4. PEMBAHASAN

Biji pala mengandung minyak atsiri dan oleoresin, kandungan oleoresin inilah yang banyak digunakan pada berbagai proses pengolahan di industri pangan, kosmetik, hingga industri obat – obatan (Apri Normalina, 2013). Ada beberapa metode ekstraksi oleoresin yang dapat digunakan, yaitu ekstraksi maserasi, ekstraksi *soxhlet* dan ekstraksi ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik adalah ekstraksi yang memanfaatkan bantuan gelombang ultrasonik untuk mengeluarkan senyawa yang terkandung dalam suatu bahan dengan cara meningkatkan transfer massa yang menyebabkan pecahnya gelembung udara sehingga mengintensifkan tekanan yang mengakibatkan dinding sel rusak dan meningkatkan pelepasan komponen intraseluler kedalam pelarut yang digunakan (Lou *et al*., 2010). Dalam penelitian ini digunakan CCD (*Central Composite Design*) dua faktor untuk melihat kondisi optimum pengaruh perlakuan suhu dan waktu terhadap rendemen, total fenol dan aktivitas antioksidan oleoresin biji pala, serta untuk menentukan kombinasi perlakuan suhu dan waktu yang digunakan dalam proses ekstraksi ultrasonik (Sri Hartuti dan Supardan, 2012).

Dalam analisa pengolahan data penelitian ini menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) untuk mengetahui keterkaitan antar variabel proses yang digunakan terhadap jumlah dan kualitas produk yang dihasilkan, serta metode ini memberikan rendering grafik serta titik optimal suatu proses (Polowczyk & Kozlecki, 2017). RSM dipilih sebagai metode pengolahan data karena dengan menggunakan RSM, hasil analisa dapat langsung ditampilkan dalam bentuk respon tiga dimensi, sehingga lebih mudah membaca hasil analisa yang didapat. Dalam penelitian oleh Sri Hartuti dan Supardan (2012) menyebutkan bahwa RSM merupakan salah satu metode optimasi yang digunakan pada situasi dimana terdapat variabel – variabel (suhu dan waktu ekstraksi) yang dapat mempengaruhi proses dan kualitas produk. Penggunaan RSM sebagai metode pengolahan data mulai banyak digunakan diberbagai penelitian. Begitu juga untuk optimasi pada ekstraksi oleoresin, beberapa diantaranya adalah: Optimasi Proses Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale* Rosc) Menggunakan Ultrasonik (Sri Hartuti dan Supardan, 2012), dan Optimasi Ekstraksi Gelombang Ultrasonik Untuk Produksi Oleoresin Jahe

(*Zingiber officinale* Roscoe) Menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) (Sri Hartuti dan Supardan, 2013).

4.1. Ekstraksi Biji Pala

Dalam penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ultrasonik. Langkah kerja untuk melakukan ektraksi ini adalah dengan menghancurkan biji pala yang sebelumnya telah dikeringkan di dalam *cabinet dryer* selama 1 jam dengan suhu 60°C, dengan menggunakan mortar, dan kemudian diblender untuk mendapatkan serbuk pala yang lebih halus. Proses pengeringan biji pala ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam bahan agar proses ekstraksi berjalan lebih optimal. Proses penghancuran menggunakan mortar dan blender bertujuan untuk memerkecil ukuran partikel bahan, hal ini dimaksudkan agar luas permukaan bahan yang kontak dengan pelarut nantinya lebih besar, sehingga akan lebih banyak pelarut yang mengikat zat aktif dalam bahan. Hal ini sesuai dengan teori Rahmawati (2013) yang menyatakan bahwa penghancuran bahan yang akan diekstrak menjadi serbuk, akan meningkatkan luas permukaan sehingga zat didalam bahan akan mudah terekstrak oleh pelarut, serta zat terekstrak akan semakin banyak. Proses selanjutnya adalah ekstraksi dengan menggunakan alat *ultrasonic cleaner* dengan pelarut etanol 96% yang sudah diatur suhu dan waktunya sesuai kombinasi perlakuan yang ada.

Menurut Tambun *et al*., (2016) suhu dan waktu merupakan dua dari beberapa faktor yang mempengarui hasil ekstraksi, adapun faktor – faktor lainnya adalah rasio pelarut dan bahan, ukuran partikel bahan, jenis pelarut, perlakuan pendahuluan dan masih banyak lagi. Setelah proses ekstraksi selesai, dilanjutkan dengan penyaringan ekstrak menggunakan kertas saring untuk memisahkan residu dengan larutannya, yang kemudian hasil saringan di evaporasi untuk menguapkan pelarut yang ada, dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* untuk mendapatkan oleoresin. Oleoresin yang didapat kemudian ditimbang dan dicatat beratnya, kemudian ditampung ke dalam botol vial, untuk selanjutnya di analisa meliputi rendemen, total fenolik dan aktivitas antioksidan. Pada proses ekstraksi biji pala ini digunakan perbandingan 1 : 10 (serbuk biji pala : pelarut etanol). Rasio perbandingan ini dipilih karena dibeberapa penelitian yang menggunakan rasio 1 : 3 (bahan : pelarut) belum mampu menyerap dengan maksimal oleoresin yang

terkandung dalam bahan (Sri Hartuti dan Supardan, 2013). Sehingga dipenelitian ini digunakan rasio perbandingan bahan : pelarut sebesar 1 : 10 dengan tujuan agar oleoresin dapat terekstrak lebih maksimal.

