

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

Jl. Pawiyatan Luhur IV/1 Bendan Duwur Semarang 50234
Telp. (024) 8441555,8505003 (ext.1461,1462), Fax.(024) 8445265
e-mail: lppm@unika.ac.id, lppm.unikasmg@gmail.com
http://www.unika.ac.id



SURAT TUGAS

Nomor : 00741/H.2/ST.LPPM/VII/2020

Kepala Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Katolik Soegijapranata Semarang dengan ini memberi tugas kepada :

- Nama : Dr. V. Kristina Anangningsih, ST.,MSc (Ketua)
Novita Ika Putri, S.TP, M.Sc. (Anggota)
Dr. Ir. Soedarini, MP (Anggota)
- Status : Dosen Tetap Universitas Katolik Soegijapranata Semarang
- Tugas : Penelitian Ristek Dikti tahun anggaran 2020 Skim Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi dengan judul "**Optimasi Proses Ekstraksi Ultrasonik dan Mikroenkapsulasi Oleoresin Biji Pala**"
- Waktu : 12 Maret – 22 Desember 2020
- Penyelenggara : Ristek-Dikti
- Lain-lain : Harap melaksanakan tugas dengan sebaik-baiknya dan penuh tanggung jawab serta memberikan laporan setelah selesai melaksanakan tugas.

Demikian surat tugas ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.



Semarang, 3 Juli 2020
Kepala LPPM

Dr. Berta Berti Retnawati, MSi
NPP.058.1.1998.219

PROTEKSI ISI LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian

LAPORAN KEMAJUAN PENELITIAN MULTI TAHUN

ID Proposal: 3c3f79b2-89bf-4270-a569-3683f1cd269c
Laporan Kemajuan Penelitian: tahun ke-1 dari 2 tahun

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

Optimasi Proses Ekstraksi Ultrasonik dan Mikroenkapsulasi Oleoresin Biji Pala

B. BIDANG, TEMA, TOPIK, DAN RUMPUN BIDANG ILMU

Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi	Tema	Topik (jika ada)	Rumpun Bidang Ilmu
Ketahanan Pangan	-	Peningkatan nilai tambah produk dan ketahanan pangan yang berbasis sumberdaya pertanian lokal	Teknologi Pangan dan Gizi

C. KATEGORI, SKEMA, SBK, TARGET TKT DAN LAMA PENELITIAN

Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan)	Skema Penelitian	Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan)	SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan)	Target Akhir TKT	Lama Penelitian (Tahun)
Penelitian Desentralisasi	Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi	SBK Riset Terapan	SBK Riset Terapan	6	2

2. IDENTITAS PENGUSUL

Nama, Peran	Perguruan Tinggi/ Institusi	Program Studi/ Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta	H-Index
V KRISTINA ANANINGSIH Ketua Pengusul	Universitas Katolik Soegijapranata	Teknologi Pangan		6011436	4
Dr SOEDARINI Anggota Pengusul 1	Universitas Katolik Soegijapranata	Teknologi Pangan		6004369	2
NOVITA IKA PUTRI S.TP, M.Sc. Anggota Pengusul	Universitas Katolik Soegijapranata	Teknologi Pangan		6184619	1

2					
---	--	--	--	--	--

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

Mitra	Nama Mitra
Mitra Pelaksana Penelitian	Dr. Agus Suryono, MM
Mitra Calon Pengguna	Dr. Agus Suryono, MM

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
1	Teknologi Tepat Guna	penerapan	

Luaran Tambahan

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
1	Publikasi Ilmiah Jurnal Nasional Terakreditasi	submitted	
1	Prosiding dalam pertemuan ilmiah Nasional	sudah terbit/sudah dilaksanakan	
1	Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional	submitted	
1	Prosiding dalam pertemuan ilmiah Internasional	sudah terbit/sudah dilaksanakan	
1	Hak Cipta	granted	

5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Edisi 12.

Total RAB 2 Tahun Rp. 391,640,000

Tahun 1 Total Rp. 200,670,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	2	2,500,000	5,000,000
Analisis Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	6	750,000	4,500,000
Analisis Data	Biaya konsumsi rapat	OH	8	250,000	2,000,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	150	250,000	37,500,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	1	37,500,000	37,500,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	1	34,970,000	34,970,000
Bahan	ATK	Paket	2	3,000,000	6,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Publikasi artikel di Jurnal Nasional	Paket	1	2,000,000	2,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Paket	1	7,500,000	7,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Luaran KI (paten, hak cipta dll)	Paket	1	2,000,000	2,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya penyusunan buku termasuk book chapter	Paket	1	5,000,000	5,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	2	7,500,000	15,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	2	12,500,000	25,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Uang harian rapat di luar kantor	OH	3	600,000	1,800,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	6	750,000	4,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Uang harian rapat di dalam kantor	OH	8	300,000	2,400,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya konsumsi rapat	OH	8	250,000	2,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	40	50,000	2,000,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	40	100,000	4,000,000

Tahun 2 Total Rp. 190,970,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	2	2,500,000	5,000,000
Analisis Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	6	750,000	4,500,000
Analisis Data	Biaya konsumsi rapat	OH	8	250,000	2,000,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	200	200,000	40,000,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	1	37,500,000	37,500,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	1	7,500,000	7,500,000
Bahan	ATK	Paket	2	2,000,000	4,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Publikasi artikel di Jurnal Nasional	Paket	1	2,000,000	2,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Paket	1	7,500,000	7,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Luaran KI (paten, hak cipta dll)	Paket	1	15,000,000	15,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya penyusunan buku termasuk book chapter	Paket	1	2,270,000	2,270,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	2	7,500,000	15,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	2	15,000,000	30,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Uang harian rapat di luar kantor	OH	3	600,000	1,800,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	6	750,000	4,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Uang harian rapat di dalam kantor	OH	8	300,000	2,400,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya konsumsi rapat	OH	8	250,000	2,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	40	50,000	2,000,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	40	100,000	4,000,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	1	2,000,000	2,000,000

6. KEMAJUAN PENELITIAN

A. RINGKASAN: Tuliskan secara ringkas latar belakang penelitian, tujuan dan tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, serta uraian TKT penelitian.

Biji pala banyak digunakan sebagai bumbu masakan khas Indonesia ataupun untuk memberikan rasa dan aroma yang khas karena kandungan oleoresin di dalamnya. Oleoresin biji pala dapat digunakan sebagai komponen penguat rasa dan aroma pada berbagai produk pangan, seperti minuman herbal, permen, es krim, cookies dan bumbu masakan. Oleoresin

biji pala juga bermanfaat bagi kesehatan tubuh karena mengandung antioksidan. Namun oleoresin biji pala mempunyai keterbatasan dalam hal kemudahan degradasi karena cahaya, udara, dan suhu selama penyimpanan, sehingga mempunyai umur simpan yang terbatas. Keterbatasan ini diharapkan dapat diminimalkan dengan ekstraksi dan mikroenkapsulasi oleoresin dalam bentuk mikrokapsul. Penelitian di tahun pertama ditujukan untuk mendapatkan optimasi kondisi proses ekstraksi oleoresin menggunakan ultrasound assisted extraction, yaitu penggunaan solvent (etanol dan n-hexan), suhu dan waktu ekstraksi, serta rasion bahan dengan solvent.

Perlakuan suhu, waktu dan rasio mempengaruhi hasil ekstraksi. Suhu terbaik ekstraksi pada suhu 50,10C selama 36,35 menit dengan menggunakan rasio 6,1 gram dalam 100 ml etanol. Pada hasil validasi %rendemen, perlakuan rasio sangat mempengaruhi hasil. Validasi %rendemen menunjukkan suhu terbaik ekstraksi pada suhu 51,30C selama 40,58 menit dengan rasio 7,1 gram dalam 100 ml etanol. Pada analisa total fenol, perlakuan rasio mempengaruhi. kandungan total fenol terbaik diperoleh pada suhu ekstraksi 48,80C selama 31,91 menit dengan rasio 14,46 gram dalam 100 ml etanol. Pada analisa aktivitas antioksidan, perlakuan rasio mempengaruhi. Senyawa antioksidan terbaik diperoleh pada suhu 42,090C selama 33,71 menit pada rasio 15,7 gram dalam 100 ml etanol. Kandungan senyawa yang banyak terkandung pada oleoresin yakni safrole, Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide, 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-(CAS), Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide, dan sabinene. Oleoresin pala dapat digunakan sebagai flavoring dan coloring pada makanan.

Nutmeg butter memiliki karakteristik yang semi solid, berwarna kekuningan, memiliki aroma dan rasa seperti pala, memiliki titik didih sekitar 45-510C, serta specific gravity sebesar 0,990. Perbedaan waktu dan rasio mempengaruhi hasil persen rendemen dari ekstraksi biji pala menggunakan pelarut n-heksan. Perbedaan suhu mempengaruhi hasil bilangan penyabunan dan bilangan ester dari lemak pala. Critical value untuk persen rendemen ada pada suhu 51,980C, waktu 36,97 menit dan rasio 30,63 gram dalam 100 ml pelarut heksan. Critical value untuk bilangan penyabunan akan ada pada suhu 44,740C, waktu 37,85 menit dan rasio 25,99 gram dalam 100 ml pelarut heksan. Critical value untuk bilangan asam akan ada pada suhu 45,380C, waktu 38,13 menit dan rasio 27,47 gram dalam 100 ml pelarut heksan. Critical value untuk bilangan ester akan ada pada suhu 44,790C, waktu 37,72 menit dan rasio 26,28 gram dalam 100 ml pelarut heksan.

TKT penelitian yang ditargetkan adalah 6 dengan maksud teknologi ekstraksi ultrasonik yang telah didapatkan di tahun pertama dapat diaplikasikan dengan rendemen produk yang tinggi dan kualitas produk yang baik.

B. KATA KUNCI: Tuliskan maksimal 5 kata kunci.

ekstraksi, ultrasound, oleoresin, biji pala, solvent

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

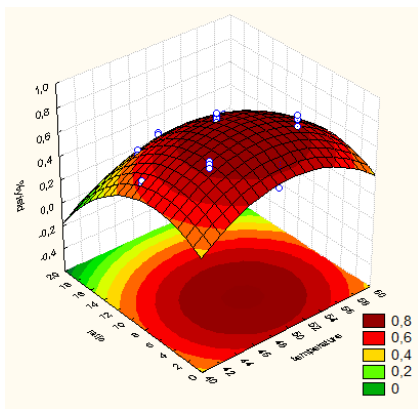
C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

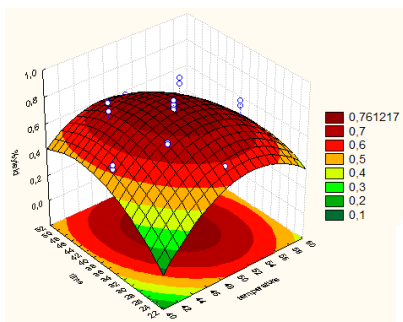
C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

C.1. Optimasi Kondisi Ekstraksi Ultrasonik Menggunakan Solvent Etanol

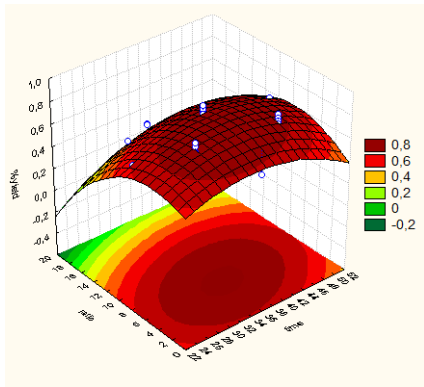
C.1.1 Persentase Rendemen



Gambar 1. Fitted Surface Pengaruh Suhu Rasio pada %Rendemen



Gambar 2. Fitted Surface Pengaruh Suhu Waktu pada %Rendemen



Gambar 3. Fitted Surface Pengaruh Waktu Rasio pada %Rendemen

Analisa persentase rendemen dihitung dengan menggunakan rumus. Rumus yang digunakan membagi hasil oleoresin dalam ml dengan berat awal sampel dalam gram lalu dikalikan 100%. (Anggraini et al., 2018). Pada analisa persentase rendemen ini ditampilkan dalam grafik 3 dimensi (Gambar 1, 2 dan 3). Grafik yang didapat berupa grafik perlakuan suhu dan rasio, suhu dan waktu, dan waktu dan rasio. Pada perlakuan ini terlihat grafik 3 dimensi membentuk grafik maksimum. Grafik maksimum sendiri menunjukkan bahwa titik maksimum berada dalam lingkup penelitian (Bezerra et al., 2008). Suhu, waktu, dan rasio sangat mempengaruhi hasil oleoresin. Suhu tinggi yang digunakan akan menaikkan efisiensi dari ekstraksi sehingga hasil yang didapat semakin banyak. Namun jika suhu terlalu tinggi proses ekstraksi tidak efisien (Charpe dan Rathod, 2016). Pada grafik suhu – waktu dan suhu – rasio terlihat suhu yang terlalu tinggi menurunkan hasil ekstraksi sehingga hasil yang didapat tidak optimal. Waktu ekstraksi juga sangat mempengaruhi hasil ekstraksi, jika semakin lama maka akan oleoresin yang didapat semakin banyak namun jika terlalu lama maka hasil akan menurun dikarenakan terjadinya penguapan (Bustan et al., 2008). Pada grafik suhu – waktu dan waktu – rasio memperlihatkan waktu paling lama yang digunakan menghasilkan hasil oleoresin yang lebih sedikit. hal ini menunjukkan bahwa adanya penguapan yang terjadi pada oleoresin. Selain itu, perlakuan rasio yang digunakan harus sesuai dengan jumlah pelarut yang digunakan. Rasio harus konstan antara bahan padat dengan solvent (Capelo-Martine, 2009). Pada grafik suhu – rasio dan waktu – rasio menunjukkan bahwa rasio tertinggi tidak menghasilkan oleoresin yang optimal. Rasio bubuk pala yang terlalu tinggi menyebabkan pelarut sulit untuk menarik semua senyawa oleoresin. Pada hasil analisa %rendemen menunjukkan bahwa pada hasil beberapa sampel ditunjukkan bahwa hasil oleoresin mencapai 82% tertinggi. Menurut Najib (2018), etanol bukan hanya melarutkan oleoresin melainkan juga senyawa lain yang terkandung dalam sampel, kemungkinan sampel ekstrak juga mengandung senyawa lain yang tidak diinginkan sehingga didapatkan hasil yang tinggi. Selain pengaruh dari pelarut, metode ekstraksi dengan sistem ultrasound-assited extraction juga berpengaruh. Pada tulisan Sani et al., (2014) rendemen yang tinggi ini diperoleh karena ada proses kavitasi saat gelombang ultrasonik memecah dinding sel. Kavitasi merupakan proses pembentukan gelembung-gelembung mikro (microbubbles) akibat peningkatan tekanan pada saat ekstraksi sebagai akibat dari adanya gelombang ultrasonik. Gelembung yang terbentuk tidak stabil sehingga mudah pecah ketika gelembung tersebut mencapai volume maksimal sehingga tidak mampu menyerap energi lagi. Efek mekanik dari metode ultrasound-assited extraction meningkatkan penetrasi pelarut kedalam sel bahan serta meningkatkan transfer massa (Sani et al., 2014). Pengotor yang terikut juga dapat meningkatkan hasil ekstraksi.

Tabel 1. Hasil Analisa ANOVA Pesentase Rendemen

Faktor	SS	Df	MS	F	P
Suhu (L)	0,000004	1	0,000004	0,00051	0,982243
Suhu (Q)	0,137165	1	0,137165	19,30765	0,000194
Waktu (L)	0,002362	1	0,002362	0,33248	0,569573
Waktu (Q)	0,060992	1	0,060992	8,58542	0,007323
Rasio (L)	0,510644	1	0,510644	71,87958	0,000000
Rasio (Q)	0,185105	1	0,185105	26,05589	0,000032
1L by 2L	0,018769	1	0,018769	2,64197	0,117136
1L by 3L	0,000009	1	0,000009	0,00127	0,971901
2L by 3L	0,015129	1	0,015129	2,12960	0,157445
Error	0,170500	24	0,007104		
Total SS	0,972148	33			

Uji ANOVA merupakan prosedur uji yang didasarkan pada penguraian total variabilitas dalam variabel respons. Uji ANOVA digunakan untuk menentukan hubungan linier antara respon variabel dan subset dari variabel regresi. Jika variabel tidak memberikan efek maka variabel tersebut tidak signifikan terhadap respon (Myers et al., 2009). ANOVA digunakan untuk menunjukkan variabel penting (Pambi dan Musonge, 2016). Pada hasil uji ANOVA (Tabel 1) dapat diketahui bahwa variabel yang sangat mempengaruhi yakni suhu, waktu, dan rasio. Hal ini membuktikan bahwa perubahan suhu dan rasio yang tidak sesuai akan mempengaruhi hasil akhir %rendemen.

Tabel 2. Hasil Analisa Regresi %Rendemen

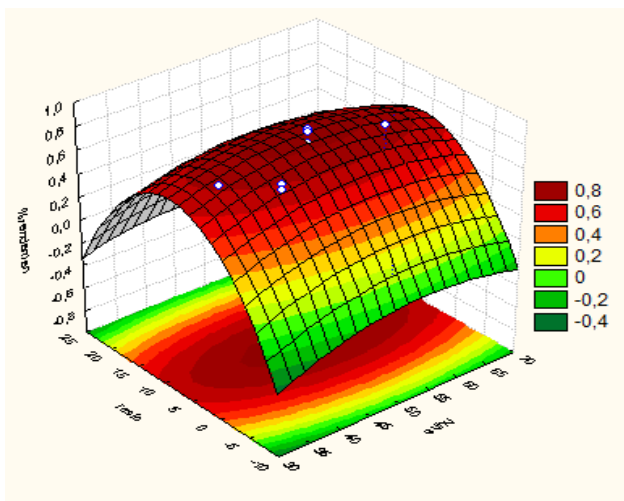
Faktor	Koefisien Regresi	p
Mean	-9,89020	0,000218
Suhu (L)	0,34647	0,000103
Suhu (Q)	-0,00312	0,000194
Waktu (L)	0,10805	0,007810
Waktu (Q)	-0,00092	0,007323
Rasio (L)	0,01589	0,750086
Rasio (Q)	-0,00362	0,000032
1L by 2L	-0,00091	0,117136
1L by 3L	-0,00003	0,971901
2L by 3L	0,00082	0,157445
R2	0,82462	

Pada RSM diperlukan pengembangan model perkiraan untuk permukaan respon yang sesungguhnya. Permukaan respon yang sesungguhnya didorong oleh beberapa mekanisme fisik yang tidak diketahui. Model aproksimasi didasarkan pada data yang diamati dari proses atau sistem yang disebut model empiris. Regresi merupakan kumpulan teknik statistik yang bermanfaat untuk membangun jenis empiris yang diperlukan RSM. Regresi membandingkan beberapa variabel independen sebagai variabel predator atau regresor (Myers et al., 2009). Regresi digunakan untuk mengetahui hubungan antar variabel. Pada analisa 3 variabel dengan RSM persamaan yang digunakan yakni $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{12}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{32}X_3^2$ (Lee et al., 2006). Tabel regresi yang diperoleh kemudian diolah menjadi persamaan regresi untuk analisa %rendemen. Persamaan yang didapat (Tabel 2) yakni $Y = -9,89020 + 0,34647X_1 + 0,10805X_2 + 0,01589X_3 - 0,00091X_1X_2 - 0,00003X_1X_3 + 0,00082X_2X_3 - 0,00312X_1^2 - 0,00092X_2^2 - 0,00362X_3^2$

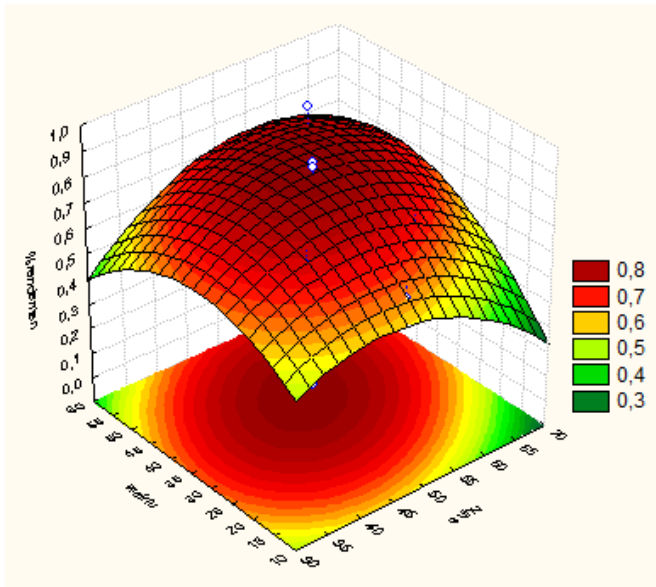
C.1.2 Validasi Pesentase Rendemen

Tabel 3. Hasil Analisa Validasi Persentase Rendemen

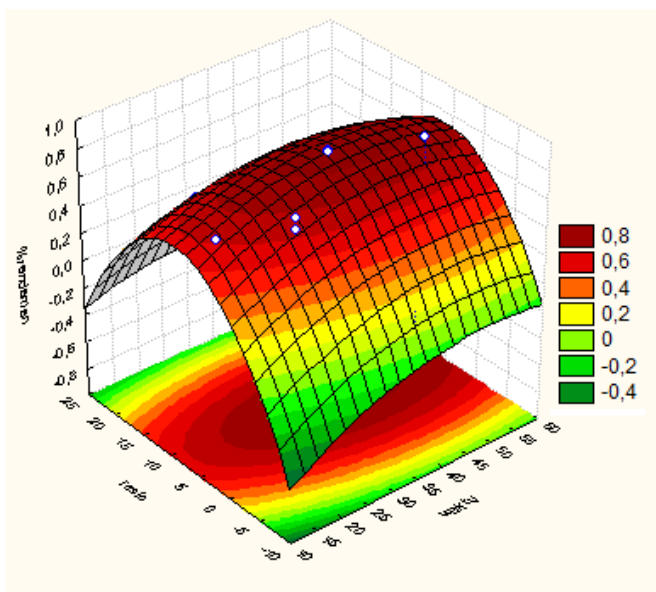
No	Suhu (oC)	Waktu (menit)	Rasio (gram)	%Rendemen (%)
1	42	24,9	1,6	71
2	42	24,9	18,4	38
3	42	50,1	1,6	67
4	42	50,1	18,4	38
5	58	24,9	1,6	63
6	58	24,9	18,4	40
7	58	50,1	1,6	88
8	58	50,1	18,4	31
9	36	36,4	6,1	69
10	64	36,4	6,1	65
11	50	15,1	6,1	59
12	50	57,6	6,1	66
13	50	36,4	-8,0	0
14	50	36,4	20,2	28
15	50	36,4	6,1	88
16	50	36,4	6,1	86
17	50	36,4	6,1	77



Gambar 4. Fitted Surface Pengaruh Suhu Rasio pada Validasi %Rendemen



Gambar 5. Fitted Surface Pengaruh Suhu Waktu pada Validasi %Rendemen



Gambar 6. Fitted Surface Pengaruh Waktu Rasio pada Validasi %Rendemen

Validasi kondisi proses terbaik ekstraksi untuk mendapatkan hasil yang tinggi dilakukan berdasarkan prediksi titik optimum. Tujuan validasi adalah untuk mengetahui ketepatan prediksi terhadap model persamaan kuadrat yang diperoleh (Yeni et al., 2014). Data validasi digunakan untuk membuktikan data hasil analisa RSM merupakan data yang benar. Hasil analisa RSM (Grafik 4,5 dan 6) menunjukkan kondisi optimum untuk memperoleh %Rendemen terbaik yakni pada suhu pada suhu 50,4 oC selama 38,6 menit dengan rasio 5,11 gram dalam 100 ml etanol. Pada analisa RSM juga ditunjukkan kondisi diatas dan dibawah kondisi optimum. Pada kondisi atas ditentukan pada suhu 41,59 oC selama 24,89 menit dengan rasio 1,59 gram dan kondisi bawah pada suhu 58,41 oC selama 50,11 menit dengan rasio 18,41 gram. Kondisi yang diperoleh kemudian di analisa RSM kembali untuk menentukan

perlakuan pada data validasi. Pada hasil analisa fitted surface terlihat grafik membentuk grafik maksimum, yang menunjukkan bahwa titik optimum berada dalam grafik (Bezerra et al., 2008).

