

4. PEMBAHASAN

Pala (*Myristica fragrans* Houtt) merupakan salah satu jenis rempah komoditas ekspor Indonesia. Pala diperoleh dari biji *myristica fragrans*, pohon yang dibudidayakan di daerah tropis (Machmudah *et al.*, 2006). Buah pala terdiri dari daging buah (77,8%), fuli (4%), tempurung (5,1%) dan biji (13,1%). Biji pala memiliki isi yang bewarna putih dan memiliki aroma yang khas bila dikeringkan. Biji dan fuli dari buah pala memiliki nilai kormesial yang tinggi, karena dapat dibuat menjadi minyak atsiri dan oleoresin (Nurdjannah, 2007).

Untuk mendapatkan ekstrak dari biji pala perlu dilakukan ekstraksi. Ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik (>20kHz) merupakan salah satu metode ekstraksi baru yang dianggap ramah lingkungan. Dalam proses ekstraksi minyak atsiri yang bersifat sensitif terhadap panas, UAE memberikan sejumlah keuntungan seperti memberikan efisiensi hasil, sederhana, mereduksi penggunaan pelarut dan suhu yang digunakan, serta penggunaan energi yang lebih rendah (Sun *et al.*, 2013; Rassem *et al.*, 2016). Oleoresin merupakan bentuk ekstrak rempah yang mempunyai karakter *flavor* yang lengkap dan di dalamnya terkandung komponen-komponen utama pembentuk *flavor* yang berupa senyawa mudah menguap (minyak atsiri) dan senyawa tidak mudah menguap (resin dan gum) yang masing-masing berperan dalam menentukan aroma dan rasa (Raghavan, 2007). Menurut (Kawiji *et al.*, 2009) waktu ekstraksi yang lama akan menyebabkan komponen volatil dalam oleoresin seperti minyak atsiri menguap dan teroksidasi yang dapat menyebabkan bau tengik.

Untuk mencegah komponen volatil dalam oleoresin menguap dan rusak karena teroksidasi, perlu dilakukan enkapsulasi. Enkapsulasi adalah proses penyalutan bahan-bahan inti yang berbentuk cair atau padat dengan menggunakan suatu bahan penyalut khusus yang membuat partikel-partikel inti memiliki sifat fisika dan kimia seperti yang dikehendaki. Enkapsulasi dilakukan agar bahan cair seperti oleoresin dapat diubah dan dihasilkan produk yang kering serta dapat melindungi bahan tersebut dari penguapan, oksidasi, dan reaksi kimia (Rosenberg *et al.*, 1990).

Salah satu metode enkapsulasi yang digunakan adalah kristalisasi. Kristalisasi merupakan suatu pembetukan partikel padatan di dalam sebuah fase homogen yang telah mencapai kondisi supersaturasi (Fachry *et al.*, 2008). Kristalisasi juga meningkatkan stabilitas dari bahan enkapsulatnya (Sardar & Singhal, 2013; López-Córdoba *et al.*, 2014). Menurut Antara (1994) dalam Chandrayani (2002), salah satu jenis bahan penyalut yang digunakan dalam proses enkapsulasi adalah sukrosa karena bahan tersebut mempunyai sifat sangat mudah mengkristal. Sukrosa juga diakui dapat memperpanjang umur simpan makanan dan dapat diterima konsumen (Nicol, 1980 dalam Chandrayani, 2002).

Response Surface Methodology (RSM) merupakan metode yang digunakan untuk mengevaluasi signifikansi dari beberapa faktor yang memiliki interaksi kompleks (Bai *et al.*, 2014). Metode *respond surface* yang paling terkenal adalah *Composite Central Design* (CCD). CCD dapat memungkinkan untuk membuat model statistik dan representasi dalam bentuk grafis serta *respond surface*. Metode ini berguna untuk memprediksi nilai optimal dari respon serta memberikan informasi interaksi antar variabel independen dan kaitannya dengan variabel dependen (Yousefi *et al.*, 2016).

4.1. Kadar Air

Hipotesa awal menyebutkan bahwa semakin banyak penambahan oleoresin biji pala, maka kadar air semakin rendah dan tidak signifikan. Hal ini disebabkan karena meningkatnya kandungan padatan dari ekstrak pada hasil akhir pengujian kadar air (Sarabandi *et al.*, 2018). Oleoresin mengandung senyawa mudah menguap (minyak atsiri) dan senyawa tidak mudah menguap (resin dan gum) (Raghavan, 2007) yang tidak terhitung sebagai air, sehingga tidak mempengaruhi hasil kadar air. Hipotesa ini didukung oleh Grafik 1 ditunjukkan bahwa perlakuan penambahan oleoresin secara linear merupakan perlakuan yang berpengaruh terhadap kadar air secara negatif namun tidak signifikan. Berpengaruh secara negatif berarti semakin banyak penambahan oleoresin, kadar air semakin menurun. Data yang diperoleh sesuai dengan hipotesa.