4.2. Rendemen Oleoresin Biji Pala

Hasil analisa rendemen terendah didapatkan pada perlakuan suhu 43°C selama 37,5 menit, yaitu sebesar 47,37% dan hasil rendemen oleoresin tertiggi didapat pada perlakuan suhu 50°C selama 37,5 menit, yaitu sebesar 55,37%. Analisa menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) menunjukkan bahwa variabel suhu dan waktu yang digunakan memiliki pengaruh tidak ada beda nyata terhadap hasil rendemen oleoresin biji pala yang dihasilkan. Hal ini berbeda dengan teori oleh Anwar Fuadi (2012) yang mengatakan bahwa semakin lama waktu dan suhu ekstraksi, maka hasil rendemen yang didapat akan semakin meningkat. Karena semakin lama waktu yang digunakan, maka akan memberikan kesempatan bagi pelarut untuk kontak dengan bahan. Seiring bertambahnya waktu ekstraksi akan menyebabkan pelarut mengalami kejenuhan. Begitu pula dengan peningkatan suhu, semakin tinggi suhu yang digunakan maka panas yang diterima oleh bahan akan semakin besar untuk mengekstrak oleoresin.

Akan tetapi hasil penelitian rendemen ini tidak menunjukkan hasil yang signifikan pada kombinasi perlakuan suhu dan waktu yang digunakan. Perbedaan hasil ini dapat terjadi karena beberapa faktor di laboratorium yang menyebabkan ketidak tepatan selama melakukan penelitian. Faktor – faktor tersebut adalah faktor personal, kebersihan alat, ketepatan atau akurasi alat. Dalam faktor personal sendiri, yaitu dari orang atau peneliti itu sendiri, ketidak akuratan dapat terjadi ketika proses penimbangan bahan baku, pencampuran bahan / homogenitas sampel, penyaringan yang belum optimal, pengambilan sampel untuk analisa dan sewaktu proses penguapan pelarut, jumlah pelarut yang masih tertinggal akan mempengaruhi penimbangan produk yaitu oleoresin, sehingga hasil analia rendemennya tidak akurat. Dalam hal ini, tidak hanya faktor personal tetapi bisa juga dari alat karena kurang presisi. Hasil rendemen dari penelitian ini berkisar antara 40% – 50%, sedangkan menurut Sofyana *et al*. (2013) jumlah rendemen oleoresin biji pala dengan menggunakan metode ekstraksi ultrasonik, dapat menghasilkan rendemen sebanyak 10,07% dengan perlakuan suhu sebesar 30°C selama 180 menit. Hasil ini

memiliki rentang yang cukup jauh dan dapat mengidentifikasi bahwa oleoresin yang didapat dari penelitian ini masih mengandung sejumlah pelarut didalamnya.

4.3. Kandungan Total Fenol Oleorein Biji Pala

Fenol adalah salah satu jenis zat yang terkandung dalam oleoresin. Kandungan fenol dalam bahan dapat keluar dari bahan apabila ekstraksi dilakukan dengan jenis pelarut yang sesuai. Dalam penelitian ini, pelarut yang digunakan adalah etanol. Etanol merupakan salah satu senyawa golongan alkohol yang dapat mengekstraksi senyawa polar maupun senyawa non-polar (Algariri *et al*., 2013). Pada hasil pengujian total fenol dari ketiga belas kombinasi perlakuan tidak terlalu berbeda antara satu dengan yang lain. Nilai total fenol terendah adalah 0,0967 mg GAE/g, yaitu pada perlakuan suhu 45°C selama 30 menit. Sedangkan nilai total fenol tertinggi adalah 0,1230 mg GAE/g, yaitu pada perlakuan suhu 43°C selama 37,5 menit. Menurut analisa dengan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM), hasil menunjukkan bahwa variabel suhu dan waktu yang digunakan memiliki pengaruh tidak ada beda nyata terhadap hasil total fenol oleoresin biji pala yang dihasilkan. Selain etanol, pelarut lainnya yang dapat digunakan untuk ekstraksi adalah aquades.

Aquades adalah salah satu senyawa polar, maka dari itu dia hanya bisa mengekstrak dengan maksimal pada senyawa yang juga bersifat polar, sehingga komponen fenol akan sulit terlarut di dalam pelarut aquades (Algariri *et al*., 2013). Kelarutan fenol dalam aquades adalah 0 – 65°C (Soehendro, 2015), sedangkan dibanding dengan aquades, etanol akan lebih mudah dan lebih banyak mengekstrak kandungan fenol dalam bahan. Oleh sebab itu kombinasi suhu dan waktu tidak ada beda nyata terhadap hasil analisa total fenol dalam oleoresin yang didapat.