Tabel 4. Hasil Analisa ANOVA Validasi %Rendemen

Faktor	SS	df	MS	F	P
Suhu (L)	0,000039	1	0,000039	0,00355	0,954149
Suhu (Q)	0,013950	1	0,013950	1,27811	0,295493
Waktu (L)	0,001119	1	0,001119	0,10252	0,758172
Waktu (Q)	0,030585	1	0,030585	2,80214	0,138052
Rasio (L)	0,317781	1	0,317781	29,11451	0,001013
Rasio (Q)	0,782042	1	0,782042	71,64929	0,000063
1L by 2L	0,005406	1	0,005406	0,49528	0,504310
1L by 3L	0,002652	1	0,002652	0,24295	0,637166
2L by 3L	0,010263	1	0,010263	0,94029	0,364507
Error	0,076404	7	0,010915		
Total SS	0,994027	16			

ANOVA digunakan untuk menunjukkan variabel penting (Pambi dan Musonge, 2016). Pada hasil ANOVA (Tabel 4) ditampilkan hasil perlakuan rasio yang signifikan. Regresi membandingkan beberapa variabel independen sebagai variabel predador atau regresor (Myers et al., 2009). Hasil analisa regresi menunjukkan bahwa rasio yang mempengaruhi hasil validasi %Rendemen.

Tabel 5. Hasil Analisa Regresi Pada Validasi %Rendemen

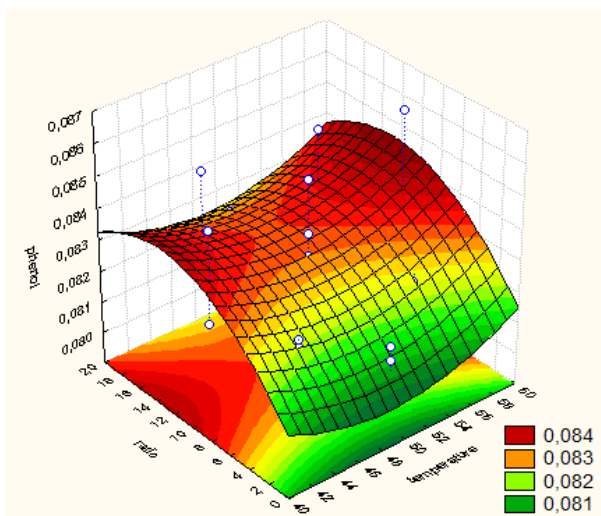
Faktor	Koefisien Regresi	p
Mean	-0,829405	0,564095
Suhu (L)	0,042653	0,385510
Suhu (Q)	-0,000496	0,295493
Waktu (L)	0,016116	0,503402
Waktu (Q)	-0,000325	0,138052
Rasio (L)	0,073155	0,039248
Rasio (Q)	-0,003360	0,000063

1L by 2L	0,000245	0,504310
1L by 3L	-0,000247	0,637166
2L by 3L	-0,000323	0,364507
R2	0,92314	

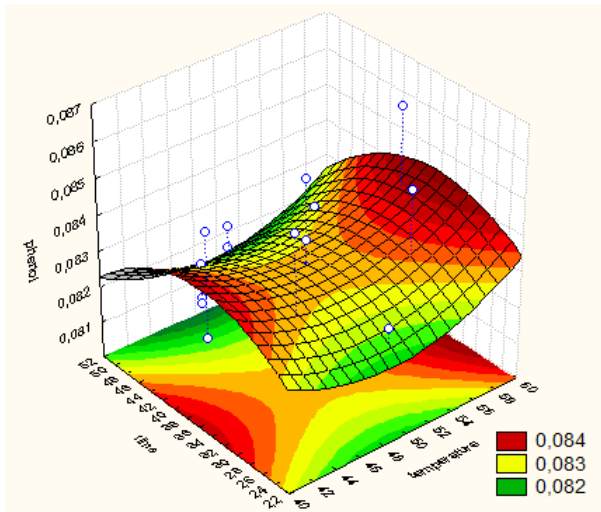
Regresi digunakan untuk mengetahui hubungan antar variabel. Pada analisa 3 variabel dengan RSM (Tabel 5) persamaan yang digunakan yakni $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{12}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{32}X_3^2$ (Lee et al., 2006). $Y = -0,829405 + 0,042653X_1 + 0,016116X_2 + 0,073155X_3 + 0,000245X_1X_2 - 0,000247X_1X_3 - 0,000323X_2X_3 - 0,000496X_1^2 - 0,000325X_2^2 - 0,003360X_3^2$

C.1.3 Total Fenol

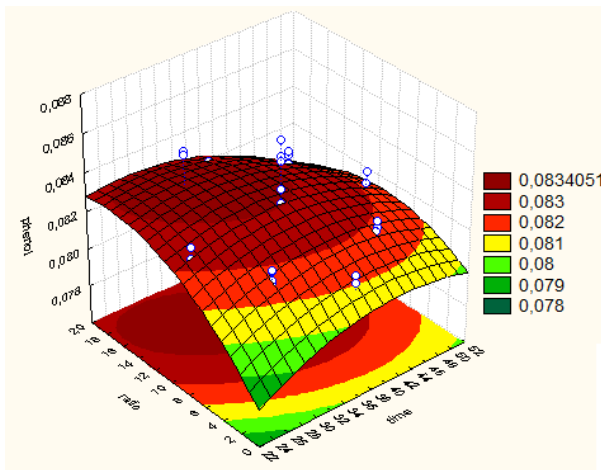
Pengujian aktivitas total fenol merupakan dasar pengujian aktivitas antioksidan, karena senyawa fenolik mampu untuk mencegah terjadinya proses oksidasi. Pengukuran total antioksidan bahan pangan dapat dilakukan dengan mengukur kadar total fenolik menggunakan reagen Folin-ciocalteau. Uji total fenol digunakan untuk menentukan total senyawa fenolik yang terkandung di dalam sampel, sehingga bila kandungan senyawa fenolik di dalam sampel tinggi maka aktivitas antioksidannya akan tinggi. Analisis ini menggunakan kurva standar asam galat sebagai pembanding (Djapiala et al., 2013). Senyawa fenol berkontribusi secara langsung terhadap aktivitas antioksidan. Korelasi positif antara aktivitas antioksidan dan total fenolik berasal dari efektivitas donor hidrogen dalam senyawa fenol. Ada hubungan antara kemampuan senyawa fenol sebagai antioksidan dan struktur kimianya. Konfigurasi dan total gugus hidroksil merupakan dasar yang sangat mempengaruhi mekanisme aktivitasnya sebagai antioksidan. Terdapat korelasi positif antara aktivitas antioksidan dengan kandungan senyawa polifenol. Senyawa fenol merupakan senyawa yang bersifat antioksidan (Ibrahim et al., 2015). Senyawa antioksidan sendiri tidak tahan terhadap suhu panas dan akan rusak saat terkena panas (Sie, 2013).



Gambar 7. Fitted Surface Pengaruh Suhu Rasio pada Analisa Fenol



Gambar 8. Fitted Surface Pengaruh Suhu Waktu pada Analisa Fenol



Gambar 9. Fitted Surface Pengaruh Waktu Rasio pada Analisa Fenol

Grafik analisa fenol yang ditampilkan merupakan respon fenol terhadap perlakuan suhu, waktu, dan rasio (Gambar 7,8,9). Pada grafik suhu – rasio dan suhu – waktu membentuk grafik saddle. Pada perlakuan waktu – rasio grafik yang terbentuk yakni maksimum namun bentuknya tidak maksimal. Pada grafik suhu – rasio terlihat kadar fenol tertinggi didapat pada suhu rendah pada rasio optimal dan suhu tinggi rasio optimal. Pada grafik suhu – waktu kadar fenol tertinggi terlihat pada suhu tinggi waktu optimal. Kadar fenol tertinggi tidak terdapat pada suhu dan waktu tinggi secara bersamaan. Hal ini disebabkan karena senyawa fenol merupakan senyawa yang bersifat antioksidan (Ibrahim et al., 2015). Senyawa antioksidan sendiri tidak tahan terhadap suhu panas dan akan rusak saat terkena panas (Sie, 2013). Ketika fenol pada keadaan suhu tinggi dan waktu lama maka akan rusak.

Tabel 6. Hasil Analisa ANOVA pada Total Fenol

Faktor	SS	df	MS	F	P
Suhu (L)	0,000000	1	0,000000	0,306804	0,584772
Suhu (Q)	0,000002	1	0,000002	1,293142	0,266696
Waktu (L)	0,000001	1	0,000001	1,121740	0,300088
Waktu (Q)	0,000003	1	0,000003	2,124084	0,157961
Rasio (L)	0,000008	1	0,000008	6,999335	0,014161
Rasio (Q)	0,000004	1	0,000004	3,704537	0,066198
1L by 2L	0,000000	1	0,000000	0,003734	0,951777
1L by 3L	0,000000	1	0,000000	0,000093	0,992368
2L by 3L	0,000002	1	0,000002	1,342999	0,257907
Error	0,000028	24	0,000001		
Total SS	0,000050	33			

Uji ANOVA ini digunakan untuk menentukan hubungan linier antara respon variabel dan subset dari variabel regresi. Jika variabel tidak memberikan efek maka variabel tersebut tidak signifikan terhadap respon (Myers et al., 2009). ANOVA digunakan untuk menunjukkan variabel penting (Pambi dan Musonge, 2016). Pada Tabel 6 ditunjukkan bahwa rasio yang digunakan signifikan sehingga rasio sangat mempengaruhi hasil fenol. Perbandingan bubuk pala dengan pelarut harus sesuai agar didapat kondisi fenol yang optimal.

Tabel 7. Hasil Analisa Regresi Fenol

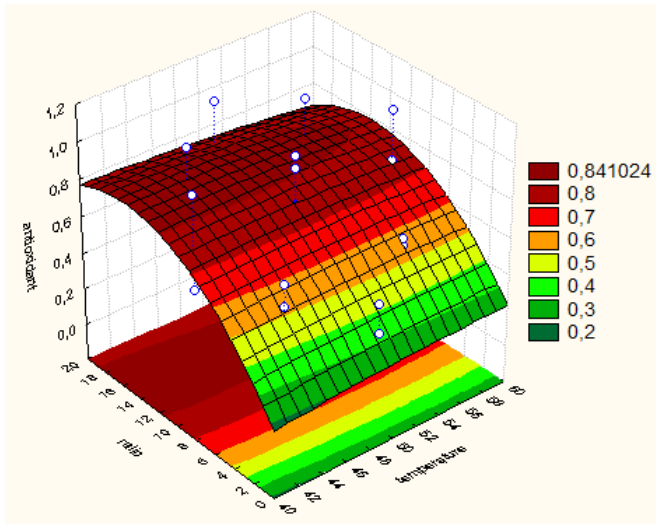
Faktor	Koefisien Regresi	P
Mean	0,093839	0,003897
Suhu (L)	-0,001002	0,308764
Suhu (Q)	0,000010	0,266696
Waktu (L)	0,000522	0,288051
Waktu (Q)	-0,000006	0,157961
Rasio (L)	0,000784	0,230373
Rasio (Q)	-0,000018	0,066198
1L by 2L	0,000000	0,951777

1L by 3L	0,000000	0,992368
2L by 3L	-0,000008	0,257907
R2	0,43601	
R2	0,436010	

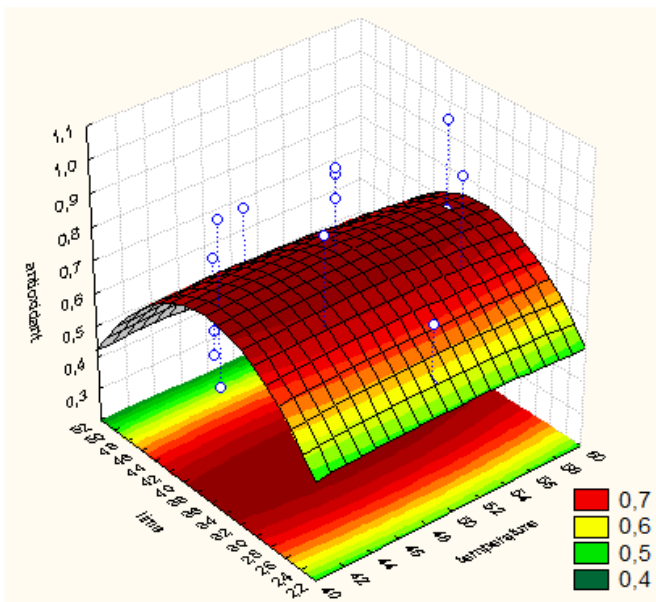
Regresi merupakan kumpulan teknik statistik yang bermanfaat untuk membangun jenis empiris yang diperlukan RSM. Regresi membandingkan beberapa variabel independen sebagai variabel predator atau regresor (Myers et al., 2009). Regresi digunakan untuk mengetahui hubungan antar variabel. Pada analisa 3 variabel dengan RSM persamaan yang digunakan (Tabel 7) yakni $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{12}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{32}X_3^2$ (Lee et al., 2006). Persamaan total fenolik yang diperoleh yakni $Y = 0,093839 - 0,001002X_1 + 0,000522X_2 + 0,000784X_3 + - 0,000008X_2X_3 + 0,000010X_1^2 - 0,000006X_2^2 - 0,000018X_3^2$

C.1.4 Antioksidan

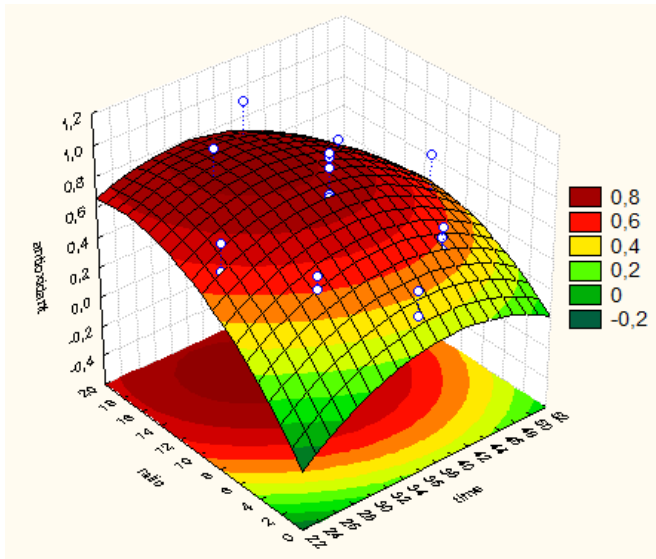
Senyawa fenol berkontribusi secara langsung terhadap aktivitas antioksidan. Korelasi positif antara aktivitas antioksidan dan total fenolik berasal dari efektivitas donor hidrogen dalam senyawa fenol. Ada hubungan antara kemampuan senyawa fenol sebagai antioksidan dan struktur kimianya. Konfigurasi dan total gugus hidroksil merupakan dasar yang sangat mempengaruhi mekanisme aktivitasnya sebagai antioksidan. Terdapat korelasi positif antara aktivitas antioksidan dengan kandungan senyawa polifenol. Senyawa fenol merupakan senyawa yang bersifat antioksidan (Ibrahim et al., 2015). Senyawa antioksidan sendiri tidak tahan terhadap suhu panas dan akan rusak saat terkena panas (Sie, 2013). Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan persen penghambatan (Purwanto et al., 2014). DPPH merupakan komponen radikal bebas sintetis dan bersifat stabil. DPPH dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam sampel. DPPH dalam larutan metanol akan memberikan efek warna ungu yang dapat diukur intensitasnya pada panjang gelombang 515-517 nm. Aktivitas antioksidan diukur melalui besarnya penurunan intensitas warna ungu larutan DPPH setelah ditambahkan komponen antioksidan. Aktivitas antioksidan tersebut dinyatakan sebagai aktivitas penangkapan radikal DPPH atau aktivitas antiradikal DPPH (Rauf et al., 2011). Pada pengujian ini, sampel yang digunakan yakni larutan sampel untuk analisa fenol. Larutan hasil penyaringan dalam uji fenol (1000 ppm) diturunkan terlebih dahulu menjadi 100 ppm. Larutan sampel diambil 1 ml dan ditambahkan dengan 9 ml larutan DPPH. Campuran kemudian diinkubasi selama 1 jam dalam ruang gelap. Kemudian campuran diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Pada pengujian ini dibutuhkan blanko. Blanko yang digunakan terdiri dari metanol dan larutan DPPH tanpa melalui proses inkubasi. Hasil spektrofotometri yang diperoleh kemudian dihitung dengan mengurangi absorbansi blanko dengan absorbansi sampel kemudian dibagi absorbansi blanko dan dikali 100% (Rauf et al., 2011; Gulcin, 2005).



Gambar 10. Fitted Surface Pengaruh Suhu Rasio pada Aktivitas Antioksidan



Gambar 11. Fitted Surface Pengaruh Suhu Waktu pada Aktivitas Antioksidan



Gambar 12. Fitted Surface Pengaruh Waktu Rasio pada Aktivitas Antioksidan

Pada grafik aktivitas antioksidan ditunjukkan bahwa perlakuan suhu - rasio dan suhu - waktu membentuk grafik plateau sedangkan pada perlakuan waktu - rasio terlihat membentuk gunung meskipun tidak sempurna (Gambar 10,11,12). Grafik plateau menunjukkan variabel yang tidak mempengaruhi (Bezerra et al., 2008). Grafik (a) menunjukkan pada rasio tinggi dalam keadaan semua suhu memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Pada grafik (b) menunjukkan pada waktu optimal dalam keadaan semua suhu memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Senyawa antioksidan tidak tahan terhadap suhu panas dan akan rusak saat terkena panas (Sie, 2013). Hasil analisa ini tidak sesuai akibat terjadinya eror akibat faktor eksternal seperti larutan DPPH yang digunakan sudah tidak stabil. Larutan DPPH sangat peka terhadap cahaya (Hasanah et al., 2017). Larutan DPPH yang digunakan kemungkinan sempat terpapar oleh cahaya sehingga aktivitasnya menurun. Pada grafik waktu – rasio terlihat membentuk grafik maksimum namun tidak sempurna. grafik maksimum menunjukkan bahwa titik optimal terdapat dalam skala penelitian sehingga dapat ditentukan titik optimal nya (Bezerra et al., 2008).

Tabel 8. Hasil Analisa ANOVA Aktivitas Antioksidan

Faktor	SS	df	MS	F	p
Suhu (L)	0,000508	1	0,000508	0,01641	0,899124
Suhu (Q)	0,000434	1	0,000434	0,01401	0,906748
Waktu (L)	0,031569	1	0,031569	1,02057	0,322461
Waktu (Q)	0,128914	1	0,128914	4,16755	0,052347
Rasio (L)	0,469723	1	0,469723	15,18521	0,000684
Rasio (Q)	0,120636	1	0,120636	3,89992	0,059900
1L by 2L	0,000100	1	0,000100	0,00323	0,955140
1L by 3L	0,001442	1	0,001442	0,04663	0,830857
2L by 3L	0,026415	1	0,026415	0,85395	0,364635
Error	0,742390	24	0,030933		
Total SS	1,487571	33			

ANOVA digunakan untuk menunjukkan variabel penting (Pambi dan Musonge, 2016). Pada hasil ANOVA (Tabel 8) terlihat bahwa rasio yang signifikan ditunjukkan melalui warna merah. Pada analisa ini seharusnya suhu yang menunjukkan signifikansi karena antioksidan tidak tahan terhadap panas (Sie, 2013). Namun hasil yang didapat rasio yang signifikan. Hasil ekstraksi sendiri dipengaruhi oleh rasio sampel (Capelo-Martine, 2009). Hal ini kemungkinan terjadi disebabkan saat bubuk pala yang digunakan semakin banyak maka kandungan antioksidan yang tertarik semakin besar sehingga ketika dianalisa menghasilkan data yang signifikan.