Pada Gambar 1, 2, dan 3 ditunjukkan hasil kadar air dalam rentang 2,000-3,500%. Hasil ini menunjukkan bahwa pada penelitian masih terdapat sampel yang memiliki kadar air

melebihi dari standar SNI 01-4320-1996 tentang serbuk minuman tradisional yaitu kadar air maksimal 3,000%. Untuk sampel pada titik optimal, yaitu pada nomor sampel 15,16, dan 17 di Tabel 2 menunjukkan kadar air lebih dari 3,000% pada *batch* 1 (5,030%; 4,380%; 4,580%), namun kurang dari 3% pada *batch* 2 (2,310%; 2,50%; 2,510%). Pada Tabel 5 menunjukkan *predicted value* untuk kadar air di 3,605 % bila menggunakan formula sesuai dengan *critical values*, namun *predicted value* ini juga masih melewati standar SNI. Kadar air optimal tercapai jika dengan menggunakan formula optimal pada *critical values* dapat menghasilkan kadar air paling rendah atau masih dalam batas standar yang berlaku, sehingga kadar air tidak bisa menggunakan optimasi RSM.

4.2. Aktivitas Air (a_w)

Aktivitas air atau a_w didefinisikan sebagai total air bebas. Air bebas mendukung pertumbuhan mikroba, reaksi kimia dan enzimatis, serta kerusakan pada pangan (Safefood 360, Inc. 2014). Hipotesa awal menyebutkan bahwa semakin banyak penambahan oleoresin biji pala, maka a_w semakin rendah dan signifikan. Hal ini disebabkan karena meningkatnya kandungan padatan dari ekstrak pada hasil akhir pengujian (Sarabandi *et al.*, 2018). Oleoresin mengandung senyawa mudah menguap (minyak atsiri) dan senyawa tidak mudah menguap (resin dan gum) (Raghavan, 2007) yang bukan merupakan air, sehingga tidak menambah jumlah air khususnya air bebas. Hipotesa ini didukung dengan Grafik 2 bahwa perlakuan penambahan oleoresin secara linear merupakan perlakuan paling berpengaruh secara signifikan dan negatif terhadap a_w . Berpengaruh secara negatif berarti penambahan oleoresin mengakibatkan penurunan nilai a_w . Hasil ANOVA pada Tabel 5 menunjukkan bahwa perlakuan penambahan oleoresin secara linear serta interaksi antara perlakuan penambahan oleoresin dan air secara linear signifikan. Data yang signifikan menunjukkan bahwa perlakuan tersebut mempengaruhi a_w . Data penelitian sesuai dengan hipotesa.

Pada Gambar 4 menunjukkan rentang a_w akibat pengaruh penambahan oleoresin dan sukrosa antara 0,650-0,850. Gambar 5 menunjukkan rentang a_w akibat pengaruh penambahan oleoresin dan air antara 0,650-0,850. Gambar 6 menunjukkan rentang a_w akibat pengaruh penambahan sukrosa dan air antara 0,710-0,810. Dari Gambar 4, 5, dan

6, sampel secara keseluruhan memiliki rentang a_w 0,650-0,850. Berdasarkan Tabel 1, kelompok mikroorganisme sebagian besar kapang, bakteri *halophilic*, kapang *xerophilic*, *yeasts osmophilic* memiliki potensi untuk berkembang pada sampel.

Pada Tabel 7 menunjukkan *predicted value* nilai a_w yang akan dicapai sebesar 0,745 bila menggunakan formula sesuai dengan *critical values*. *Predicted value* ini membuat hasil enkapsulasi berpotensi bagi kapang *xerophilic* dan *yeasts osmophilic* untuk berkembang pada sampel. *Predicted value* a_w ini cukup tinggi yang dapat berpotensi meningkatkan terjadinya reenapsulasi (Whorton dan Reineccius, 1995 dalam Desmawarni, 2007). Nilai a_w yang tinggi akan menyebabkan molekul-molekul air yang berada di sekitar produk *flavor* terenapsulasi berpenetrasi ke dalam partikel-partikel matriks. Produk *flavor* terenapsulasi mengalami hidrasi. Permukaan dinding matriks menjadi “*stress*” dan membentuk kerak. Kondisi seperti ini disebut sebagai awal dari *collaps* yang menyebabkan stabilitas dan retensi *flavor* terenapsulasi menurun serta *flavor* terlepas dari dinding matriks. Partikel-partikel produk *flavor* terenapsulasi saling berdekatan dan teraglomerasi membentuk *fully collaps* dan berakhir dengan pelepasan komponen *flavor* atau reenapsulasi.

