoid and colour extraction efficiency. *Food Chem*. 2004;87:51–58.
20. Depkes. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2008.
21. Farnsworth NR. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *J Pharm Sci*. 1966;55(3):243–68.
22. Yao J. An investigation of capsaicinoids and bioactive compounds in “Scotch Bonnet” and several other cultivars of pepper, M.S. Michigan State University; 1992.