Tabel 9. Hasil Analisa Regresi Aktivitas Antioksidan

Faktor	Koefisien Regresi	P
Mean	-2,61946	0,586139
Suhu (L)	0,02297	0,883916
Suhu (Q)	-0,00018	0,906748
Waktu (L)	0,11045	0,167896
Waktu (Q)	-0,00134	0,052347
Rasio (L)	0,14437	0,173456
Rasio (Q)	-0,00293	0,059900
1L by 2L	-0,00007	0,955140

1L by 3L	-0,00038	0,830857
2L by 3L	-0,00108	0,364635
R2	0,50094	

Regresi merupakan kumpulan teknik statistik yang bermanfaat untuk membangun jenis empiris yang diperlukan RSM. Regresi membandingkan beberapa variabel independen sebagai variabel predator atau regresor (Myers et al., 2009). Regresi digunakan untuk mengetahui hubungan antar variabel. Pada analisa 3 variabel dengan RSM persamaan yang digunakan (Tabel 9) yakni $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{12}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{32}X_3^2$ (Lee et al., 2006). Persamaan regresi aktivitas antioksidan yang diperoleh yakni $Y = -2,61946 + 0,02297X_1 + 0,11045X_2 + 0,14437X_3 - 0,00007X_1X_2 - 0,00038X_1X_3 - 0,00108X_2X_3 - 0,00018X_1^2 - 0,00134X_2^2 - 0,00293X_3^2$

C.1.5 Critical Value

Critical value ditentukan melalui grafik 3 dimensi yang diperoleh melalui hasil analisa RSM. Critical value diperoleh dari fungsi polinomial untuk memperoleh persamaan kuadrat. Critical value dapat diperoleh jika grafik berbentuk maksimum, minimum, dan saddle. Critical point diperoleh melalui derivasi pertama dari fungsi matematika yang menggambarkan permukaan respons dan menyamakan hingga nol (Bezerra et al., 2008).

Pada hasil analisa %rendemen grafik 3 dimensi yang ditampilkan berbentuk maksimum pada semua perlakuan. Bentuk grafik 3 dimensi yang maksimum menunjukkan titik optimal berada dalam lingkup penelitian (Bezerra et al., 2008). Pada analisa ANOVA terlihat variabel yang signifikan yakni variabel suhu dan rasio. Hasil analisa critical values menunjukkan suhu, waktu, dan rasio optimal. Suhu terbaik pada suhu 50,4oC selama 38,6 menit dengan rasio 5,11 gram dalam 100 ml etanol. Pada hasil analisa validasi %rendemen grafik 3 dimensi yang ditampilkan berbentuk maksimum pada semua perlakuan. Bentuk grafik 3 dimensi yang maksimum menunjukkan titik optimal berada dalam lingkup penelitian (Bezerra et al., 2008). Pada analisa ANOVA terlihat variabel yang signifikan yakni variabel rasio. Hasil analisa critical values menunjukkan suhu, waktu, dan rasio optimal. Suhu terbaik ekstraksi pada suhu 51,3oC. Waktu terbaik ekstraksi selama 40,58 menit. Rasio terbaik ekstraksi dengan menggunakan bubuk pala sebanyak 7,1 gram dalam 100 ml etanol. Pada hasil data validasi, data critical values pada semua variabel yang didapat mendekati hasil analisa RSM awal sehingga data yang diperoleh baik.

Pada hasil analisa fenol terlihat grafik 3 dimensi yang terbentuk saddle dan maksimum. Pada grafik saddle terdapat titik refleksi antara minimum relatif dan maksimum relatif. Pada grafik saddle sulit untuk menentukan titik optimal. Pada grafik maksimum titik optimal berada dalam lingkup penelitian (Bezerra et al., 2008). Pada hasil ANOVA terlihat variabel rasio yang memberikan pengaruh pada hasil fenol. Hasil analisa critical values menunjukkan suhu, waktu, dan rasio optimal. Suhu terbaik pada suhu 48,8oC selama 31,91 menit dengan rasio 14,46 gram dalam 100 ml etanol. Pada hasil analisa antioksidan menunjukkan grafik 3 dimensi plateau dan maksimum. Pada grafik plateau menunjukkan bahwa variabel tidak menunjukkan hasil yang signifikan sehingga tidak terdapat titik optimal. Pada grafik maksimum titik optimal dapat ditentukan karena berada dalam lingkup

penelitian (Bezerra et al., 2008). Pada hasil ANOVA terlihat variabel rasio memberikan pengaruh terhadap hasil antioksidan. Hasil analisa critical values menunjukkan suhu, waktu, dan rasio optimal. Suhu terbaik pada suhu 42,09oC selama 33,71 menit dengan rasio 15,7 gram dalam 100 ml etanol.

C.1.6 Analisa GC-MS (Gas Chromatography Mass Spectrometry)

Tabel 10. Hasil Analisa GC-MS Oleoresin Pala

No	Area%	Nama Senyawa
1	1,84	Ethanol
2	0,76	α -Thujene
3	2,14	β -Phellandrene
4	0,63	γ -Terpinene
5	3,96	trans Sabinene hydrate
6	3,34	trans Sabinene hydrate
7	0,66	Ether, p-menth-6-en-2-yl methyl
8	0,53	Ether, p-menth-6-en-2-yl methyl
9	8,56	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS)
10	0,83	α -Terpineol
11	39,8	1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenyl)- (CAS)
12	3,71	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)- (CAS)
13	2,32	Croweacin
14	4,38	cis-Asarone
15	0,51	Tetradecanoic acid, methyl ester (CAS)
16	0,5	d-Nerolidol
17	16,06	Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide
18	1,12	4'-Hydrazino-4-pentyl-2',3',5',6'-tetrafluorobiphenyl
19	1,1	Naphthalene, 1,1'-(1,10-decanediyl)bis[decahydro- (CAS)
20	7,26	Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide

Gas chromatography mass spectrometry digunakan untuk menganalisa senyawa volatil dalam suatu campuran. Senyawa akan melalui kapiler silika kemudian dianalisa senyawa yang terkandung berada pada suatu area (Hubschmann, 2015). Hasil analisa (Tabel 10) menunjukkan kandungan tertinggi

dalam oleoresin pala yakni 1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenyl)- (CAS), lalu diikuti Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide, 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS), Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide, dan trans Sabinene hydrate. Senyawa 1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenyl)- (CAS) memiliki nama lain safrole. Pada oleoresin pala terkandung Tetradecanoic acid, methyl ester (CAS) yang memiliki nama lain asam miristat. Biji pala (*Myristica fragrans*) mengandung penilpropana yang tersusun atas myristicin (50%-75%), safrole, eugenole, elernicin, dan THC / Trepene Hydrocarbon (α -pinene, limonene, dan p -cymene). Pala juga mengandung trepene alcohols, geraniol, borneol, linalool, dan trepineol dalam konsentrasi rendah (Wagner dan Bladt, 2011). Pada oleoresin pala yang terekstraksi menunjukkan kandungan safrole dan sabinene. Menurut Maya et al., (2004), ekstrak pala mengandung myristicin, elemicin, safrole, dan sabinene. Perbedaan biji pala yang digunakan akan mempengaruhi kandungan dalam biji pala. Kandungan myristicin yang rendah disebabkan myristicin larut pada pelarut non polar sedangkan pelarut etanol termasuk pelarut polar sehingga yang terekstrak sedikit (Peter, 2012). Myristicin sendiri bersifat sedikit larut etanol sehingga yang terlarut dalam oleoresin sedikit (PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Myristicin>).

C.2 Optimasi Kondisi Ekstraksi Ultrasonik Menggunakan Solvent n-Heksana (Kondisi Proses Kedua)

C.2.1 Rendemen

Biji pala memiliki nilai komersial yang tinggi bila diubah menjadi oleoresin (Nurdjannah et al., 2007). Minyak esensial pala memiliki warna kuning pucat dan biasa disebut myristica dengan kandungan sebesar 6,5%-16%. Komposisi dari minyak esensial tersebut adalah sabinene (15-50%), α -pinene (10-22%) dan β -pinene (7-18%), myrcene (0,7-3%), 1,8-cineole (1,5-3,5%), myristicin (0,5-13,5%), limonene (2,7-4,1%), safrole (0,1-3,2%), dan terpinen (0-11%). Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa pala yang diekstrak menggunakan pelarut n-heksana memiliki karakteristik berwarna kuning pucat, berbentuk padat dan memiliki aroma khas pala. Hal ini sesuai teori Krishnamoorthy & Rema (2001) bahwa oleoresin yang diekstrak dengan pelarut hidrokarbon akan menghasilkan kandungan fatty oil yang lebih tinggi sehingga berbentuk semi padat atau padat.

Oleoresin pala yang berbentuk padat dapat disebut dengan nutmeg butter karena sifatnya yang seperti butter. Nutmeg butter memiliki karakteristik yang semi solid, berwarna kekuningan sampai kecoklatan tergantung dari bahan awal, memiliki aroma dan rasa seperti pala, serta memiliki titik didih rendah sekitar 45-51oC, serta specific gravity sebesar 0,990. Nutmeg butter tetap memiliki senyawa volatil tetap memiliki kandungan essential oil sebesar 10-12%. Hal ini dikarenakan terdapatnya kandungan trimiristin yang merupakan trigliserida yang terdapat di nutmeg butter. Nutmeg butter biasanya digunakan untuk membuat lilin, campuran pada sabun, dental product dan terkadang untuk substitusi pada cocoa butter (Krishnamoorthy & Rema, 2001; Leela, 2008; Jose et al., 2016).

Penelitian kali ini dilakukan dengan ekstraksi menggunakan ultrasound waterbath yang memiliki keuntungan penggunaan yang mudah dan ekonomis tetapi memiliki kekurangan yaitu komponen bioaktif yang sedikit ter ekstrak. Ultrasound waterbath memiliki cara kerja dengan mengubah energi listrik menjadi getaran mekanis oleh transduser piezoelektrik. Kemudian sistem tuning akan mengirimkan gelombang ultrasonik yang dihasilkan oleh getran mekanis ke media. Ultrasound waterbath juga memiliki sounder ultrasonik yang akan memberikan sinyal excitation yang sesuai

dengan frekuensi yang dipilih (Wen et al., 2018). Menurut Capelo-Martine (2009) terdapat beberapa hal yang mempengaruhi hasil ekstraksi, diantaranya adalah jumlah sampel, ukuran partikel sampel, solvent, sonic power, frekuensi, waktu ekstraksi, dan suhu ekstraksi. Hal ini membuat penelitian dilakukan menggunakan pelarut n-heksan yang merupakan pelarut non polar dan mudah menguap sehingga memudahkan pemisahan dengan hasil ekstrak (Azis et al., 2014). Selain itu suhu yang dipilih adalah 40, 45 dan 50oC dengan pertimbangan titik didih n-heksan yang rendah, dengan waktu 30, 37.5 dan 40 menit serta rasio 21, 28 dan 35 gram sesuai dengan critical value hasil pendahuluan.

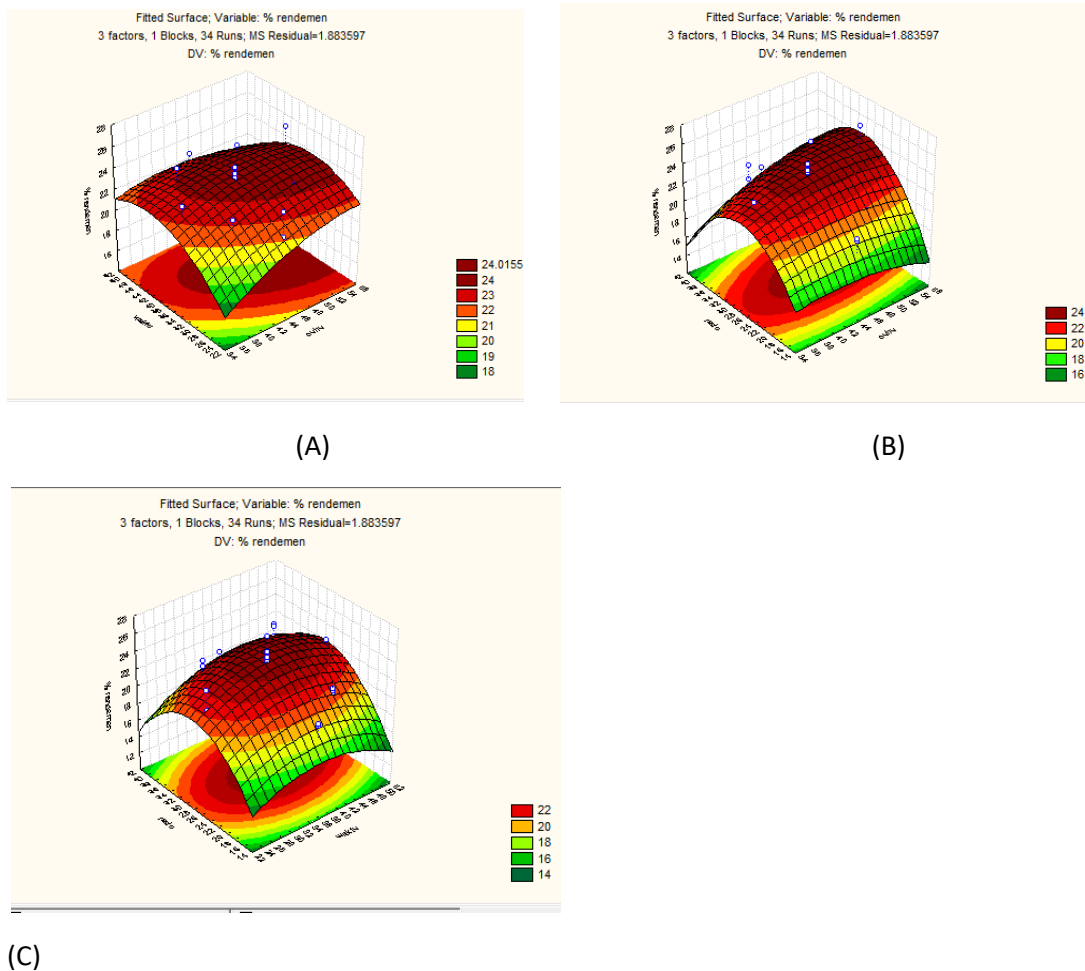
Rancangan percobaan dan analisa data menggunakan metode RSM dengan software bernama STATISTICA. Response Surface Methodology (RSM) merupakan metode yang dapat digunakan untuk mengevaluasi signifikansi dari beberapa faktor yang memiliki interaksi kompleks. RSM dapat mengecikan jumlah percobaan sehingga merupakan metode yang kuat dalam menguji variable proses ganda (Bai et al., 2014). Anderson & Whitcomb (2016) mengatakan bahwa RSM akan menghasilkan grafik yang didasarkan pada model matematika. RSM juga akan menyatukan semua respon melalui sebuah optimasi yang terakhir mengarah pada “sweet spot” yang memenuhi semua spesifikasi dengan biaya yang minimal. 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 memberika informasi interaksi antar variable independen dan kaitannya dengan variable dependen (Yousefi et al., 2016).

ANOVA; Var.:% rendemen; R-sqr= .62659; Adj: .48656 3 factors, 1 Blocks, 34 Runs; MS Residual=1.883597 DV: % rendemen					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1)suhu (L)	5.1648	1	5.16479	2.74198	0.110762
suhu (Q)	1.0875	1	1.08752	0.57737	0.454746
(2)waktu (L)	1.4989	1	1.49890	0.79577	0.381220
waktu (Q)	9.5875	1	9.58751	5.09000	0.033451
(3)rasio (L)	9.0421	1	9.04206	4.80042	0.038399
rasio (Q)	52.1648	1	52.16483	27.69426	0.000021
1L by 2L	1.3834	1	1.38342	0.73446	0.399919
1L by 3L	2.8096	1	2.80961	1.49162	0.233827
2L by 3L	0.7929	1	0.79295	0.42098	0.522611
Error	45.2063	24	1.88360		
Total SS	121.0627	33			

Gambar 13. Tabel ANOVA Persen Rendemen

Analisa varietas (ANOVA) akan menunjukkan persamaan dan hubungan sebenarnya antara respon dan variabel signifikan yang akan diwakili oleh sebuah persamaan. Signifikansi dari koefisien ditentukan oleh nilai F dan p, dimana nilai F yang semakin besar dan semakin kecil menghasilkan nilai p maka akan semakin signifikan. Jika nilai p lebih rendah dari 0,05 maka dapat dikatakan model signifikan secara statistik (Bai et al., 2014). Dapat dilihat pada Gambar 13. Tabel ANOVA Persen Rendemen menunjukkan bahwa waktu (Q), rasio (L), dan rasio (Q) memiliki nilai p value lebih rendah dari 0,05 sehingga dinyatakan signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa waktu dan rasio sangat berpengaruh untuk mendapatkan % rendemen yang optimal pada biji pala menggunakan pelarut n-heksana. Hal ini telah sesuai teori karena waktu mempengaruhi hasil rendemen dikarenakan semakin lama waktu ekstraksi maka rendemen yang dihasilkan akan semakin banyak. Efektivitasnya akan naik sampai titik equilibrium, tetapi semakin lama waktu ekstraksi dapat terjadi degradasi komponen serta komponen yang tidak diinginkan juga dapat ikut terekstrak (Wen et al., 2018;

Capelo-Martine, 2009). Perbandingan rasio antara padatan dan pelarut juga dapat mempengaruhi hasil rendemen. Semakin sedikit rasio padatan menandakan semakin banyaknya pelarut. Hal ini akan membuat hasil ekstraksi akan semakin banyak karena terdapatnya kenaikan laju difusi senyawa dari padatan ke pelarut (Esclapez et al., 2011; Predescu et al., 2016).



Gambar 14. Grafik Surface Plot Persen Rendemen (A) Pengaruh Suhu Dan Waktu Terhadap Persen Rendemen (B) Pengaruh Suhu Dan Rasio Terhadap Persen Rendemen (C) Pengaruh Waktu Dan Rasio Terhadap Persen Rendemen

Berdasarkan Gambar 14. Grafik Surface Plot Persen Rendemen. Grafik C (pengaruh waktu dan rasio) memiliki bentuk grafik maksimum yang dimana menandakan bahwa titik maksimum berada di wilayah penelitian. Hal ini juga menandakan bahwa waktu dan rasio mempengaruhi hasil dari persen rendemen. Grafik A (pengaruh suhu dan waktu terhadap rendemen) serta grafik B (pengaruh suhu dan rasio terhadap rendemen) menunjukkan bentuk plateau yang berarti perlakuan suhu tidak memiliki pengaruh terhadap hasil rendemen (Bezerra et al., 2008). Hal ini tidak sesuai teori, menurut Capelo-Martine (2009) suhu ekstraksi mempengaruhi hasil ekstraksi, hal ini dikarenakan semakin naiknya suhu akan menaikkan efisiensi dari ekstraksi karena akan menaikkan jumlah gelembung kativasi tetapi bila suhu mendekati titik didih maka akan menurunkan hasil ekstraksi. Penelitian kali ini tidak menggunakan temperatur yang lebih tinggi lagi karena pelarut yang digunakan adalah pelarut n-heksana. Menurut Azis et al. (2014) pelarut n-heksana memiliki titik didih rendah yaitu antara 65-70

oC sehingga suhu yang digunakan tidak dapat terlalu tinggi karena n-heksan mudah menguap dan akan menghilangkan senyawa volatile yang terkandung dalam pala.

Tabel 11. Tabel Regresi Persen Rendemen

Faktor	Regresi koefisien	P
Mean	-35.7046	0.318054
Suhu (L)	0.8364	0.466642
Suhu (Q)	-0.0088	0.454746
Waktu (L)	1.1348	0.068061
Waktu (Q)	-0.0116	0.033451
Rasio (L)	1.1228	0.075492
Rasio (Q)	-0.0310	0.000021
1L By 2L	-0.0078	0.399919
1L By 3L	0.0120	0.233827
2L By 3L	0.0042	0.522611

Regresi digunakan untuk memprediksi respon untuk kombinasi dari parameter proses pada level terbaik mereka (Antony, 2003). Regresi juga akan memberi penjelasan tentang hubungan antara variabel independen dan respon (Bai, 2014). Persamaan untuk regresi 3 tingkat adalah

$$Y = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 B + \beta_3 C + \beta_{12} AB + \beta_{13} AC + \beta_{23} BC + \beta_{11} A^2 + \beta_{22} B^2 + \beta_{33} C^2$$

Y akan memprediksi respon, β_0 merupakan model konstan, β_1 sampai β_3 merupakan koefisien linear, β_{11} sampai β_{33} merupakan koefisien kuadratik, β_{12} sampai β_{23} merupakan koefisien cross product. Sementara huruf A, B, dan C melambangkan variabel independen (suhu, waktu, dan rasio) yang dapat diganti dengan huruf X (Said, & Amin, 2015), sehingga rediksi persamaan dari persen rendemen (Tabel 11) adalah

$$Y = -35.7046 + 0.8364X_1 + 1.1348X_2 + 1.1228X_3 - 0.0078X_1X_2 + 0.0120X_1X_3 + 0.0042X_2X_3 - 0.0088X_1^2 - 0.0116X_2^2 - 0.0310X_3^2$$

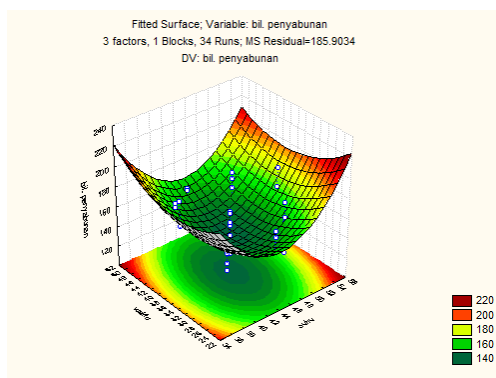
C.2.2 Bilangan Penyabunan

Bilangan penyabunan menyatakan banyaknya mg KOH yang dibutuhkan untuk menyabunkan 1 gram lemak atau minyak. Jumlah KOH yang dibutuhkan tergantung dari panjang rantai karbon asam lemak yang terkandung di trigliserida dan bobot trigliserida.