Persamaan fungsi respon untuk a_w yaitu $y = 1,564 - 0,069x_1 - 0,028x_2 - 0,005x_3 + 0,001x_1x_2 + 0,001x_1x_3 - 0,001x_2x_3 + 0,001x_1^2 + 0,000x_2^2 + 0,000x_3^2$. Nilai a_w optimal tercapai jika dengan menggunakan formula optimal pada *critical values* dapat menghasilkan a_w paling rendah, sehingga a_w tidak bisa menggunakan optimasi RSM.

4.3. Warna (L^*)

Menurut Pomeranz & Meloan (1994), nilai L^* atau *lightness* menunjukkan kecerahan dari sampel. Nilai L^* positif maka sampel berwarna terang (*light*), sedangkan nilai negatif menunjukkan warna gelap. Hipotesa awal menyebutkan bahwa semakin banyak penambahan oleoresin biji pala, maka nilai L^* semakin rendah dan tidak signifikan (Sarabandi *et al.*, 2018). Pada penelitian Sarabandi *et al.* (2018) mendapatkan nilai L^* yang semakin menurun seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak. Hipotesa ini juga didukung oleh Grafik 3 yang menunjukkan bahwa perlakuan penambahan oleoresin

secara linear merupakan perlakuan paling berpengaruh terhadap nilai L^* secara negatif namun tidak signifikan. Berpengaruh secara negatif berarti penambahan oleoresin mengakibatkan penurunan nilai L^* .

Gambar 7 menunjukkan rentang nilai L^* akibat pengaruh penambahan oleoresin dan sukrosa antara 40,000-80,000. Gambar 8 menunjukkan rentang nilai L^* akibat pengaruh penambahan oleoresin dan air antara 50,000-70,000. Gambar 9 menunjukkan rentang nilai L^* akibat pengaruh penambahan sukrosa dan air antara 50,000-80,000. Dari Gambar 7, 8, dan 9, sampel secara keseluruhan memiliki rentang 40,000-80,000 sehingga sampel dikategorikan cukup terang. Pada Tabel 9 menunjukkan *predicted value* nilai L^* yang akan dicapai sebesar 33,674 bila menggunakan formula sesuai dengan *critical values*.

4.4. Warna (a^*)

Menurut Pomeranz & Meloan (1994), nilai a^* menunjukkan kecenderungan warna merah (+) dan hijau (-). Hipotesa awal menyebutkan bahwa semakin banyak penambahan ekstrak, nilai a^* tidak berpengaruh secara signifikan (Sarabandi *et al.*, 2018). Hipotesa ini berbeda dengan Grafik 4 yang menunjukkan perlakuan penambahan oleoresin secara linear merupakan perlakuan paling berpengaruh terhadap nilai a^* secara signifikan dan positif. Berpengaruh secara positif berarti penambahan oleoresin mengakibatkan peningkatan nilai a^* . Hasil ANOVA pada Tabel 10 menunjukkan bahwa perlakuan penambahan oleoresin secara linear dan kuadratik signifikan. Data yang signifikan menunjukkan bahwa perlakuan tersebut mempengaruhi warna (a^*). Perlakuan kuadratik yang signifikan menunjukkan lengkung *surface response* semakin terbentuk. Perlakuan penambahan oleoresin secara kuadratik menyebabkan lengkung *surface response* semakin terbentuk. Data penelitian tidak sesuai dengan hipotesa awal.

Gambar 10 menunjukkan rentang nilai a^* akibat pengaruh penambahan oleoresin dan sukrosa antara 2-8. Gambar 11 menunjukkan rentang nilai a^* akibat pengaruh penambahan oleoresin dan air antara 2,000-8,000. Gambar 12 menunjukkan rentang nilai a^* akibat pengaruh penambahan sukrosa dan air antara 6,000-8,000. Dari Gambar 10, 11, dan 12, sampel secara keseluruhan memiliki rentang 2,000-8,000 sehingga sampel

dikategorikan memiliki warna yang cenderung ke merah. Pada Tabel 12 menunjukkan *predicted value* nilai a^* yang akan dicapai sebesar 9,068 bila menggunakan formula sesuai dengan *critical values*. Persamaan fungsi respon untuk a^* yaitu $y = -21,511 + 1,508x_1 + 0,739x_2 + 0,602x_3 - 0,008x_1x_2 - 0,013x_1x_3 - 0,012x_2x_3 - 0,027x_1^2 - 0,006x_2^2 - 0,000x_3^2$.