4.4. Aktivitas Antioksidan Dalam Oleoresin Biji Pala

Metode yang digunakan dalam analisa aktivitas antioksian ini adalah metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl). Larutan DPPH ini adalah suatu senyawa radikal bebas yang stabil pada suhu 28°C atau dalam suhu ruang (Wibowo, 2018). Pada penelitian ini, jumlah antioksidan dalam oleoresin dilihat dari hasil perhitungan *discoloration* atau pelunturan warna larutan sampel yang ditambakan DPPH. Menurut hasil analisa aktivitas

antioksidan, nilai *discoloration* terendah didapatkan pada perlakuan suhu 45°C selama 45 menit, yaitu sebesar 86,1253% dan hasil *discoloration* oleoresin tertiggi didapat pada perlakuan suhu 55°C selama 45 menit, yaitu sebesar 94,2537%. Sedangkan pada hasil analisa regresi aktivitas antioksidan yang didapat dengan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) menunjukkan bahwa variabel suhu dan waktu yang digunakan memiliki pengaruh ada beda nyata terhadap hasil aktivitas antioksidan oleoresin biji pala yang dihasilkan. *Discoloration* atau pelunturan warna terjadi karena kandungan antioksidan berpasangan dengan elektron dari radikal bebas, radikal bebas disini adalah larutan DPPH yang ditambahkan pada sampel oleoresin. Proses inilah yang menyebabkan pelunturan warna pada larutan sampel yang mengandung antioksidan. Banyak atau besarnya warna yang luntur dipengaruhi oleh jumlah elektron yang terlepas (Wibowo *et al.*, 2018). Jadi semakin banyak aktivitas antioksidan dalam oleoresin maka warna campuran larutan dari sampel dan DPPH akan semakin luntur.

Setelah melakukan penelitian ini, dapat diketahui bahwa variabel suhu dan waktu tidak terlalu mempengaruhi hasil dari analisa rendemen. Tidak hanya dua variabel itu saja yang mempengaruhi hasil rendemen, tetapi ketepatan dalam melaksanakan metode penelitian ini juga. Salah satu proses yang paling kritis adalah pada saat penguapan pelarut atau pada saat proses dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Jika peneliti kurang tepat dalam menentukan kapan waktu evaporasi harus dihentikan, maka bisa jadi masih ada pelarut yang tertinggal pada hasil. Hal inilah yang mempengaruhi hasil analisa rendemen dan analisa lainnya seperti analisa aktivitas antioksidan. Antioksidan yang terkandung dalam bahan pangan tidak tahan terhadap temperatur yang tinggi, yaitu temperatur di atas 60°C. Jika melebihi temperatur tersebut maka dapat merusak dan mengurangi antioksidan yang terdapat dalam bahan (Wicaksono, 2015).

Tidak hanya suhu dan waktu ekstraksi saja yang berpengaruh pada hasil analisa aktivitas antioksidan. Faktor lain yang berpengaruh pada aktivitas antioksidan adalah cahaya, proses penyimpanan, zat atau larutan kimia yang kontak dengan bahan, serta pengemas atau wadah yang digunakan (Hendry & Houghton, 1996). Sementara pada hasil analisa total fenol, perlakuan suhu dan waktu ekstraksi yang digunakan tidak memberikan pengaruh pada jumlah fenol yang dihasilkan. Hal ini karena pelarut yang digunakan untuk

ekstraksi adalah etanol. Etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan bahan bersifat polar maupun non polar, sehingga etanol merupakan pelarut yang baik untuk melarutkan fenol yang terkandung dalam bahan.

Perlakuan suhu dan waktu ekstraksi yang digunakan tidak memberikan hasil yang berbeda pada total fenol yang dihasilkan karena pelarut yaitu etanol yang digunakan sebagai pelarut memberikan hasil yang optimal untuk melarutkan fenol pada bahan. Serta temperatur yang tinggi dapat mempercepat ekstraksi fenol dalam bahan sehingga fenol yang terkandung dalam produk juga semakin banyak, akan tetapi fenol dan antioksidan juga rentan terhadap temperatur. Jika sewaktu proses ekstraksi, bahan atau biji pala terlalu lama terpapar suhu yang tinggi maka senyawa fenol dan antioksidan di dalamnya juga akan rusak dan berkurang (Wazir *et al.,* 2011). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi suhu yang digunakan dapat menurunkan senyawa fenol dan antioksidan di dalam oleoresin, karena kedua senyawa tersebut akan terekstrak dengan baik seiring bertambahnya suhu dan waktu ekstraksi yang digunakan. Tetapi setelah mencapai titik tertentu, kedua senyawa tersebut akan mengalami penurunan karena terdegradasi dan teroksidasi oleh perlakuan selama proses ekstraksi berlangsung (Kartika Sari *et al.,* 2012).