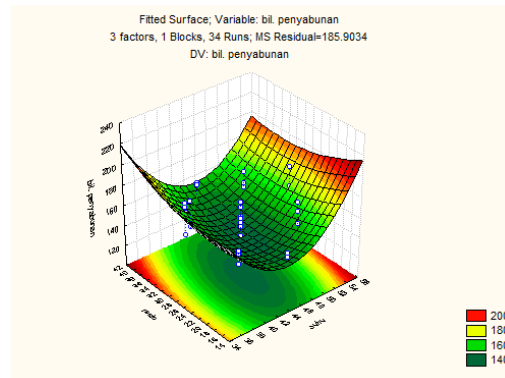
ANOVA; Var.:bil. penyabunan; R-sqr=.46023; Adj.:.25781 3 factors, 1 Blocks, 34 Runs; MS Residual=185.9034 DV: bil. penyabunan					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1)suhu (L)	4.965	1	4.965	0.02671	0.871552
suhu (Q)	2900.580	1	2900.580	15.60262	0.000598
(2>waktu (L)	26.751	1	26.751	0.14389	0.707775
waktu (Q)	696.313	1	696.313	3.74556	0.064816
(3)rasio (L)	50.513	1	50.513	0.27172	0.606959
rasio (Q)	213.604	1	213.604	1.14900	0.294419
1L by 2L	55.950	1	55.950	0.30096	0.588346
1L by 3L	125.888	1	125.888	0.67717	0.418664
2L by 3L	503.554	1	503.554	2.70868	0.112838
Error	4461.681	24	185.903		
Total SS	8265.849	33			

Gambar15. Tabel ANOVA bilangan Penyabunan

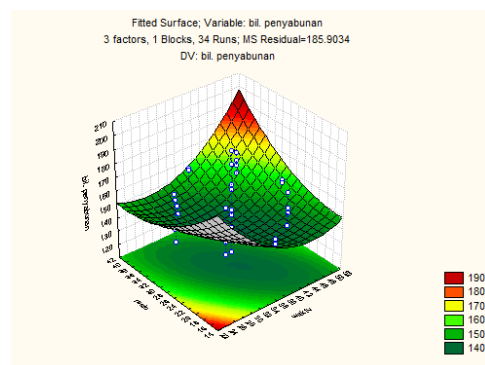
Analisa varietas (ANOVA) akan menunjukkan persamaan dan hubungan sebenarnya antara respond dan variable signifikan yang akan diwakili oleh sebuah persamaan. Signifikansi dari koefisien ditentukan oleh nilai F dan p, dimana Nilai F yang semakin besar dan semakin kecil nilai p maka akan semakin signifikan. Jika nilai p lebih rendah dari 0,05 maka dapat dikatakan model signifikan secara statistik (Bai et al., 2014). Dapat dilihat pada Gambar 15. Tabel ANOVA bilangan penyabunan hanya suhu (Q) yang memiliki nilai p lebih rendah dari 0,05 sehingga hanya suhu (Q) yang dinyatakan signifikan secara statistika.



(A)



(B)



(C)

Gambar 16. Grafik Surface Plot Bilangan Penyabunan (A) Pengaruh Suhu dan Waktu Bilangan Penyabunan (B) Pengaruh Suhu dan Rasio Terhadap Bilangan Penyabunan (C) Pengaruh Waktu dan Rasio Terhadap Bilangan Penyabunan

Berdasarkan Gambar 16., semua memiliki bentuk seperti kawah atau bernilai minimum, hal ini dikarenakan semakin besarnya nilai bilangan penyabunan menunjukkan bahwa bobot molekul dari asam lemak dan gliserida semakin kecil (Chasani et al., 2014). Diagram minimum juga menandakan banyaknya kandungan trimyristin dalam lemak pala yang memiliki berat molekul sebesar 723.2 g/mol. Sedangkan berat molekul dari penyusun lemak pala yang lain seperti asam oleat (C18H34O2) sebesar 283.5 g/mol, berat molekul asam linolenat (C18H30O2) adalah 278.4 g/mol, serta myristisin (C11H12O3) memiliki bobot molekul 192.21 g/mol (PubChem, 2005; 2007;2004). Sehingga dapat dipastikan teori dari benar bahwa kandungan fixed oil pada nutmeg butter sebesar 25-40% dan terdiri dari trimyristin (84%), konstituen yang tidak dapat tersaponifikasi (9.8%), oleic acid (3.5%), material resinous (2.3%), linolenic acid (0.6%), dan formic, acetate dan cerotic acid in (Krishnamoorthy & Rema,2001).

Tabel 12. Hasil Regresi Bilangan Penyabunan

Faktor	Regresi koefisien	P
Mean	1157.698	0.002813
Suhu (L)	-36.633	0.003311
Suhu (Q)	0.454	0.000598
Waktu (L)	-8.026	0.186412
Waktu (Q)	0.099	0.064816
Rasio (L)	-3.724	0.540898
Rasio (Q)	0.063	0.294419
1L By 2L	-0.050	0.588346
1L By 3L	-0.080	0.418664
2L By 3L	0.107	0.112838
R2	0,46023	

Regresi digunakan untuk memprediksi respon untuk kombinasi dari parameter proses pada level terbaik mereka (Antony, 2003). Regresi juga akan memberi penjelasan tentang hubungan antara variabel independen dan respon (Bai, 2014). Berdasarkan Tabel 6., persamaan dari bilangan penyabunan (Tabel 12) adalah

$$Y=1157.698-36.633X1-8.026X2-3.724X3-0.050X1X2-0.080X1X3+0.107X2X3+0.454X12+0.099X22+0.063X32$$

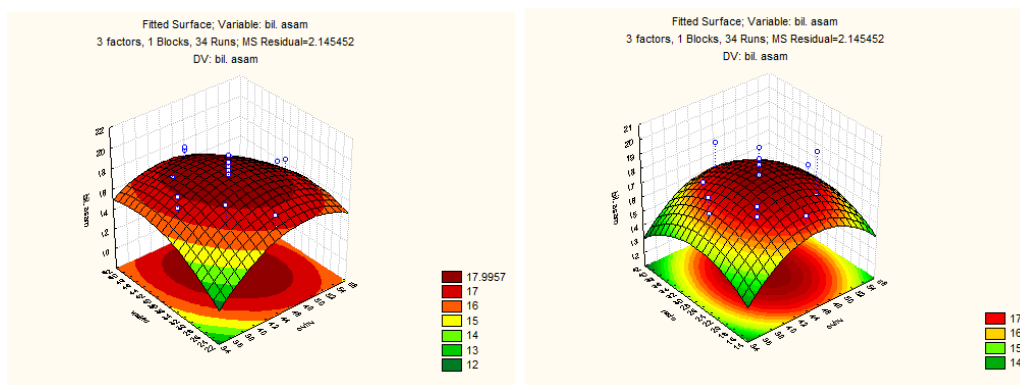
C.2.3 Bilangan Asam

Bilangan asam menunjukkan jumlah KOH yang diperlukan untuk menetralkan asam lemak bebas. Semakin besar nilai bilangan asam berarti semakin banyak asam lemak bebas yang terdapat di

lemak, sehingga kualitas lemak semakin buruk (Chasani et al., 2014). Bilangan asam juga menunjukkan bahwa pada minyak/ lemak terdapat kandungan asam organik. Hal ini dikarenakan pelarut heksan yang digunakan selama proses ekstraksi akan ikut mengekstraksi asam lemak bebas khususnya asam lemak oleat dan linoleat (Saranaung et al., 2018).

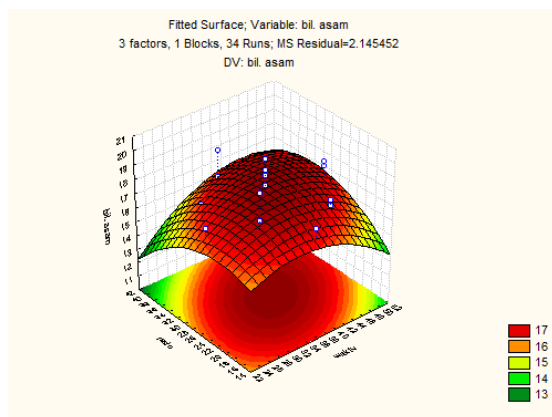
ANOVA; Var.: bil. asam; R-sqr=.22822; Adj:0. (data 1)						
3 factors, 1 Blocks, 34 Runs; MS Residual=2.145452						
DV: bil. asam						
Factor	SS	df	MS	F	p	
(1)suhu (L)	0.34665	1	0.346651	0.161575	0.691268	
suhu (Q)	6.84069	1	6.840695	3.188463	0.086804	
(2>waktu (L)	0.45775	1	0.457747	0.213357	0.648309	
waktu (Q)	4.59918	1	4.599181	2.143689	0.156134	
(3)rasio (L)	0.27088	1	0.270875	0.126256	0.725450	
rasio (Q)	4.59918	1	4.599181	2.143689	0.156134	
1L by 2L	1.71348	1	1.713481	0.798657	0.380370	
1L by 3L	0.00000	1	0.000000	0.000000	1.000000	
2L by 3L	2.23802	1	2.238016	1.043144	0.317277	
Error	51.49085	24	2.145452			
Total SS	66.71674	33				

Gambar 17. Tabel ANOVA Bilangan Asam



(A)

(B)



(C)

Gambar 18. Grafik Surface Plot Bilangan Asam, (A) Pengaruh Suhu Dan Waktu Terhadap Bilangan Asam (B) Pengaruh Suhu Dan Rasio Terhadap Bilangan Asam (C) Pengaruh Waktu Dan Rasio Terhadap Bilangan Asam

Berdasarkan Gambar 18. dapat dilihat bahwa ketiganya merupakan grafik surface plot maksimum. Grafik ini menandakan bahwa nilai maksimum berada di wilayah penelitian (Bezerra et al., 2008). Akan tetapi, variabel suhu, waktu, dan rasio tidak dapat dikatakan mempengaruhi dari bilangan asam. Hal ini dikarenakan tidak terdapat variabel yang signifikan. Terjadinya maksimum surface plot merupakan akibat dari rentang hasil terlalu dekat.

Tabel 13. Hasil Regresi Bilangan Asam

Faktor	Regresi koefisien	P
Mean	-53.6556	0.163974
Suhu (L)	2.3327	0.065112
Suhu (Q)	-0.0220	0.086804
Waktu (L)	0.8127	0.212054
Waktu (Q)	-0.0080	0.156134
Rasio (L)	0.2348	0.719006
Rasio (Q)	-0.0092	0.156134
1L By 2L	-0.0087	0.380370
1L By 3L	0.0000	1.000000
2L By 3L	0.0071	0.317277
R2	0.22822	

Regresi digunakan untuk memprediksi respon untuk kombinasi dari parameter proses pada level terbaik mereka (Antony, 2003). Regresi juga akan member penjelasan tentang hubungan antara variabel independen dan respon (Bai, 2014). Berdasarkan Tabel 13., persamaan dari bilangan asam adalah

$$Y = -53.6556 + 2.3327X_1 + 0.8127X_2 + 0.2348X_3 - 0.0087X_1X_2 + 0.0000X_1X_3 + 0.0071X_2X_3 - 0.0220X_1^2 - 0.0080X_2^2 - 0.0092X_3^2$$

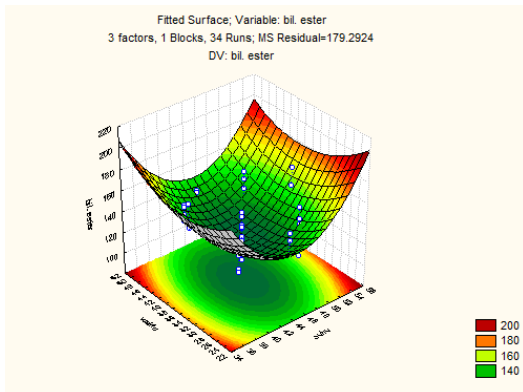
C.2.4 Bilangan Ester

Bilangan ester merupakan berapa milligram KOH yang dibutuhkan untuk menyabunkan 1 mg ester. Semakin kecil bilangan ester menunjukkan semakin kecil pula ester yang terkandung dalam minyak/lemak. Hal ini menunjukkan bahwa penyusun dari nutmeg butter sebagian besar bukan metil ester (Handayani, et al., 2015).

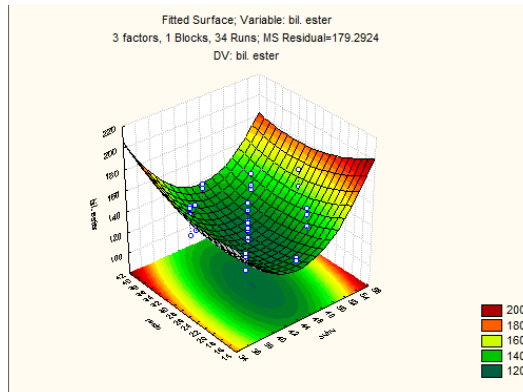
ANOVA; Var.:bil. ester; R-sqr=.48391; Adj.:.29037 (data 1) 3 factors, 1 Blocks, 34 Runs; MS Residual=179.2924 DV: bil. ester					
Factor	SS	df	MS	F	p
(1)suhu (L)	2.688	1	2.688	0.01499	0.903570
suhu (Q)	3189.143	1	3189.143	17.78738	0.000304
(2>waktu (L)	20.210	1	20.210	0.11272	0.739986
waktu (Q)	814.093	1	814.093	4.54059	0.043546
(3)rasio (L)	58.182	1	58.182	0.32451	0.574204
rasio (Q)	280.889	1	280.889	1.56666	0.222756
1L by 2L	38.081	1	38.081	0.21240	0.649044
1L by 3L	125.888	1	125.888	0.70214	0.410333
2L by 3L	438.651	1	438.651	2.44657	0.130873
Error	4303.018	24	179.292		
Total SS	8337.667	33			

Gambar 19. Tabel ANOVA Bilangan Ester

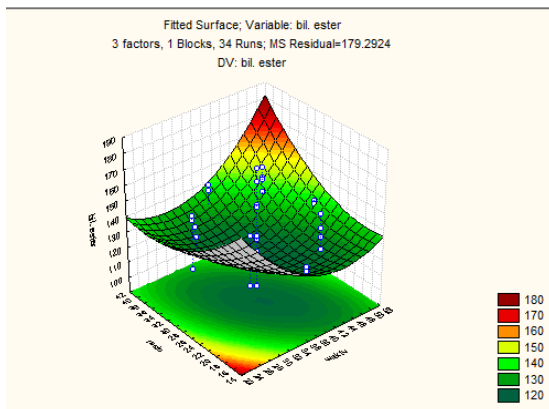
Berdasarkan Gambar 19. Tabel ANOVA bilangan ester dapat diketahui bahwa nilai p dari suhu (Q) serta waktu (Q) memiliki nilai di bawah 0,05 atau 0,000304 untuk suhu (Q) dan 0,043546 untuk waktu (Q). Hal ini menunjukkan bahwa suhu (Q) dan waktu (Q) signifikan secara statistik.



(A)



(B)



(C)

Gambar 20. Grafik Surface Plot Bilangan Ester (A) Pengaruh Suhu dan Waktu Terhadap Bilangan Ester (B) Pengaruh Suhu dan Rasio Terhadap Bilangan Ester (C) Pengaruh Waktu dan Rasio Terhadap Bilangan Ester

Gambar 20. Grafik surface plot pada bilangan ester menunjukkan ketiga grafik membentuk grafik minimum. Hal ini dapat diartikan bahwa hasil yang didapat memiliki nilai rendah pada suhu, waktu dan rasio perbandingan pada titik tengah. Hal ini menunjukkan bahwa lemak pala yang dihasilkan memiliki kandungan yang kurang baik. Menurut Asyik & Astuti (2010) nilai ester yang rendah menunjukkan proses penyimpanan yang dilakukandi suhu ruang serta dilakukan dalam waktu yang lama dapat membuat komponen dalam lemak pala terurai. Lemak pala dengan nilai ester yang rendah dinyatakan kurang baik karena ester memberikan kontribusi dalam memberikan flavor pada lemak pala. Komponen utama lemak pala adalah trimyristin (84%). Kandungan trimyristin ini yang mengakibatkan nutmeg butter dapat memiliki aroma dan rasa seperti biji pala (Krishnamoorthy & Rema,2001; Leela, 2008; Jose et al., 2016).

Tabel 14. Hasil Regresi Bilangan Ester

Faktor	Regresi koefisien	P
Mean	1211.353	0.001645
Suhu (L)	-38.966	0.001701
Suhu (Q)	0.476	0.000304
Waktu (L)	-8.838	0.140260
Waktu (Q)	0.107	0.043546
Rasio (L)	-3.959	0.508334
Rasio (Q)	0.072	0.222756
1L By 2L	-0.041	0.649044
1L By 3L	-0.080	0.410333
2L By 3L	0.100	0.130873
R2	0,48391	

Regresi digunakan untuk memprediksi respon untuk kombinasi dari parameter proses pada level terbaik mereka (Antony, 2003). Regresi juga akan member penjelasan tentang hubungan antara variabel idependen dan respon (Bai, 2014). Berdasarkan Tabel 14., persamaan dari bilangan ester adalah :

$$Y=1211.353-38.966X1-8.838X2-3.959X3-0.041X1X2-0.080X1X3+0.100X2X3+0.476X12+0.107X22+0.072X32$$

C.2.5 Critical Value

Tabel prediksi critical value didapatkan dari gabungan kondisi optimal yang dipengaruhi oleh interaksi antar variabel (Ratnawati et al., 2018). Bezerra et al., (2008) mengatakan bahwa prediksi titik kritis hanya didapatkan jika grafik surface plot berbentuk maksimum, minimum, ataupun saddle.

Grafik surface plot dari persen rendemen merupakan grafik maksimum dan grafik plateu, karena grafik surface plot pengaruh waktu dan rasio (C) masih berbentuk grafik maksimum tabel critical value dapat muncul. Critical value persen rendemen akan memiliki angka tertinggi pada suhu

51,98oC, waktu 36,97 menit dan rasio 30,63 gram dalam 100 ml pelarut heksan. Namun, angka critical point pada suhu tidak boleh terlalu tinggi, karena jika terlalu tinggi pelarut n-heksane akan menguap.

Critical value bilangan penyabunan akan memiliki angka tertinggi pada suhu 44,74oC, waktu 37,85 menit dan rasio 25,99 gram dalam 100 ml pelarut heksan. Namun, angka critical point ini belum tentu benar karena bilangan penyabunan didasarkan dari berat molekul dan diharapkan grafik surface plot yang muncul berbentuk grafik minimum.

Critical value bilangan asam akan memiliki angka tertinggi pada suhu 45,38oC, waktu 38,13 menit dan rasio 27,47 gram dalam 100 ml pelarut heksan. Angka dari tabel critical point bilangan asam sebaiknya tidak diikuti karena akan menghasilkan grafik surface plot maksimum, sedangkan bilangan asam lebih baik jika bernilai rendah atau grafik surface plot berbentuk grafik minimum.

Critical value bilangan ester akan memiliki angka tertinggi pada suhu 44,79oC, waktu 37,72 menit dan rasio 26,28 gram dalam 100 ml pelarut heksan. Angka pada tabel critical value bilangan asam diperlukan verifikasi untuk melihat apakah benar akan dihasilkan grafik surface plot maksimum.

D. STATUS LUARAN: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas.

Luaran wajib Teknologi Tepat Guna telah dihasilkan yaitu kondisi optimum ekstraksi oleoresin biji pala (suhu ekstraksi, waktu ekstraksi dan rasio antara biji pala dengan solvent) dengan ekstraksi ultrasonik menggunakan 2 (dua) jenis solvent yaitu etanol dan n-hexana.

Luaran tambahan yang telah dicapai sebagai berikut :

- (1) Publikasi HKI dengan judul "Pengolahan oleoresin biji pala dengan metode ekstraksi ultrasonik", Buku Panduan/Petunjuk No. 000157128
- (2) Publikasi buku dengan judul "Ekstraksi Oleoresin Biji Pala", Penerbit Universitas Katolik Soegijapranata, No ISBN 978-623-7635-01-7
- (3) Prosiding Seminar Nasional dengan judul "Proceeding Book Food Science and Student Conference: Enhancing Quality Through Food Innovation, September 2019, Penerbit Universitas Katolik Soegijapranata"
- (4) Prosiding Seminar Internasional dengan judul "Separation of Oleoresin from Nutmeg Using Ultrasound Extraction Reaction and Hexane as Solvent", November 2019, Proceeding International Conference on Sciences and Engineering.
- (5) Pengiriman jurnal nasional dengan judul "Optimasi Hasil Ekstraksi serta Karakteristik Oleoresin Biji Pala (*Myristica fragrans*) Menggunakan Pelarut n-Heksana dengan Metode Ultrasound", Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi
- (6) Pengiriman jurnal internasional dengan judul " Ultrasound Assisted Extraction of Oleoresin from Nutmeg ", International Journal of Food Engineering

E. PERAN MITRA: Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan, Penelitian Pengembangan, PTUPT, PPUPT serta KRUPPT). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas.

Kerjasama mitra dengan Lembaga Indonesian Rainforest Foundation (IRF) Semarang. IRF mendampingi petani dalam hal budidaya dan pengolahan hasil pertanian. Metode ekstraksi ultrasonik dan mikroenkapsulasi oleoresin biji pala ini akan didiseminasikan bagi kelompok masyarakat yang mendalami ekstraksi rempah-rempah dibawah binaan IRF, serta bagi pengusaha yang akan memproduksi flavour untuk bahan baku produk pangan, seperti bumbu instant serta flavor serbuk pada berbagai produk pangan.

F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Metode mikroenkapsulasi oleoresin biji pala telah dilakukan dalam tahun pertama menggunakan beberapa metode pengeringan (*vacuum drying* dan *foam mat drying*) dan beberapa bahan penyalut (*maltodextrin*, *whey protein isolate* dan *betacyclodextrin*), namun belum didapatkan optimasi hasil penelitian. Oleh karena itu, kelanjutan optimasi kondisi proses mikroenkapsulasi dilakukan pada tahun kedua, bersamaan dengan pengujian kestabilan mikrokapsul oleoresin biji pala dan umur simpannya.