4.5. Warna (b^*)

Menurut Pomeranz & Meloan (1994), nilai b^* menunjukkan kecenderungan warna kuning (+) dan biru (-). Hipotesa awal menyebutkan bahwa semakin banyak penambahan oleoresin biji pala, maka nilai b^* semakin tinggi secara signifikan ($p < 0,05$) (Sarabandi *et al.*, 2018). Hipotesa ini didukung dengan Grafik 5 yang menunjukkan bahwa perlakuan penambahan oleoresin secara linear merupakan perlakuan paling berpengaruh terhadap nilai b^* secara signifikan dan positif. Berpengaruh secara positif berarti penambahan oleoresin mengakibatkan peningkatan nilai b^* . Hasil ANOVA pada Tabel 13 menunjukkan bahwa perlakuan penambahan oleoresin secara linear dan kuadratik signifikan. Data yang signifikan menunjukkan bahwa perlakuan tersebut mempengaruhi warna (b^*). Perlakuan kuadratik yang signifikan menunjukkan lengkung *surface response* semakin terbentuk. Perlakuan penambahan oleoresin secara kuadratik menyebabkan lengkung *surface response* semakin terbentuk. Data penelitian sesuai dengan hipotesa awal.

Gambar 13 menunjukkan rentang nilai b^* akibat pengaruh penambahan oleoresin dan sukrosa antara 12,000-20,000. Gambar 14 menunjukkan rentang nilai b^* akibat pengaruh penambahan oleoresin dan air antara 12,000-22,000. Gambar 15 menunjukkan rentang nilai b^* akibat pengaruh penambahan sukrosa dan air antara 20,000-21,000. Dari Gambar 13, 14, dan 15, sampel secara keseluruhan memiliki rentang 12,000-22,000 sehingga sampel dikategorikan memiliki warna yang cenderung ke kuning. Pada Tabel 17 menunjukkan *predicted value* nilai b^* yang akan dicapai sebesar 21,494 bila menggunakan formula sesuai dengan *critical values*. Persamaan fungsi respon untuk b^* yaitu $y = -1,020 + 1,123x_1 + 0,348x_2 + 0,567x_3 + 0,006x_1x_2 + 0,003x_1x_3 - 0,020x_2x_3 - 0,046x_1^2 + 0,000x_2^2 + 0,004x_3^2$.

4.6. Aktivitas Antioksidan

Hipotesa awal menyebutkan bahwa semakin banyak penambahan oleoresin biji pala, nilai aktivitas antioksidan semakin tinggi dan berpengaruh signifikan (Sarabandi *et al.*, 2018). Hipotesa ini didukung dengan Grafik 6 yang menunjukkan bahwa perlakuan penambahan oleoresin secara linear merupakan perlakuan paling berpengaruh secara signifikan dan positif terhadap aktivitas antioksidan. Berpengaruh secara positif berarti penambahan oleoresin mengakibatkan peningkatan nilai aktivitas antioksidan. Hasil ANOVA pada Tabel 16 menunjukkan bahwa perlakuan penambahan oleoresin secara linear dan kuadratik serta interaksi antara perlakuan penambahan sukrosa dan air signifikan. Data yang signifikan menunjukkan bahwa perlakuan tersebut mempengaruhi aktivitas antioksidan. Perlakuan kuadratik yang signifikan menunjukkan lengkung *surface response* semakin terbentuk. Perlakuan penambahan oleoresin secara kuadratik menyebabkan lengkung *surface response* semakin terbentuk. Data penelitian sesuai dengan hipotesa awal.

Gambar 16 menunjukkan rentang nilai aktivitas antioksidan akibat pengaruh penambahan oleoresin dan sukrosa antara 50,000-90,000%. Gambar 17 menunjukkan rentang nilai aktivitas antioksidan akibat pengaruh penambahan oleoresin dan air antara 50,000-90,000%. Gambar 18 menunjukkan rentang nilai aktivitas antioksidan akibat pengaruh penambahan sukrosa dan air antara 50,000-100,000%. Dari Gambar 16, 17, dan 18, sampel secara keseluruhan memiliki rentang 50,000-100,000%, yang berarti sampel pada perlakuan optimal memiliki nilai aktivitas antioksidan mendekati 100%. Pada Tabel 18 menunjukkan *predicted value* aktivitas antioksidan yang akan dicapai sebesar 96,477% bila menggunakan formula sesuai dengan *critical values*. Persamaan fungsi respon untuk aktivitas antioksidan yaitu $y = -203,172 + 13,913x_1 + 6,833x_2 + 8,755x_3 - 0,112x_1x_2 - 0,027x_1x_3 - 0,210x_2x_3 - 0,357x_1^2 - 0,016x_2^2 - 0,026x_3^2$.