Oleoresin biji pala mengandung komponen *myristicin* yang dapat memberikan efek keracunan dan halusinogen. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lanjut untuk mengetahui dosis pemakaian produk hasil mikroenkapsulasi biji pala agar tidak memberikan efek negatif bagi yang mengkonsumsi. Namun, uji toksisitas ini belum dinyatakan dalam desain penelitian yang telah diajukan dalam proposal

G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA: Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Jika laporan kemajuan merupakan laporan pelaksanaan tahun terakhir, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

Pada Penelitian Tahun Kedua dilakukan beberapa tahapan penelitian sebagai berikut :

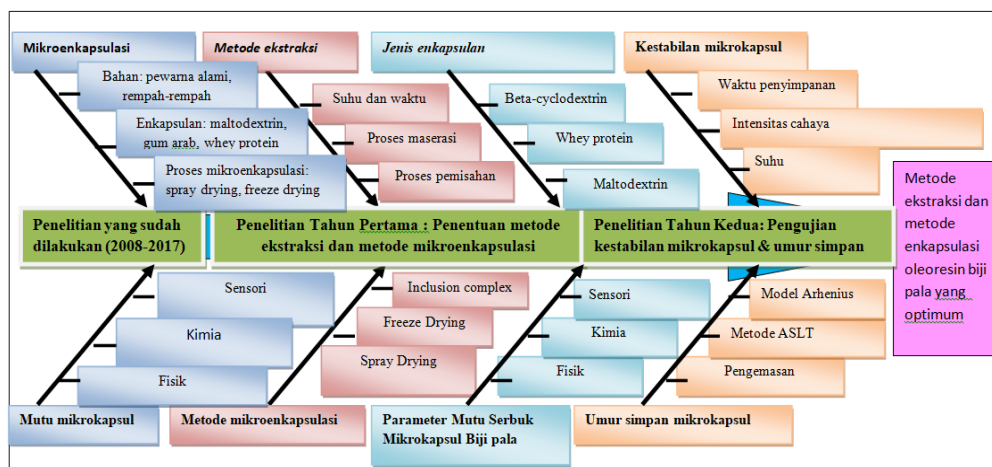
1. Optimasi kondisi proses mikroenkapsulasi oleoresin biji pala (melanjutkan proses mikroenkapsulasi yang sudah dilakukan dalam tahun pertama), yaitu metode vacuum drying dan cabinet drying. Mikroenkapsulan yang digunakan adalah maltodextrin, whey protein isolate dan beta cyclo dextrin.
2. Pengujian kestabilan mikrokapsul oleoresin biji pala selama penyimpanan
3. Pengujian umur simpan mikrokapsul oleoresin biji pala dengan metode Accelerated Shelf Life Test (ASLT)

Karakteristik mikrokapsul oleoresin biji pala dinyatakan dengan pengujian komponen volatil menggunakan GCMS, aktivitas antioksidan, kadar air, aktivitas air, minyak di permukaan, minyak terperangkap dan struktur fisik menggunakan scanning electron microscope (SEM)

Luaran wajib di tahun pertama yang telah dapat dicapai adalah teknologi tepat guna yang menunjukkan kondisi proses optimum ekstraksi ultrasound oleoresin biji pala. Pada tahun kedua diharapkan dapat diperoleh teknologi tepat guna untuk kondisi proses optimum mikroenkapsulasi oleoresin biji pala.

Luaran wajib di tahun kedua yang ditargetkan adalah penyusunan paten, penyusunan buku tentang mikroenkapsulasi oleoresin biji pala, penyusunan prosiding seminar nasional dan internasional, serta publikasi jurnal nasional dan jurnal internasional.

Diagram tulang ikan atau bagan diagram alir penelitian (Gambar 21) menunjukkan kaitan penelitian yang sudah dilakukan sejak tahun 2008 sampai dengan 2017, dan keberlanjutan dalam penelitian yang diusulkan yaitu penentuan metode ekstraksi dan metode mikroenkapsulasi di tahun pertama serta penentuan karakteristik kualitas mikrokapsul oleoresin biji pala dan umur simpannya di tahun kedua.



Gambar 21. Diagram alir penelitian

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

1. Anderson, M.J dan Patrick J. Whitcomb. (2016). RSM simplified : optimizing processes using response surface methods for design of experiments. Taylor & Francis Group CRC Press; US
2. Anggraini, Rini, Afghani, J., dan Andi, H.A. (2018). Isolasi Dan Karakterisasi Minyak Atsiri Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) Asal Sajingan Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. Vol.7(4):124-133.
3. Antony, J., (2003). *Design of Experiments for Engineers and Scientists*. Elsevier Science & Technology Books
4. Asgarpanah, J., dan N. kazemivash.(2012). Phytochemistry and Pharmacologic Properties of *Myristica fragrans* Hoyutt; A Review. *African Journal of Biotechnology* Volume 1 no 65
5. Asyik, N., dan I. Astuti. (2010). Karakter Industrisasi Mutu Minyak Pala (Nutmeg Oil) Indonesia sebagai Bahan Baku Flavor. *AGRIPLUS*. Vol.20 No.02.
6. Azis, Tamzil, Sendry Febrizky, and Aris D Mario. (2014). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yield Alkaloid Dari Daun Salam India (*Murraya Koenigii*). *Teknik Kimia* 20 (2): 1–6
7. Aziz, Tamzil, Ratih Cindo K N, dan Asima Fresca. (2009). Pengaruh Pelarut Heksana dan Etanol, Volume Pelarut, dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. *Jurnal Teknik Kimia*. Volume 16 nomor 1:1-8. <http://jtk.unsri.ac.id/index.php/jtk/article/view/61>
8. Bai, Y., G Saren, dan W. Huo. (2014). Response Surface Methodology (RSM) in Evaluation of the Vitamin C Concentration in Microwave Treated Milk. *Juornal Food Sci Techmol*
9. Bezerra, M.A., R. E. Santelli, E. P. Oliveira, L. S. Villar, dan L. A. Escaleira. (2008). Response Surface Methodology (RSM) as a Tool for Optimization in Analytical Chemistry. *Journal Talanta*. Vol.76(5):965-977.
10. Bustan, M. D., Febriyani, R., dan Pakpahan, H. (2008). Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Ukuran Partikel terhadap Berat Oleoresin Jahe yang diperoleh dalam Berbagai Jumlah Pelarut Organik (Methanol). Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan. <http://jtk.unsri.ac.id/index.php/jtk/article/view/55/56>
11. Capelo-Martine, JL. (2009). *Ultrasound in Chemistry Analitical Application*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KgaA. Portugal
12. Charpe, T. W. dan V. K. Rathod. (2016). Kinetics of Ultrasound Assisted Extraction of Wedelolactone from *Eclipta alba*. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. Volume 33 nomor 4:1003-1010
13. Chasani, M., Nursalim, V.H., Widyaningsih, S., Budiasih, I.N., dan Kurniawan W.A. (2014). Sintesis, Pemurnian dan Karakterisasi Metil Ester Sulfonat (MES) sebagai Bahan Inti Deterjen dari Minyak Biji Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L). *Molekul*. Vol.9(1).
14. Djapiala, Fera Yusniarti, Lita. A.D.Y. Montolalu, dan Feny Mentang. (2013). Kandungan Total Fenol dalam Rumput Laut *Caulerpa Racemosa* yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan*. Volume 1 nomor 2. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmthp/article/view/1859>
15. Gulcin, Ilhami. (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. Volume 56 nomor 7:491-

499. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09637480500450248>
16. Handayani, R., S Rukminita A., dan I. Gumilar.(2015). Karakteristik Fisiko-Kimia Minyak Biji Bintaro (Cerbera manghas L) dan Potensinya sebagai Bahan Baku Pembuatan Biodiesel. Jurnal Akuatika Vol VI no 2
 17. Hasanah, Mauizatul, Bella Maharani, dan Ensiwi Munarsih. (2017). Daya Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (Coffea Robusta) Terhadap Pereaksi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. Volume 4 nomor 2:42-49. <http://journal.unpad.ac.id/ijpst/article/view/10456>
 18. Hubschmann, Hans-Joachim. (2015). Handbook of GC-MS: Fundamentals and Applications. Wiley-VCH. USA.
<https://books.google.co.id/books?id=DJlxBgAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=id#v=onepage&q&f=false>
 19. Ibrahim, Agus Martua, Yunianta, dan Feronika Heppy Sriherfyna. (2015). Pengaruh Suhu dan Lama Waktu Ekstraksi Terhadap Sifat Kimia Dan Fisik pada Pembuatan Minuman Sari Jahe Merah (Zingiber officinale var. Rubrum) dengan Kombinasi Penambahan Madu sebagai Pemanis. Jurnal Pangan dan Agroindustri. Volume 3 nomor 2:530-541.
<http://www.jp.a.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/171>
 20. Jain, S.Mohan dan H. Häggman. (2007). Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Springer. Netherlands.
<https://books.google.co.id/books?id=ZwhWViy0sCUC&printsec=frontcover&hl=id#v=onepage&q&f=false>
 21. Jose,H., Arya KR, Sindhu TJ, Syamjith P, Vinod KR, dan Sandhya S.(2016). A Descriptive Review on Myristica fragrans Houtt. Hygeia.J.D.Med. Vol.8 no 1.
 22. Kalbhen, D.A.(1971). Nutmeg as a Narcotic. Angew. Chem. Internat. Volume 19 no. 6
 23. Krishnamoorthy, B. dan J. Rema. (2001). Handbook of Herb and Spices: Nutmeg and Mace. Woodhead Publishing Limited; England
 24. Lee, W.C., S. Yusof , N.S.A. Hamid, dan B.S. Baharin. (2006). Optimizing Conditions for Enzymatic Clarification of Banana Juice Using Response Surface Methodology (RSM). Journal of Food Engineering. Volume 73 nomor 1:55–63
 25. Leela, N.K.(2008). Chemistry of spices; Nutmeg and Mice. CAB International; London, UK
 26. Maya, K. M., T. John Zachariah, dan B. Krishnamoorthy. (2004). Chemical Composition of Essential Oil of Nutmeg (Myristica fragrans Houtt.) accessions. Journal of Spices and Aromatic Crops. Volume 13 nomor 2:135-139. <http://naturalingredient.org/wp/wp-content/uploads/Vol.-XIII-No.2-135-139.pdf>
 27. Myers, Raymond H., Douglas C. Montgomery, dan Christine M. Anderson-Cook. (2009). Response Surface Methods: Process and Product Optimization Using Design Experiments. Wiley Publisher. USA
 28. Najib, Ahmad. (2018). Ekstraksi Senyawa Bahan Alam. Penerbit Deepublish. Yogyakarta
 29. Nurdjannah, Nanan. (2007). Teknologi Pengolahan Pala. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Indonesia.
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKewi_2K3F5eTIAhULvY8KHeSVCigQFjAAegQIAxAC&url=http%3A%2F%2Fpascapanen.litbang.pertanian.go.id%2Fassets%2Fmedia%2Fpublikasi%2Fjuknis_pala.pdf&usq=AOvVaw3NAT1_cBb9qIIeBAZ5jmGE
 30. Pambi, R.L.L. dan P. Musonge. (2016). Application of Response Surface Methodology (RSM) in

The Treatment of Final Effluent from The Sugar Industry Using Chitosan. WIT Transactions on Ecology and The Environment. Vol.209:209-219.

31. Peter, K. V. (2012). Handbook of Herbs and Spices. Woodhead Publishing. UK. <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiu-aCG5uTIAhWGuo8KHVg3BKAQFjAAegQIAxAB&url=https%3A%2F%2Fwww.sciencedirect.com%2Fbook%2F9780857090393%2Fhandbook-of-herbs-and-spices&usg=AOvVaw2Pt2wvQt1cKBPs9g6LwTq4>
32. PubChem. (2004). Linolenic Acid <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280934> diakses pada 24 agustus 2019
33. PubChem. (2005). Trimyrustin. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/TRIMYRISTIN> diakses pada 24 agustus 2019
34. PubChem. (2007). Oleic Acid. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13011406> diakses pada 24 agustus 2019
35. PubChem. _____. Myrstin. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Myristicin> (diakses tanggal 12 November 2019)
36. Purwanto, Agus, Astri Nur Fajriyati, dan Dewi Wahyuningtyas. (2014). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan dalam Ekstrak Minyak Bekatul Padi (Rice Bran Oil). Jurnal Ekuilibrium. Volume 13. nomor 1:29 – 34. <https://jurnal.uns.ac.id/ekuilibrium/article/view/24862>
37. Rahman, N.A.A, Fazilah A., dan Effarizah M.E. (2015). Toxicity of Nutmeg (Myristicin): A Review. International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology. Volume 5 nomor 3:212-215. <http://www.insightsociety.org/ojaseit/index.php/ijaseit/article/view/518>
38. Ratnawati, S.E., N Ekantari, R.W. Pradipta, dan B.L. Pramita.(2018). Aplikasi Response Surface Methodology (RSM) pada Optimalisasi Ekstraksi Kalsium Tulang Lele. Jurnal Perikanan Universitas Gajah Mada volume 20 no 1
39. Rauf, Rusdin, Eni Purwani, dan Endang Nur Widiyaningsih. (2011). Kadar Fenolik dan Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH Berbagai jenis Ekstrak Jahe (Zingiber officinale). Jurnal Teknologi Hasil Pertanian. Volume IV nomor 2:121-125. <https://jurnal.uns.ac.id/ilmupangan/article/download/13580/11322>
40. Said, K.A.M dan M.A.M Amin. (2015). Overview on The response Surface Methodology (RSM) in Extractiion Process. Journal of Applied Science & Process Engineering Vol 2 no 1
41. Sani, R.N., Nisa, F.C., Andriani, R. D., dan Maligan, J.M. (2014). Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut Tetraselmis chuii. Jurnal Pangan Dan Agroindustri. Vol.2(2):121–126
42. Santos, Philipe, Ana C. Aguiar, Gerardo F. Barbero, Camila A. Rezende, dan Julian Martínez. (2015). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Capsaicinoids from Malagueta Pepper (Capsicum frutescens L.) Assisted by Ultrasound. Ultrasonics Sonochemistry. Vol.22(1):78–88
43. Saranaung, A., M. S. Sangi*, D. G. Katja. (2018). Pengaruh Ukuran Bahan terhadap Rendemen dan Kualitas Minyak Biji Pala (Myristica Fragrans Houutt) dengan Metode Soxhletasi. JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE volume 7 no 1
44. Sie, Jessica Oeinitan. (2013). Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Manggis (Garcinia mangostana Linn.) Hasil Pengadukan dan Reflux. Jurnal Ilmiah Mahasiswa 1Universitas Surabaya. Volume 2 nomor 1:1-10
45. Singleton, Vernon L., Rudolf Orthofer, dan Rosa M. Lamuela-Raventos. (1999). Analysis of Total

Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Methods in Enzymology. Volume 299 nomor 1:152-178.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687999990171>

46. Wagner, Hildebert dan Sabine Blatt. (2011). Plant Drug Analysis : A Thin Layer Chromatography Atlas Second Edition. Springer. German.
<https://books.google.co.id/books?id=CdVKAAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=id#v=onepage&q&f=false>
47. Wen, C., J Zhang, H Zhang, C.S. Dzah, M Zandile, Y Duan, H Ma, dan X Luo. (2018). Advance in Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Cash Crops- A Review. Ultrasonics-Sonochemistry vol 48
48. Yeni, Gustri, E. Gumbira-Sa'id, Khaswar Syamsu, dan Etik Mardliyati. (2014). Penentuan Kondisi Terbaik Ekstraksi Antioksidan dari Gambir Menggunakan Metode Permukaan Respon. Jurnal Litbang Industri. Volume 4 nomor 1:39-48
49. Yousefi, N., M Pazouki, F. A. Hesari, M Alizadeh. (2016). Statistical Evaluation of the Pertinent Parameters in Biosynthesis of Ag/MWf-CNT Composites Using Plackett-Burman Design and response Surface Methodology. Iran. Journal Che. Chem. Eng. Volume 35 no 2

Dokumen pendukung luaran Wajib #1

Luaran dijanjikan: Teknologi Tepat Guna

Target: penerapan

Dicapai: Produk

Dokumen wajib diunggah:

1. Deskripsi dan spesifikasi TTG
2. Hasil uji coba TTG terakhir
3. Dokumentasi (foto) pengujian TTG

Dokumen sudah diunggah:

1. Hasil uji coba TTG terakhir
2. Deskripsi dan spesifikasi TTG
3. Dokumentasi (foto) pengujian TTG

Dokumen belum diunggah:

-

TEKNOLOGI TEPAT GUNA PRODUK EKSTRAK OLEORESIN BIJI PALA

DESKRIPSI DAN SPESIFIKASI TEKNOLOGI TEPAT GUNA

Teknologi Tepat Guna yang dihasilkan dari penelitian di tahun pertama ini adalah proses pengolahan produk ekstrak oleoresin biji pala yang mempunyai kualitas yang baik. TKT yang ditargetkan adalah 6 dengan maksud teknologi pengolahan produk ekstrak oleoresin biji pala dapat diaplikasikan dan telah diuji kualitasnya. Ekstraksi ultrasound oleoresin biji dilakukan dengan menggunakan kondisi proses yang optimum sebagai berikut : suhu ekstraksi 50 °C, waktu ekstraksi 38 menit, rasio 10 gram dalam 100 ml etanol.

PROSES PENGOLAHAN PRODUK EKSTRAK OLEORESIN BIJI PALA

A. PENGERINGAN BIJI PALA

1. Suhu oven diatur pada suhu 50°C
2. Biji pala diletakkan di atas loyang kemudian dimasukkan ke dalam oven.
3. Pengeringan biji pala dilakukan sekitar 20 jam hingga biji pala kering.
4. Setelah 20 jam, biji pala kering dikeluarkan dari oven.

B. PENGHALUSAN BIJI PALA

1. Biji pala kering dipotong kecil-kecil untuk mempermudah proses penghalusan.
2. Wadah, blender, dan ayakan mesh 36 disiapkan untuk proses penghalusan biji pala.
3. Biji pala diblender hingga halus kemudian di mesh dengan mesh 36.
4. Bubuk biji pala kemudian disimpan dalam wadah tertutup dan diberi *silica gel*.

C. EKSTRAKSI OLEORESIN

1. Kabel Ultrasound ditancapkan pada saklar.
2. Tekan tombol ON untuk menyalakan Ultrasound.
3. Air dituang ke bak Ultrasound hingga mencapai ketinggian sample dalam Erlenmeyer.
4. Tekan 2 kali pada tiap variabel (suhu, waktu, frekuensi, dan power), kemudian tekan tombol panah atas dan bawah untuk mengatur angka masing-masing.
5. Pada variabel suhu diatur pada 50°C, waktu diatur 38 menit (pada prakteknya waktu yang diperlukan 37,5 menit) dengan frekuensi diatur pada 45 kHz.
6. Sebelum memulai ekstraksi, perlu dilakukan *heating* pada variabel suhu agar suhu dalam bak tercapai suhu yang diinginkan, yakni dengan menekan tombol ON pada variabel suhu.
7. Dalam ekstraksi oleoresin, perlu dilakukan pelarutan antara biji pala dengan pelarut etanol di dalam Erlenmeyer, dengan perbandingan 1 : 10 (20 gram biji pala dengan 200 ml etanol), kemudian ditutup dengan aluminium foil.
8. Saat suhu *heating* telah tercapai, sampel dalam Erlenmeyer dimasukkan.
9. Tekan tombol ON pada variabel Power untuk memulai ekstraksi, lalu ditunggu hingga waktu ekstraksi selesai.
10. Setelah Ultrasound selesai, tombol *heating* suhu dimatikan dan tekan tombol Off.
11. Kemudian, kran air dibuka hingga air dalam bak habis.

D. PENYARINGAN HASIL EKSTRAKSI

1. Kertas saring biasa, kertas saring Whatman no 1, Erlenmeyer, dan corong disiapkan.
2. Erlenmeyer hasil ekstraksi dari Ultrasonik disaring, dengan penyaringan menggunakan 2 buah kertas saring, 1 kertas saring biasa dan 1 kertas saring Whatman no 1.
3. Penyaringan ditunggu hingga filtrat tidak menetes lagi.
4. Filtrat hasil ekstraksi siap diuapkan pelarutnya.

E. ROTARY EVAPORATION

1. Pendingin dinyalakan dengan menekan tombol Power, kemudian tekan tombol *Cooling* dan *Loop*.
2. Lalu ditunggu hingga suhu pada pendingin mencapai suhu yang telah ditentukan (15°C).
3. Setelah itu, labu penampung pelarut dipasang ke alat Rotary, dengan dijepit menggunakan penjepit dan dikencangkan.
4. Rotary evaporator dinyalakan, kemudian tekan tombol Set untuk mengatur suhu bak Rotary Evaporator, dengan suhu yang digunakan adalah 40°C .
5. Filtrat hasil ekstraksi dituang ke labu Rotary Evaporator, kemudian dipasangkan pada mesin Rotary.
6. Labu diturunkan hingga menyentuh air dalam bak dengan menekan tombol panah bawah.
7. Selanjutnya, *Round per Minutes* (RPM) diatur dengan memutar pengatur RPM, yaitu sebesar 52 rpm.
8. Kemudian pompa vakum dinyalakan dan kran udara Rotary Evaporator ditutup untuk membuat kondisi vakum.
9. Setelah itu, akan diikuti dengan naiknya jarum indikator tekanan pada pompa vakum akan hingga tekanan mencapai 0,09 MPa.
10. Proses evaporasi ditunggu hingga pelarut di tabung kondensor tidak menetes lagi.
11. Jika sudah selesai, maka kran udara kembali dibuka, hingga indikator tekanan di pompa vakum menjadi 0.
12. RPM diubah menjadi 0, serta pompa vakum dimatikan. Lalu, labu sampel dinaikkan dengan menekan panah atas.
13. Labu penampung dilepas dengan melepas penjepit sambil labu dipegang, lalu pelarut dituang ke dalam jerigen khusus pelarut bekas evaporasi.
14. Lalu, labu sampel dilepas, dan hasil oleoresin pala dituang ke dalam botol kaca.

Hasil Uji Coba EKSTRAK OLEORESIN BIJI PALA

Victoria Kristina Ananingsih;Bernadeta Soedarini;Evita Nia Rahardjo
Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Seogijapranata

Penelitian Terapan Unggulan Perguruan tinggi (PTUPT) 2019

Uji Kualitas Ekstrak Oleoresin Biji Pala



Ekstraksi



Folin - Ciocalteau



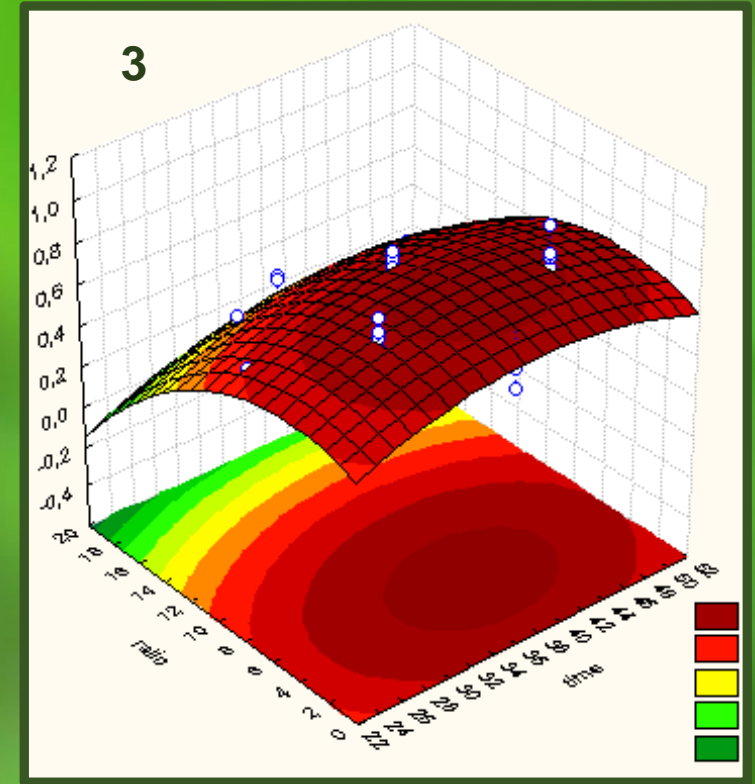
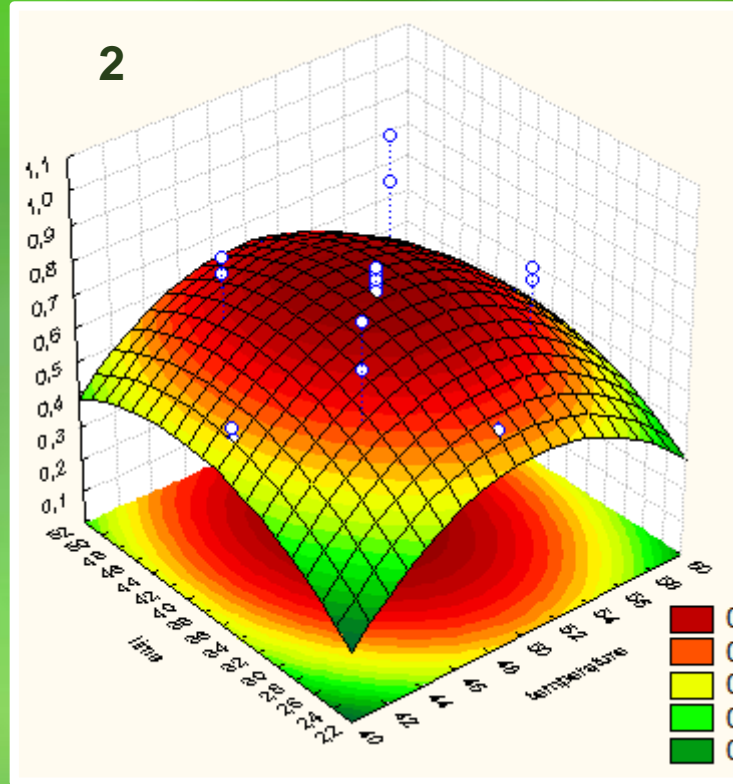
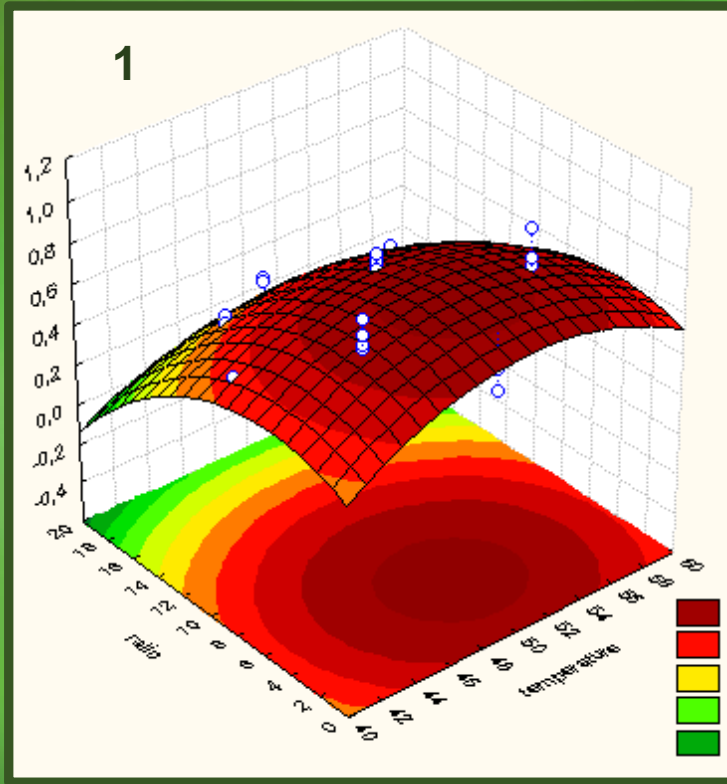
DPPH



Ekstraksi

Analisa Tambahan : Gas Chromatography – Mass Spectrometry

Fitted Curves %Rendemen



“

Gambar 1 menunjukkan grafik dari perlakuan suhu dengan rasio
Gambar 2 menunjukkan grafik dari perlakuan suhu dengan waktu
Gambar 3 menunjukkan grafik dari perlakuan waktu dengan rasio

”

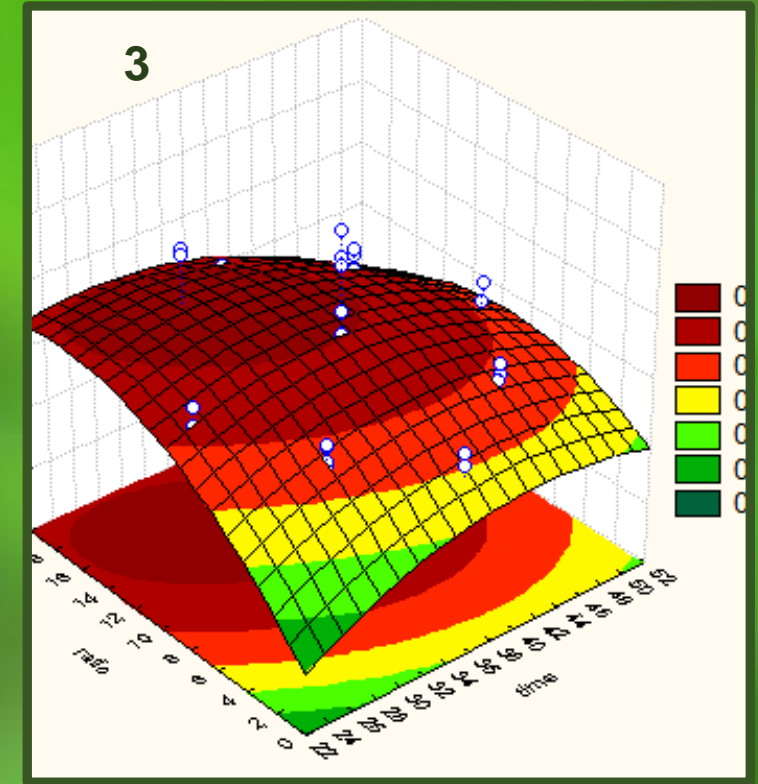
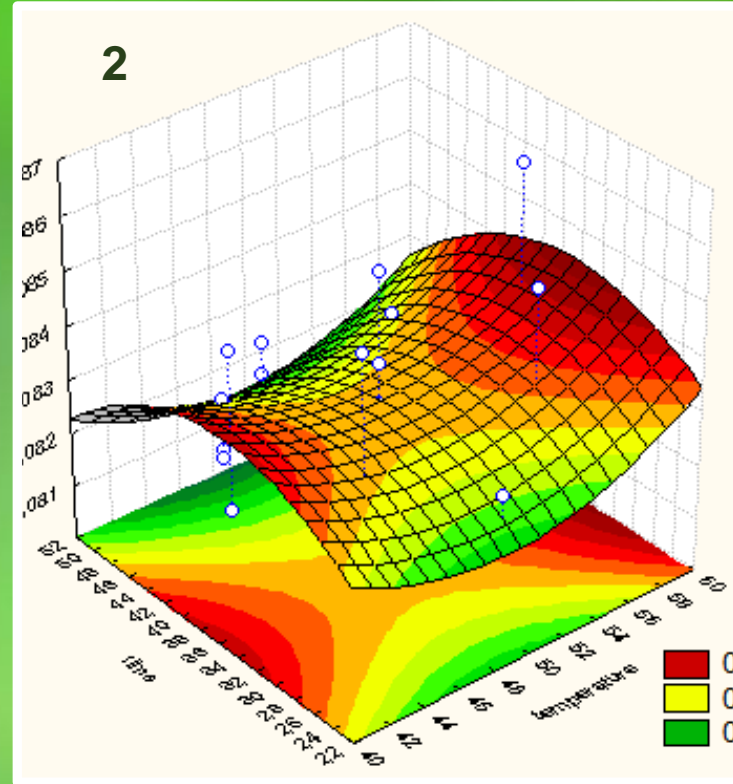
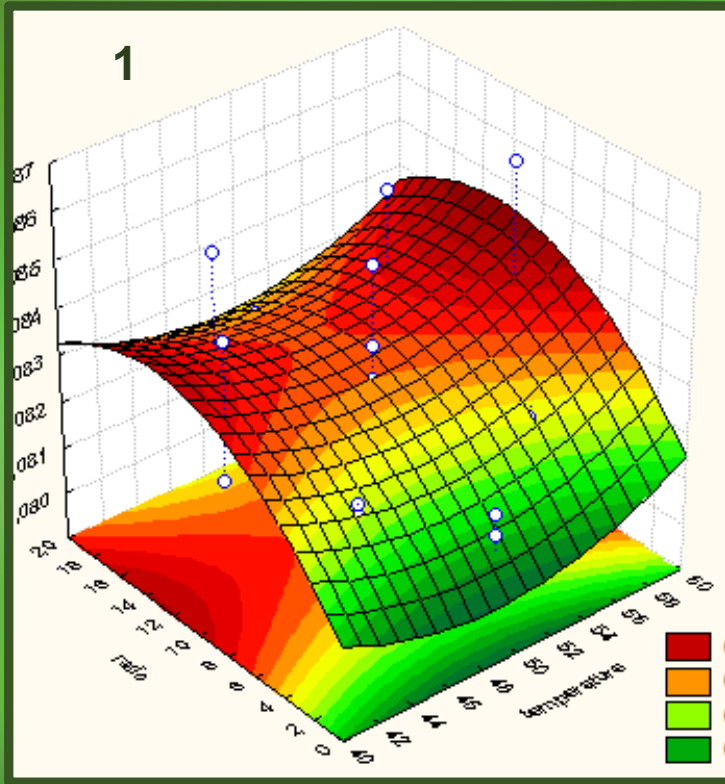
Critical Values %Rendemen

Tabel 5. *Critical Values %Rendemen*

Faktor	Observed Mnimum	Critical Values	Observed Maximum
Suhu	41,59104	50,17497	58,40896
Waktu	24,88655	36,35338	50,11345
Rasio	1,59104	6,09695	18,40896



Fitted Curves Total Fenolik



“

Gambar 1 menunjukkan grafik dari perlakuan suhu dengan rasio
Gambar 2 menunjukkan grafik dari perlakuan suhu dengan waktu
Gambar 3 menunjukkan grafik dari perlakuan waktu dengan rasio

”

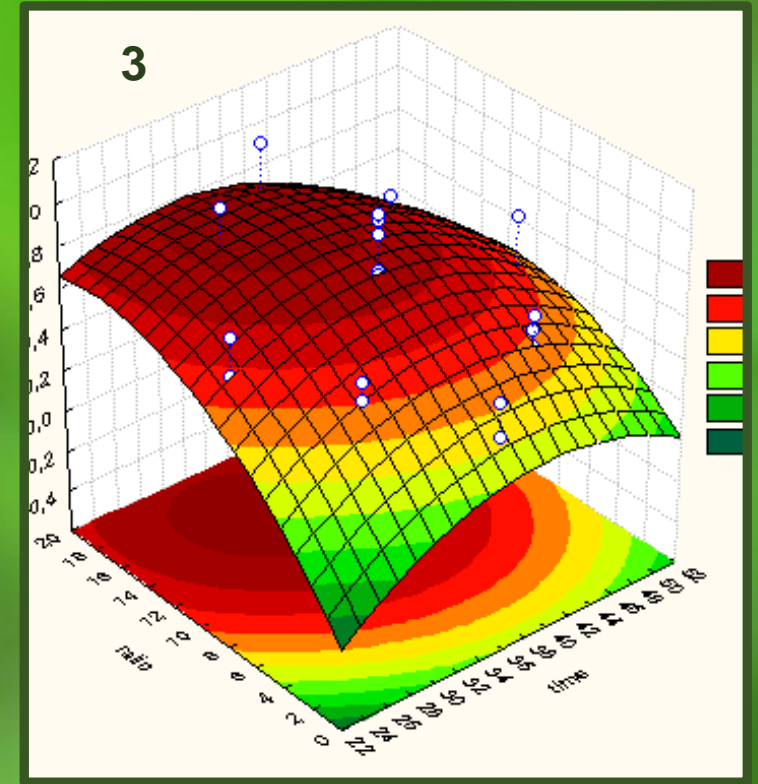
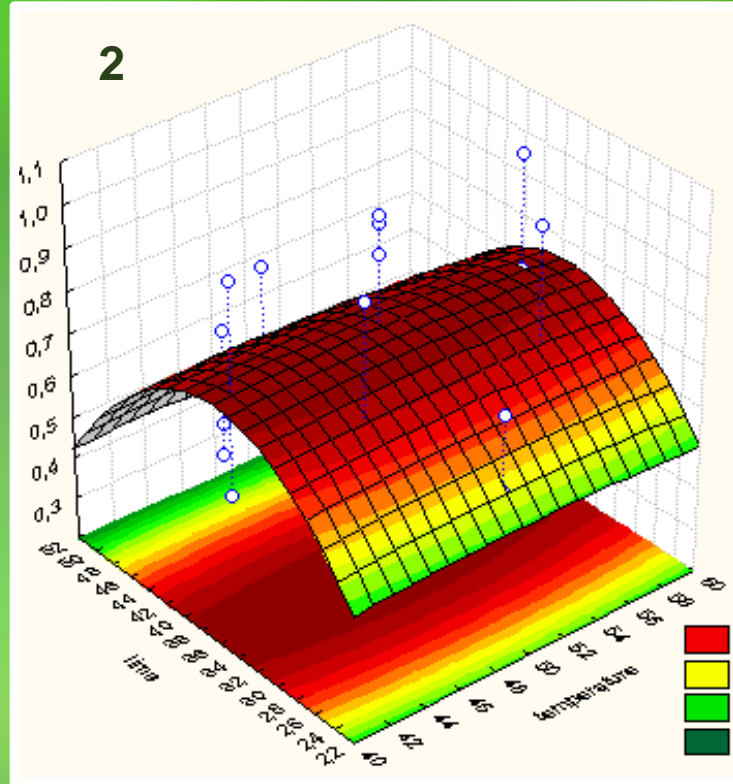
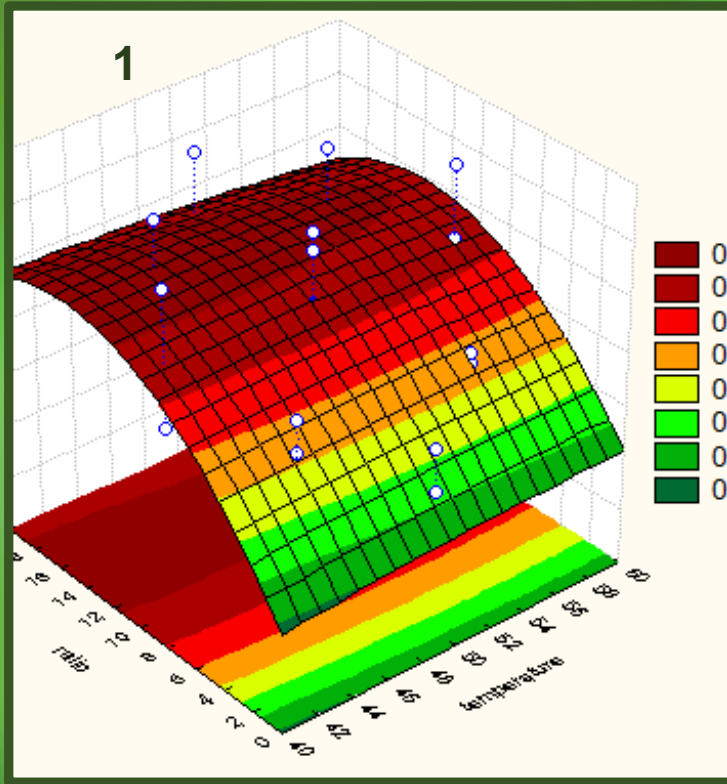
Critical Values Total Fenolik

Tabel 7. *Critical Values* Total Fenolik

Faktor	<i>Observed Mnimum</i>	<i>Critical Values</i>	<i>Observed Maximum</i>
Suhu	41,59104	48,79733	58,40896
Waktu	24,88655	31,91392	50,11345
Rasio	1,59104	14,45662	18,40896



Fitted Curves Aktivitas Antioksidan



“

Gambar 1 menunjukkan grafik dari perlakuan suhu dengan rasio
Gambar 2 menunjukkan grafik dari perlakuan suhu dengan waktu
Gambar 3 menunjukkan grafik dari perlakuan waktu dengan rasio

”

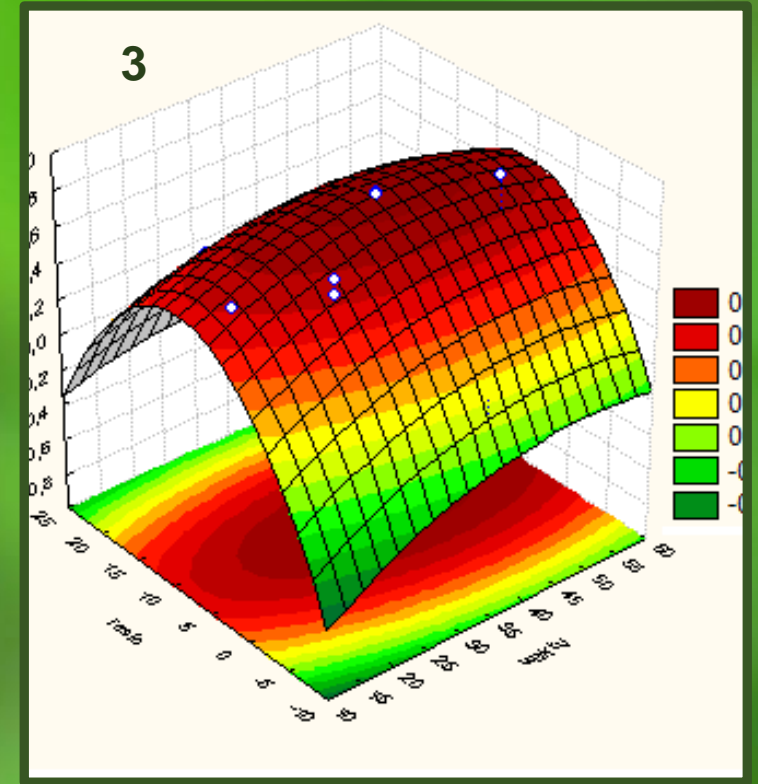
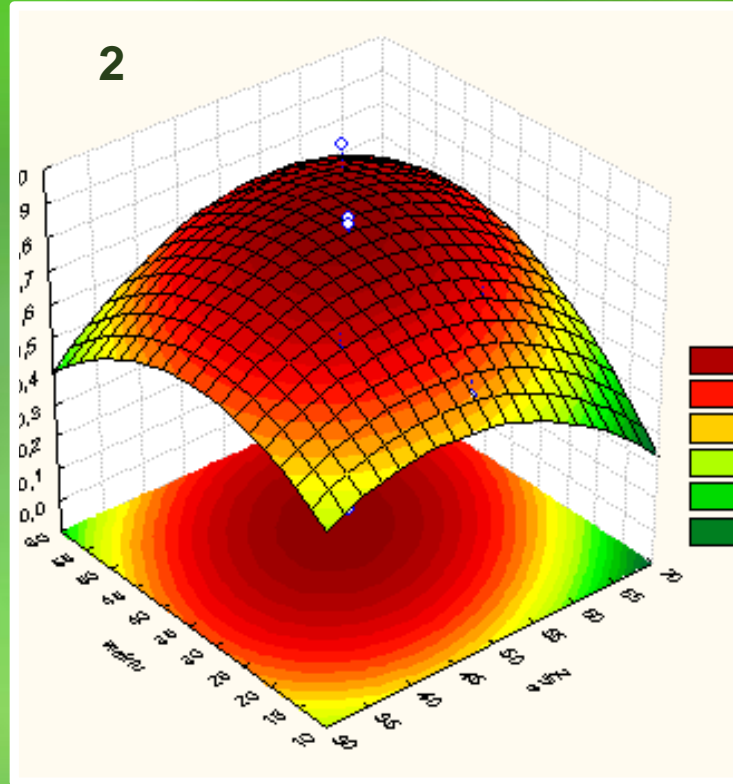
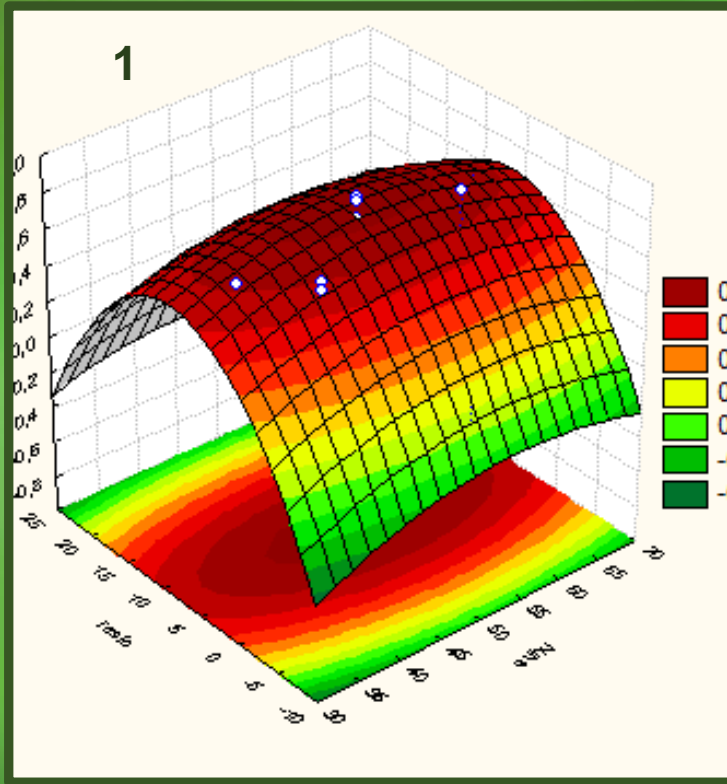
Critical Values Aktivitas Antioksidan