4.7. Minyak Terperangkap

Hipotesa awal menyebutkan bahwa semakin banyak penambahan air, maka minyak terperangkap semakin rendah karena waktu evaporasi dan pembentukan kristal semakin lama (Fachry *et al.*, 2008). Waktu evaporasi yang semakin lama disebabkan karena kandungan air yang semakin banyak, sehingga perlu diuapkan terlebih dahulu untuk mencapai larutan dalam kondisi supersaturasi. Semakin lama kondisi supersaturasi tercapai, pembentukan kristal juga akan semakin lama tercapai. Hal ini menyebabkan oleoresin yang dituang pada larutan yang telah mencapai suhu 120°C masih melakukan penguapan sebelum akhirnya mengkristal. Hipotesa awal juga menyebutkan bahwa semakin banyak penambahan sukrosa, maka minyak terperangkap semakin tinggi karena penyalut yang semakin banyak dapat menyalut bahan lebih efektif dan melindungi dari kerusakan bahan oleh panas karena waktu kontak yang singkat (Masters, 1979 dalam Chandrayani, 2002). Hipotesa awal menyebutkan juga bahwa semakin banyak penambahan oleoresin, maka minyak terperangkap tidak terpengaruh signifikan (Sarabandi *et al.*, 2018).

Hipotesa awal ini didukung dengan Grafik 7 yang menunjukkan bahwa perlakuan penambahan sukrosa merupakan perlakuan berpengaruh secara linear, signifikan, dan positif terhadap minyak terperangkap. Sedangkan perlakuan penambahan oleoresin dan air secara linear tidak signifikan terhadap minyak terperangkap. Berpengaruh secara positif berarti perlakuan penambahan sukrosa mengakibatkan peningkatan nilai minyak terperangkap. Hasil ANOVA pada Tabel 19 menunjukkan bahwa perlakuan penambahan oleoresin secara kuadrat, penambahan sukrosa secara kuadrat dan linear, penambahan air secara kuadrat, serta interaksi antara perlakuan penambahan oleoresin dan sukrosa secara linear signifikan. Data yang signifikan menunjukkan bahwa perlakuan tersebut mempengaruhi minyak terperangkap. Perlakuan kuadrat yang signifikan menunjukkan lengkung *surface response* semakin terbentuk. Perlakuan penambahan oleoresin, sukrosa, dan air secara kuadrat menyebabkan lengkung *surface response* yang semakin terbentuk. Data penelitian tidak sesuai dengan hipotesa penambahan air dan oleoresin, namun sesuai dengan hipotesa penambahan sukrosa.

Gambar 19 menunjukkan rentang nilai minyak terperangkap akibat pengaruh penambahan oleoresin dan sukrosa antara 20,000-40,000%. Gambar 20 menunjukkan rentang nilai minyak terperangkap akibat pengaruh penambahan oleoresin dan air antara 35,000-45,000%. Gambar 21 menunjukkan rentang nilai minyak terperangkap akibat pengaruh penambahan sukrosa dan air antara 20,000-40,000%. Dari Gambar 19, 20, dan 21, sampel secara keseluruhan memiliki rentang 20,000-45,000%. Pada Tabel 19 menunjukkan *predicted value* minyak terperangkap yang akan dicapai sebesar 45,684% bila menggunakan formula sesuai dengan *critical values*. Pada penelitian Chandrayani (2002) tentang kristalisasi oleoresin biji pala diperoleh kadar minyak atsiri yang dihasilkan kapsul oleoresin dengan penambahan oleoresin berkisar antara 5,190% sampai 9,090%. Hal ini menunjukkan bahwa optimasi yang telah dilakukan telah terealisasi dengan memperoleh persentase minyak terperangkap 20,000-45,000%, di mana persentase ini lebih tinggi dibandingkan penelitian Chandayani (2002). Persamaan fungsi respon untuk minyak terperangkap yaitu $y = -313,921 - 0,020x_1 + 15,758x_2 + 7,559x_3 + 0,108x_1x_2 - 0,062x_1x_3 - 0,045x_2x_3 - 0,122x_1^2 - 0,221x_2^2 - 0,135x_3^2$. Minyak terperangkap merupakan parameter utama karena minyak terperangkap dapat menunjukkan efisiensi dari kristalisasi (Karadeniz *et al.*, 2018).