Tabel 10. *Critical Values* Aktivitas Antioksidan

Faktor	<i>Observed Mimum</i>	<i>Critical Values</i>	<i>Observed Maximum</i>
Suhu	41,59104	42,09415	58,40896
Waktu	24,88655	33,71436	50,11345
Rasio	1,59104	15,69610	18,40896



Fitted Curves Validasi %Rendemen



“

Gambar 1 menunjukkan grafik dari perlakuan suhu dengan rasio
Gambar 2 menunjukkan grafik dari perlakuan suhu dengan waktu
Gambar 3 menunjukkan grafik dari perlakuan waktu dengan rasio

”

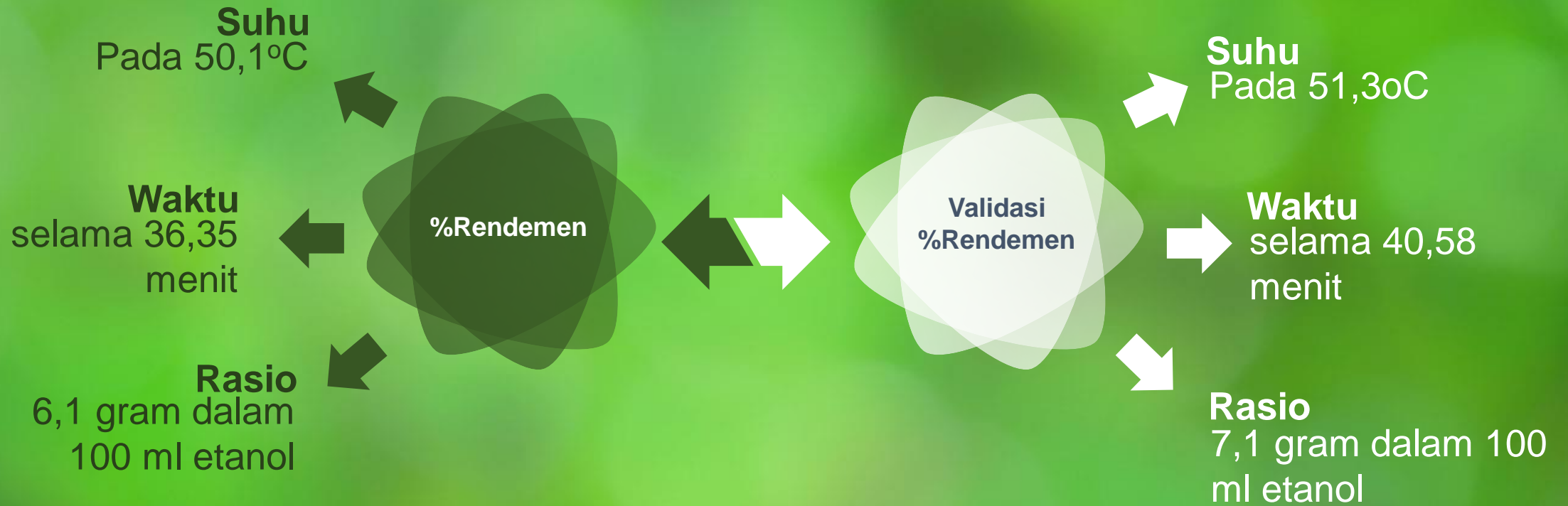
Critical Values Validasi %Rendemen

Tabel 14. Critical Values Validasi %Rendemen

Faktor	Observed Mimum	Critical Values	Observed Maximum
Suhu	36,03284	51,28802	64,31711
Waktu	15,14018	40,58772	57,56659
Rasio	-8,04518	7,05092	20,23909



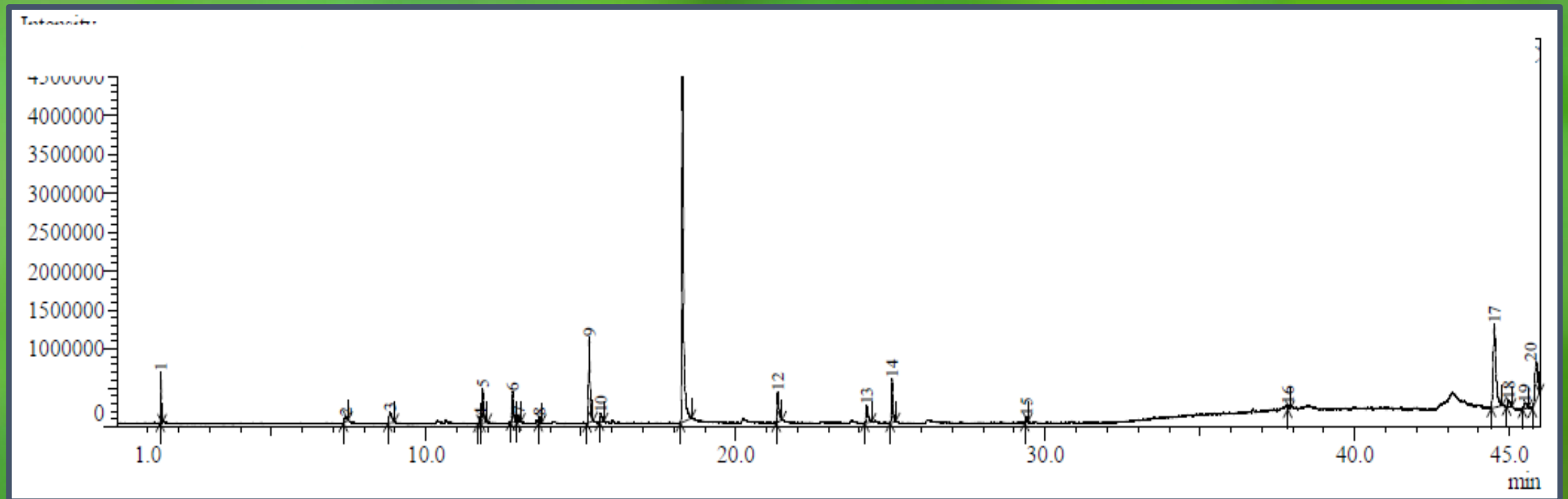
%Rendemen – Validasi %Rendemen





Gas Chromatography – Mass Spectrometry

Peak GC - MS



Tabel 15. GC-MS Oleoresin Biji Pala

No	Area%	Nama Senyawa
1	1,84	<i>Ethanol</i>
2	0,76	<i>α-Thujene</i>
3	2,14	<i>β-Phellandrene</i>
4	0,63	<i>γ-Terpinene</i>
5	3,96	<i>trans Sabinene hydrate</i>
6	3,34	<i>trans Sabinene hydrate</i>
7	0,66	<i>Ether, p-menth-6-en-2-yl methyl</i>
8	0,53	<i>Ether, p-menth-6-en-2-yl methyl</i>
9	8,56	<i>3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS)</i>
10	0,83	<i>α-Terpineol</i>
11	39,8	<i>1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenyl)- (CAS)</i>
12	3,71	<i>Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)- (CAS)</i>
13	2,32	<i>Croveacin</i>
14	4,38	<i>cis-Asarone</i>
15	0,51	<i>Tetradecanoic acid, methyl ester (CAS)</i>
16	0,5	<i>d-Nerolidol</i>
17	16,06	<i>Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide</i>
18	1,12	<i>4'-Hydrazino-4-pentyl-2',3',5',6'-tetrafluorobiphenyl</i>
19	1,1	<i>Naphthalene, 1,1'-(1,10-decanediyl)bis[decahydro- (CAS)</i>
20	7,26	<i>Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide</i>

Kandungan Ekstrak Oleoresin Biji Pala



Safrole



Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide



3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS)



Sabinene

Keterangan

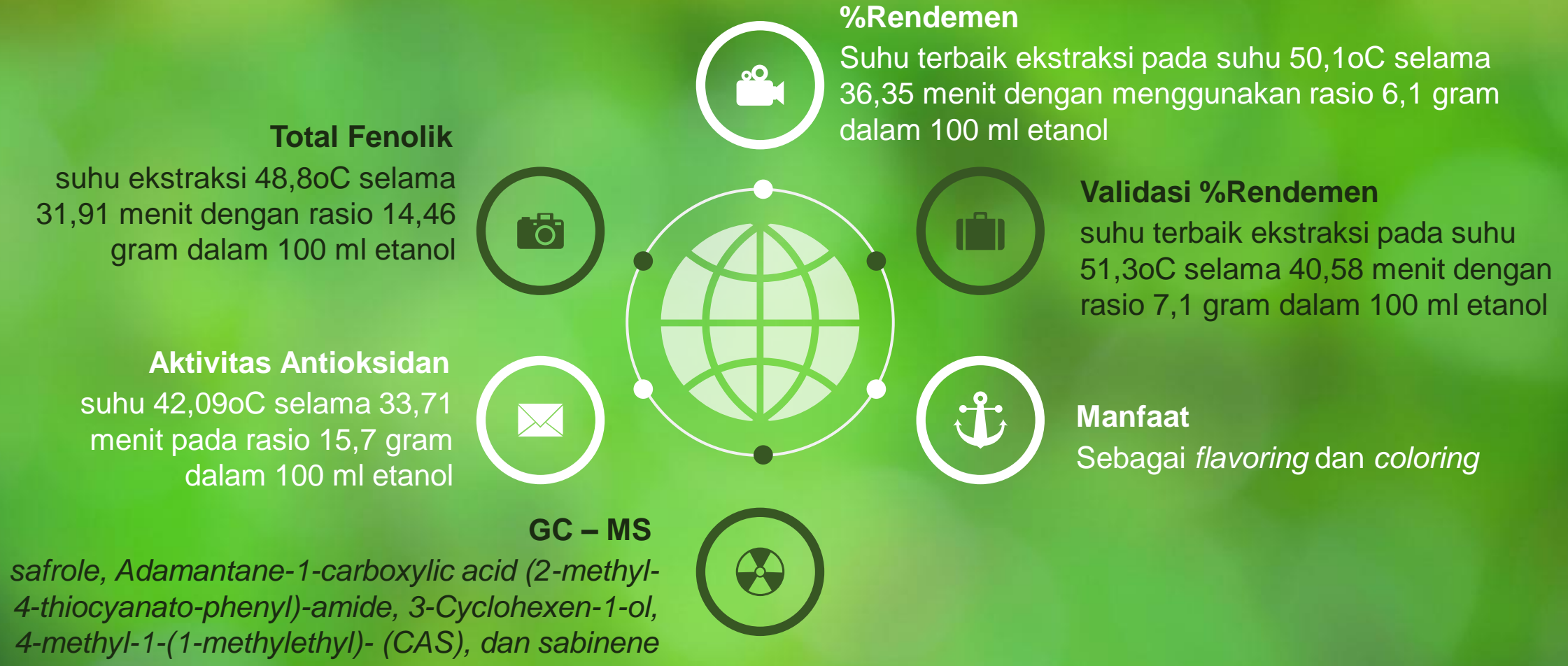
1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenyl)- (CAS) memiliki nama lain *safrole*
trans Sabinene hydrate memiliki nama lain *sabinene*

Myristicin

Tetradecanoic acid, methyl ester (CAS) memiliki nama lain asam miristat



Kesimpulan : Kualitas Ekstrak Oleoresin Biji Pala

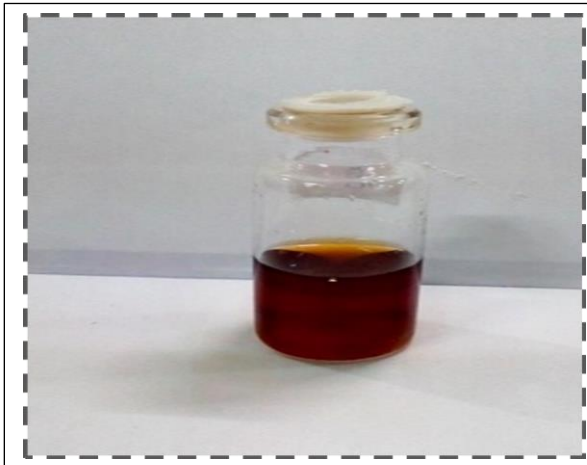


DOKUMENTASI (FOTO) UJI TTG

EKSTRAK OLEORESIN BIJI PALA



Biji Pala



Ekstrak oleoresin biji pala



Analisa kadar air



Ekstraksi ultrasonik oleoresin biji pala



Rotary Vacuum Evaporator



Pengujian aktivitas antioksidan dan total phenol

Dokumen pendukung luaran Tambahan #1

Luaran dijanjikan: Prosiding dalam pertemuan ilmiah Nasional

Target: sudah terbit/sudah dilaksanakan

Dicapai: Accepted

Dokumen wajib diunggah:


1.

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah artikel

Dokumen belum diunggah:

-



PROCEEDING BOOK
FOSTER
FOOD SCIENCE STUDENT CONFERENCE

Enhancing Quality
through Food Innovation



FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
SOEGIJAPRANATA CATHOLIC UNIVERSITY
SEPTEMBER 13th
2019

PROCEEDING BOOK

Food Science Student Conference 2019

**“ENHANCING QUALITY THROUGH FOOD
INNOVATION”**



**September 13th, 2019
Soegijapranata Catholic University
Semarang, Indonesia**

Title: Food Science Student Conference 2019 Proceeding Book

Theme: Enhancing Quality through Food Innovation

Committee Layout:

- Pelindung: Dr.R. Probo Yulianti Nugrahedi, S.TP., M.Sc.
- Person in Charge: Maria Devina R.S.
- Steering Committee: Steven Caprileo, Christopher Halim
- Chairwoman: Yasmine Nat
- Secretary: Kinanti Wahyu S. *, Bica Refaya N.G.
- Treasurer: Vita Sari A.*
- Event Organizer: Leony Kristina*, Felicia, Bernadito Ivan G., Gracella Handoyo, Angelica Tasha S.
- Content Manager: Yohanes Bosko Denny A.N.*, Tobias Adriel Y., Widyawati, Rachelita Agnes S., Vetrin Simvianny
- Fund Raiser: Gloria Sherina L.C.*, Felicia Connie I., V.P. Excel B.N., Alberta Ivana K.P., Angela Linda
- Sponsorship: Alice Septiana D.*, Gita Koresy L., Vania Jessica, Eunike Amadea K., Kresensia Amanda G.
- Documentation: Olivia Octaviana S. *, Theodora Hernita P., Gabriella Viviane
- Publication: Stanley Adrian S. *, Yohanes Ian O.; Tan, Setya Laras W.
- Decoration: Felicia Windy S. *, Bernadeta Banowati B., Siana Mura, Andreina Pascallisty., Silvy Cristina G.
- Consumption: Steffani Sylvia Tan*, Bong Yosua A.S.
- Equipment & Logistic: Laurentia Nicola C. *, Bernadet Aurelia A.W., Flarina Nelisca, Bonaventura Betaldi W., Christopher Hans P., Priskila Septiani K.

Reviewer:

- Dr. R. Probo Yulianto Nugrahedi, S.TP., M.Sc.
- Dr. Ir. Lindayani, MP.
- Dr. B. Soedarini, MP.

Editor: Foster 2019 Committee & Team

Publisher: Universitas Katolik Soegijapranata

TABLE OF CONTENTS

PREFACE	iii
TABLE OF CONTENTS.....	iv
CONFERENCE SCHEDULE.....	v
LIST OF PAPER	vi
RULES OF CONFERENCE	viii

Literature Review: Utilization of Avocado Puree as Fat Replacer in Muffin	
Utilization of Papaya Seeds (<i>Carica papaya</i>) as Functional Antidiarrhea Drink (Jelly Drink).....	
The Effect of Soy Milk and Coconut Milk Substitution on the Physicochemical Properties of Ice Cream	
In Silico-Based Analysis of CRISPR Model Targeting Multiple Sites for Gene Knockout In Wheat (<i>Triticum aestivum</i> Linn.): A Pilot Study to Create Gluten-Safe Wheat Flour	
Microencapsulation of Nutmeg Essential Oil with Vacuum Drying	
CRISPR on Foods for Cancer Treatment: A Review	
Application of Oyster Mushroom Powder as a Fiber Enrichment Ingredient in Instant Noodle	
Implementation of Chitosan on Blue Crab (<i>Portunus pelagicus</i>) Waste to Absorb Pb in Free-Range Chickens (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	
Effectiveness of UV Rays On the Ability of Selected Soil Bacteria in Decomposing LDPE Plastics.....	

CONFERENCE SCHEDULE

Time	Events
07.00 – 07.45	Registration
07.45 – 07.50	<i>Welcoming</i> MC
07.50 – 07.55	Opening Prayer
07.55 – 08.10	Performance of TP Choir
08.10 – 08.15	Greetings from FOSTER's Chairperson
08.15 – 08.25	Greetings from Lecturer
08.25 – 08.35	Introducing the Plenary Speakers
08.35 – 09.10	First Speaker: Nattapol Tangsuphoom, PhD
09.10 – 09.45	Second Speaker: Meiliana, S.Gz., Ms.
09.45 – 10.20	Third Speaker: Francesco Limawan, STP
10.20 – 10.50	Question and Answer
10.50 – 11.05	Summarize by Moderator
11.05 – 11.15	Souvenir for Speakers dan Moderator
11.15 – 13.15	Lunch and Photobooth
13.15 – 13.25	Going to the Parallel Session Classes
13.25 – 13.30	Opening by Class Moderator
13.30 – 13.35	The Reading of Rules by the Timekeeper
13.35 – 15.25	Paper Presentation
15.25 – 15.55	Coffee Break
15.55 – 16.10	Doorprize
16.10 – 16.35	Performance of TP Kustik and Closing Video
16.35 – 16.55	Awarding
16.55 – 17.15	Closing Speech and Prayer
17.15 – finish	Certificate Distribution

LIST OF PAPER

TITLE/AUTHOR
<p>Literature Review: Utilization of Avocado Puree as Fat Replacer in Muffin Angeline Christina Budisantoso, Jennifer Octavia Leowinata, Yosephine Natashya Alvionita <i>Widya Mandala Christian University</i></p>
<p>Utilization of Papaya Seeds (<i>Carica papaya</i>) as Functional Antidiarrhea Drink (Jelly Drink) Maria Angela Layantara, Immanuel Aldrich, Bima Prasetyo Wibowo Endo Mahata <i>Surabaya University</i></p>
<p>The Effect of Soy Milk and Coconut Milk Substitution on the Physicochemical Properties of Ice Cream Natashia Liliani, Natasha Pramudita, Anthonius Christopher <i>Widya Mandala Christian University</i></p>
<p>In Silico-Based Analysis of CRISPR Model Targeting Multiple Sites for Gene Knockout In Wheat (<i>Triticum aestivum</i> Linn.): A Pilot Study to Create Gluten-Safe Wheat Flour Ivan Tjahja Pranata, Lolita Geofanny Pramono <i>Satya Wacana Christian University</i></p>
<p>Microencapsulation of Nutmeg Essential Oil with Vacuum Drying Birgitta Devina Santoso, Ineke Loan Azari <i>Soegijapranata Catholic University</i></p>
<p>CRISPR on Foods for Cancer Treatment: A Review Alberto Septian Wijaya, Lius Chandra Pratama, Ferryawan Kurniady <i>Atma Jaya Catholic University of Indonesia</i></p>
<p>Application of Oyster Mushroom Powder as a Fiber Enrichment Ingredient in Instant Noodle Yosua Karunia P., Sharleen Michaela, Carmenia Christi H. <i>Widya Mandala Catholic University</i></p>
<p>Implementation of Chitosan on Blue Crab (<i>Portunus pelagicus</i>) Waste to Absorb Pb in Free-Range Chickens (<i>Gallus gallus domesticus</i>) Florencia Angel meliana, Ribka Ananda Sejati, Lawrence Billy V Djama <i>Duta Wacana Christian University</i></p>
<p>Effectiveness of UV Rays On the Ability of Selected Soil Bacteria in Decomposing LDPE Plastics Gregorius Nico Adi Setiawan, Felicia Elisabeth, Eunike Ratna Cempaka Dani <i>Soegijapranata Catholic University</i></p>

RULES OF CONFERENCE

1. Plenary Session

- a. Every speaker will present his/her paper.
- b. All participants are prohibited to use any electronic device that produces loud sound during speaker's presentation.
- c. After all presentations, there will be a question and answer session.
- d. The audience should state their personal identity before giving question, suggestions, etc.

2. Paper Presentation

- a. The paper presentation will be conducted by the chairman of that session (moderator).
- b. Speakers should give a short note with their name, institution, and curriculum vitae before their presentation.
- c. Duration of presentation is maximum 10 minutes and followed by 5 minutes discussion.
- d. The audience should state their personal identity before giving question, suggestions, etc.

MICROENCAPSULATION OF NUTMEG ESSENTIAL OIL WITH VACUUM DRYING

Birgitta DevinaSantoso^{1)*}, Victoria Kristina Ananingsih²⁾, Bernadeta Soedarini²⁾, Ineke Loan Azari¹⁾, Andreas Adi Wibowo¹⁾

¹⁾Student; Food Technology Department, Faculty of Agricultural, Soegijapranata Catholic University

²⁾Lecturer; Food Technology Department, Faculty of Agricultural, Soegijapranata Catholic University

*email :birgittadevina@gmail.com

Abstract

Nutmeg (MyristicafragransHoutt) is a native spice from Indonesia that has a distinctive aroma. The aroma of nutmeg seeds come from the content of oleoresin called myristicin, which contain as much as 0.5-13.5%. In the food processing, nutmeg's oleoresin are often added as a flavor. The extraction method and the type of solvent will also affect the amount of oleoresin that can be extracted. Myristicin is easily damaged by heat, bacteria, yeast, and fungi. One attempt to maintain the shelf life of this product is by microencapsulation. The aim of this study was to determine the physicochemical characteristic microencapsulated nutmeg oleoresin and nutmeg butter by vacuum drying process. Analysis of product parameters were conducted, i.e. surface oil, trapped oil, antioxidant activity and water activity. The method used in this study is vacuum drying with 60°C temperature and 0.05 MPA pressure for 24 hours. The principle of vacuum dryer is to make the product dry at a low temperature with vacuum pressure. The results of the study showed that surface oil test, trapped oil, antioxidant activity and water activity in ethanol solvent are 0,002 grams; 0,02 grams; 8,12% ; 0,437 and the results of hexane solvent are 0,113 grams ; 0,056 grams ; 61,39% ; 0,472. According to this study, the best microencapsulation is obtained by using hexane solvent.

Keywords: nutmeg, oleoresin, microencapsulation, vacuum drying

Introduction

Nutmeg (*MyristicafragransHoutt*) is native spices of Indonesia from Maluku and Banda islands. Nutmeg has a distinctive aroma, useful, and has a high selling value (Atmaja *et al.*, 2017). The aromatic compounds of nutmeg are derived from myristicin and elimicin (Rahadian, 2009).

Nutmeg can be processed into essential oils, butter, and oleoresin. Oleoresin is a thick liquid extracted from spices using organic solvents. Oleoresin is composed of essential oils, resins and desired special components. Commonly used solvents in nutmeg extraction are ethanol and hexane. The solvent is widely used because it is not dangerous, non-toxic, has a boiling point that is not too high or low, and has a high solubility so that it can produce high amounts of yield. Extraction with hexane solvent (non-polar) will produce oleoresin with a high fat content and has solid form at room temperature. Extraction with ethanol solvent (polar) will produce oleoresin with a low fat content and has liquid form at room temperature (Suhirman&Balitro, 2013).

Oleoresin and nutmeg butter easily evaporate and have rancid properties at room temperature, so microencapsulation methods are needed to increase the shelf life and selling value of the product. Microencapsulation is the process of coating a solid, liquid, or gas material into microscopic particles with an appropriate coating material. Microencapsulation can increase the shelf life of oleoresin and nutmeg butter, because it is able to keep the active substance in the preparation for a long period of storage (Wahyuni, *et al.*, 2015). The coating material that commonly used is maltodextrin. Maltodextrin is a coating and weight enhancer material, that able to hold water, increase viscosity and texture, without adding sweetness to the product (Ramadhani, *et al.*, 2016).

Vacuum drying method is a drying method by reducing the water content of a product, using a low and constant temperature (Margana&Doni, 2017). Drying with vacuum method is able to produce high yields of product, due to radiant heat transfer which causes water vapor in the vacuum to condense without convection heat transfer. The combination of temperature and vacuum pressure that used must be directly proportional, because it is able to influence the water content of the product (Rifan, *et al.*, 2017).

In the food industry, microencapsulated nutmeg oleoresin and nutmeg butter can be used as flavor enhancers in bread products, cakes, candy, biscuits, and powder drinks. The aim of this study was to determine the best microencapsulation method to produce a good quality of microencapsulated nutmeg oleoresin and nutmeg butter with analysis of product parameters were conducted, i.e. surface oil, trapped oil, antioxidant activity and water activity.

MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials

The equipment used for the microencapsulated nutmeg essential oil are analytic scales, spoon, measuring cup, mixer, glass tray, blender, mesh 60, vacuum oven, Chromameter CR-400, moisture balance, Aw meters, vortex, spectrophotometer, soxhlet, oven binder, desiccator, and centrifuge. The main materials in this study were nutmeg oleoresin, nutmeg butter, maltodextrin, and water.

2.2 Methods

2.2.1 Microencapsulation

Microencapsulated nutmeg essential oil was made by using the method of Ekponget *al.*, (2016) with modification. To compare the best microcapsules between nutmeg oleoresin and butter, the formula for microencapsulation is the same. Microencapsulated nutmeg essential oil using a coating material is maltodextrin, with the ratio of nutmeg essential oil: maltodextrin : water is 3: 20 : 14. The mixture nutmeg essential oil and maltodextrin was gently spread onto a glass tray and dried in a oven vacuum at 60°C for 24 hours, or until the final moisture content of the mixture was less than 10%. The dried mixture was converted to powder using a blender and sieved with mesh 60, then packed in a plastic bag until further analysis.

2.3. Analysis

2.3.1 Color Analysis

Color analysis done using MINOLTA Chromameter 400 series (CR-400). Chromameter calibrated in advance by firing on a white plate. Once calibrated, chromameter is used to measure the color samples. Microencapsulated nutmeg essential oil is placed in the clear plastic then measured with a chromameter. Units of color emerges is L*, a*, dan b*. L value indicates the level of 0 means the absolute black and 100 means white. The value of b is one attribute that indicates with a scale (-70) to 70. The value of b is negative indicates the degree of bluish while the positive values of b indicates the degree of yellowish. The value of a shows a reddish or greenish sample (Pomeranz & Meloan, 1987).

2.3.2 Water Activity

Water activity (Aw point) becoming one of parameters in the analysis of product stability. Measuring water activity is very important to predict and knowing the existence of microorganisms that usually can spoilage on product. Water activity analysis done using Aw meters. Microencapsulated nutmeg essential oil were put into clean and dry containers. Samples are put in

about half of the Aw meter container (approximately 15 grams). Then the sample is measured with Aw meter for 15 minutes and the results obtained are recorded.

2.3.3 Surface Oil Analysis

Microencapsulated samples about 2 grams placed in a centrifuge tube and dissolved in 10 ml of. Then centrifuged at 1700 rpm for 15 minutes. Furthermore, the sample is filtered with filter paper and then washed with 15 ml of hexane for 2 times. The filtrate obtained was displaced in a porcelain cup of known weight and then dried in oven binder for 24 hours. After that, the porcelain cup were put into the desiccator for 15 minutes then weighed as the final weight.

$$\text{Surface oil yield} = \text{the final weight of the porcelain cup} - \text{the weight of the empty porcelain cup}$$

2.3.4 Trapped Oil Analysis

Microencapsulated samples about 2 grams and then wrapped in filter paper 2 times. The Soxhlet is filled with hexane up to half a tube. The sample is put into Soxhlet and then switch on at number 1 for 3 hours. Make sure the hexane in the tube does not run out. After that, the filtrate obtained was displaced in a porcelain cup of known weight and dried in oven binder for 24 hours. After that the porcelain cup were put in a desiccator for 15 minutes then weighed as the final weight.

$$\text{Total oil} = \text{the final weight of the porcelain cup} - \text{the weight of the empty porcelain cup}$$

$$\text{Trapped oil} = \text{total oil} - \text{surface oil}$$

2.3.5 Antioxidant Activity Analysis

Microencapsulated samples about 0,5 grams extracted with 5 ml of methanol for 2 hours in the dark room. 0,1 ml of extract were taken and treated with 3,9 ml of DPPH solution made by dissolving 2,4 mg of DPPH in 100 ml of methanol. Samples were incubated in the dark for 30 minutes and absorbance was measured at a wavelength of 517 nm. As a control, use 0,1 ml of methanol were reacted with 3,9 DPPH solution and methanol used as a blank solution. Antioxidant activity is expressed as %inhibition with the following equation :

$$\% \text{antioxidant activity} = \frac{\text{absorbance control} - \text{absorbance of the sample}}{\text{absorbance control}} \times 100\%$$

(Williams *et al.*, 1995)

RESULTS AND DISCUSSION

3.1 The Color Analysis of Microencapsulated Nutmeg Essential Oil

Table 1. The Color Analysis of Microencapsulated Nutmeg Essential Oil

Sample	Color		
	L*	a*	b*
Malto_Oleoresin	83.39	0.86	6.63
Malto_Butter	95.18	-0.64	3.69

Microencapsulated nutmeg butter has a lighter color than microencapsulated nutmeg oleoresin, with a greenish yellow color. Where the L* notation indicates the lighting value with susceptibility from 0 (dark) to 100 (bright). The a* negative notation shows green, while the a* positive notation shows red. The b* negative notation shows blue and the b* positive notation shows yellow. Color is an important parameter in determining food quality. In addition, color is able to influence the consumer acceptance of a product (Mella, 2016).

3.2 Water Activity of Microencapsulated Nutmeg Essential Oil

Table 2. Water Activity of Microencapsulated Nutmeg Essential Oil

Sample	Aw point
Malto_Oleoresin	0.437
Malto_Butter	0.472

Microencapsulated nutmeg oleoresin has a lower AW value than microencapsulated nutmeg butter, although in susceptible that is not too far. Water activity (AW) shows the amount of free water in food, that used by microbes to grow. High AW value allows microbial growth and the shelf life of the product becomes shorter. Thus, the higher the AW value of a product, the lower shelf life of the product due to microbial growth factors (Ariani, *et al.*, 2016).

3.3 Surface Oil of Microencapsulated Nutmeg Essential Oil

Surface oil shows the amount of oil that is on the surface of the microcapsules, which will affect the stability of the active compound from the essential oil during the storage process. The more surface oil values, the lower the encapsulation efficiency value. So that the amount of active ingredients wrapped is reduced because a lot of oil is attached to the surface. As a result, the oxidative stability of the microcapsules will be damaged (Pourashouri *et al.*, 2014).

Table 3. Surface Oil of Microencapsulated Nutmeg Essential Oil

Sample	Surface Oil (grams)
Malto_Oleoresin	0.002
Malto_Butter	0.113

Microencapsulated nutmeg oleoresin produced surface oil values that are smaller than microencapsulated nutmeg butter with the same coating material and concentration, is maltodextrin with a comparison of samples : coating is 3 : 20. Microencapsulation process using a coating material will increase the viscosity which will give the thickness of the wall in encapsulates. The thickness of the encapsulated wall will reduce the amount of essential oil that will come out of the microcapsules during the hardening process of the microcapsule wall (Jayanudin *et al.*, 2017). Uncapsulated butter or oleoresin will be more susceptible to damage, evaporation, and oxidation which will reduce the quality of microcapsules (Shahidi & Han, 1993). The results of

microencapsulated nutmeg oleoresin means that maltodextrin shows a better ability to stabilize emulsions in nutmeg oleoresin. The amount of maltodextrin used is sufficient to form a layer on the surface of oleoresin droplets.

3.4 Trapped Oil of Microencapsulated Nutmeg Essential Oil

Table 4. Trapped Oil of Microencapsulated Nutmeg Essential Oil

Sample	Trapped Oil (grams)
Malto_Oleoresin	0.020
Malto_Butter	0.056

Trapped oil is the amount of essential oil trapped inside a microcapsule. Microcapsule products with a high percentage of trapped oil show that much oil can be protected by coating agents (Djafar, 2019). The results of trapped oil in microencapsulated nutmeg essential oil are presented in Table 4. The results of microencapsulated nutmeg oleoresin show that the trapped oil is low indicating that the amount of nutmeg oil protected by the polymer is also low, so it can be concluded that the greater amount of trapped oil shows the amount of oil present on the surface to be decreasing.

3.5 Antioxidant Activity of Microencapsulated Nutmeg Essential Oil

Table 5. Antioxidant Activity of Microencapsulated Nutmeg Essential Oil

Sample	Antioxidant Activity
Malto_Oleoresin	8.117%
Malto_Butter	61.385%

Microencapsulated nutmeg butter has a higher antioxidant activity than microencapsulated nutmeg oleoresin. Nutmeg seeds contain carotene and terpenoid compounds that have the potential as antioxidants and antibacterial. Antioxidants are compounds that can inhibit or slow down the oxidation process by free radicals. Terpenoid compounds are generally non-polar, so non-polar solvents are needed to extract these compounds (Ginting, *et al.*, 2017). Example of non-polar solvent that commonly used is hexane (Suhirman & Balitro, 2013). This is why the butter microencapsulation has higher antioxidant activity than oleoresin microencapsulation.

CONCLUSION

Microencapsulated nutmeg oleoresin has antioxidant activity 8,117%, trapped oil 0,02 grams, which surface oil is not too high about 0,002 grams, water activity 0,437, and the color is reddish yellow color. Microencapsulated nutmeg butter has antioxidant activity 61,385%, trapped oil 0,056 grams, which surface oil is not too high about 0,113 grams, water activity 0,472, and the color is greenish yellow color and almost close to white which when added to food and drinks will not affect the color. Depending on the analysis results, it could be concluded that the best microencapsulated nutmeg essential oil by the physicochemical characteristic was microencapsulated nutmeg butter.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors are grateful to the financial support from *Ministry of Research, Technology and Higher Education of the Republic of Indonesia*, Nr: 010/L6/AK/SP2H.1/PENELITIAN/2019

REFERENCES

- Ariani, N.L.S.N., I.N.S. Miwada, dan S.A. Lindawati. (2016). Karakteristik Kimia Produk Susu Fermentasi Kefir Berantioksidan selama Penyimpanan. *Journal of Tropical Animal Science*. Vol.4(2) : 321-336.
- Atmaja, T.H.W., Mudatsir, and Samingan. (2017). Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Buah Pala (*Myristica fragrans*) terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. *Jurnal EduBio Tropika*. Vol.5(1) : 1-53.
- Djafar, Fitriana dan Muhammad Dani Supardan. 2019. Pengaruh Penyalut Maltodekstrin Terhadap Produk Mikrokapsul Minyak Jahe dengan Teknik Spray Drying. *Jurnal Litbang Industri*. E-ISSN : 2502-5007.
- Ekpong, A., Phomkong, W. and Onsaard, E. (2016). The Effects of Maltodextrin as A Drying Aid and Drying Temperature on Production of Tamarind Powder and Consumer Acceptance of The Powder. *International Food Research Journal*, 23(1): 300-308.
- Ginting, B., Mustanir, Hira H., Lydia S.D., Eralisa, dan Rohmat M. (2017). Antioxidant Activity of N-Hexane Extract of Nutmeg Plants from South Aceh Province. *Jurnal Natural*. Vol.17(1) : 1411-39-44.
- Jayanudin, Rochmadi, Rochmadi, M. Kemal Renaldi, Pangihutan, Pangihutan. 2017. Pengaruh Bahan Penyalut Terhadap Efisiensi Enkapsulasi Oleoresin Jahe Merah. *Jurnal Penelitian Kimia*, Vol. 13 (2017), No. 2, Hal. 275-287.
- Margana, A.S., and Doni O. (2017). Kaji Eksperimental Pemanfaatan Panas Kondenser pada Sistem *Vacuum Drying* untuk Produk Kentang. *Seminar MASTER PPNS*. 2548-6527.
- Mella, L.M. (2016). *Pengukuran Wama selama Pencoklatan Enzimatis Ubi Jalar dengan Kamera Handphone Pintar (HP-P)*. Laporan Akhir Departemen Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pomeranz, Y. & C.E. Meloan. (1987). *Food Analysis : Theory and Practice*. Second Edition. Van Nostrand Reinhold Company. New York.
- Rahadian, D.D. (2009). *Pengaruh Ekstrak Biji Pala (Myristica fragrans Houtt) Dosis 7,5 mg/25gr BB terhadap Waktu Induksi Tidur dan Lama Waktu Tidur Mencit Balb/C yang diinduksi Thiophental*. Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Ramadhani, D., Hasnelly, and Tantan W. (2016). *Pengaruh Konsentrasi Maltodekstrin dan Putih Telur terhadap Karakteristik Minuman Serbuk Buah Naga Merah (Hylocereus polyrhizus)*. Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan. Bandung.
- Rifan, Nurrahman, and Siti A. (2017). Pengaruh Jenis Alat Pengering terhadap Karakteristik Fisik, Kimia, dan Organoleptik Sup Labu Kuning Instan. *Jurnal Pangan dan Gizi*. Vol.7(2) : 104-116.
- Suhriman, S., and Balitro. (2013). Diversifikasi Produk Biji Pala. *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*. Vol.19(3) : 17-20.
- Wahyuni, R., Auzal H., and Yustina S.I. (2015). Mikroenkapsulasi Karbamazepin dengan Polimer HPMC menggunakan Metoda Emulsifikasi Penguapan Pelarut. *Jurnal Farmasi Higea*. Vol.7(2) : 109-207.
- Williams, W. B.; M. E. Cuvelier; & C. Berset. (1995). *Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity*. *Lebensm-wiss* Vol 28. Pp.25-30.

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS KATOLIK SOEGIJAPRANATA
Jalan Pawiyatan Luhur IV nomor 1, Benda Dhuwur Semarang 50234
Telpon: (024) 8441555; Fax: (024) 8445265, 8415429
e-mail: unika@unika.ac.id <http://www.unika.ac.id>



September 7, 2019

Dear

Birgitta Devina Santoso, Victoria Kristina Ananingsih, Bernadeta Soedarini, Ineke Loan Azari
From Soegijapranata Catholic University

Thank you for sending the full paper entitled “Microencapsulation of Nutmeg Essential Oil with Vacuum Drying”. The Paper will be judged to determine The Best Paper Award Winner. Here we attached the official acceptance letter.

We kindly remind you that Food Science Student Conference 2019 will be held at September 13th, 2019 at Thomas Aquinas Building, Soegijapranata Catholic University. The registration starts at 7 am.

See you soon at Soegijapranata Catholic University, Semarang, Indonesia !

Thank you for your cooperation.

Yours sincerely,
FOSTER 2019 Commitee

Sincerely,
Chairperson of FOSTER 2019

Yasmine Nathania H

Dokumen pendukung luaran Tambahan #2

Luaran dijanjikan: Hak Cipta

Target: granted

Dicapai: Bersertifikat

Dokumen wajib diunggah:

1. Deskripsi dan spesifikasi ciptaan
2. Sertifikat hak cipta

Dokumen sudah diunggah:

1. Sertifikat hak cipta
2. Deskripsi dan spesifikasi ciptaan

Dokumen belum diunggah:

-

PENGOLAHAN OLEORESIN BIJI PALA DENGAN METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK

BUKU PANDUAN



Penyusun :

Dr. Victoria Kristina Ananingsih, ST. MSc.

Dr. B. Soedarini, S.TP, MP.

Evita Nia Rahardjo.

Program Studi Teknologi Pangan
Fakultas Teknologi Pertanian
Universitas Katolik Soegijapranata Semarang
2019

PENGOLAHAN OLEORESIN BIJI PALA DENGAN METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK

MODUL KARYA TEKNOLOGI

Victoria Kristina Ananingsih, Bernadeta Soedarini, dan Evita Nia Rahardjo

Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Katolik Soegijapranata Semarang

Email : kristina@unika.ac.id

1. Pala

Pala merupakan tanaman yang tumbuh di daerah tropis. Pala merupakan tanaman asli dari Pulau Maluku, Indonesia (Jain & Häggman, 2007). Tanaman pala tumbuh baik di daerah tropis, selain di Indonesia tanaman pala juga tumbuh di Amerika dan Afrika. Pala termasuk dalam famili *Myristicaceae* yang terdiri atas 15 genus dan 250 species (Nurdjannah, 2007). Buah pala tersusun atas bagian biji dan bagian mace. Biji pala selain dibungkus oleh mace, biji pala juga dilapisi oleh lapisan keras untuk melindungi biji. Biji pala memiliki ciri panjang ± 4 cm dan lebar ± 2 cm, bewarna coklat, dan berbentuk oval (Tainer & Grenis, 2001). Pala dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae – Plants*

Subkingdom : *Tracheobionta – Vascular plants*

Superdivision : *Spermatophyta – Seed plants*

Division : *Magnoliophyta – Flowering plants*

Class : *Magnoliopsida – Dicotyledons*

Subclass : *Magnoliidae*

Order : *Magnoliales*

Family : *Myristicaceae – Nutmeg family*

Genus : *Myristica Gronov. – nutmeg*

Species : *Myristica fragrans* Houtt. – *nutmeg*

(USDA, <https://plants.usda.gov/core/profile>)

Bagian pala yang sering digunakan yakni bagian bijinya. Pala (*Myristica fragrans*) mengandung penilpropana yang tersusun atas *myristicin* (50%-75%), *safrole*, *eugenole*, *elernicin*, dan *THC / Trepane Hydrocarbon* (α -pinene, limonene, dan p -cymene). Pala juga mengandung *trepene alcohols*, *geraniol*, *borneol*, *linalool*, dan *trepineol* dalam konsentrasi rendah (Wagner & Bladt, 2011). *Myristicin* merupakan komponen utama pada pala. Kandungan dalam pala dapat diekstraksi untuk diperoleh oleoresinnya. Oleoresin pala digunakan industri untuk *colouring* dan *flavouring* (Peter, 2012).

2. Oleoresin

Oleoresin adalah campuran dari resin dan minyak esensial yang didapatkan dari hasil ekstraksi rempah-rempah yang memiliki karakteristik rasa dan aroma yang sama dengan bahan asalnya (Prasetyo & Mulyono, 1987). Minyak esensial pada oleoresin dapat menimbulkan aroma yang khas, sedangkan resin dan senyawa non volatile lainnya akan membentuk cita rasa khas dari rempah-rempah (Rodianawati *et al.*, 2015). Oleoresin mempunyai keuntungan diantaranya lebih higienis, aroma dan *flavor* lebih kuat dibandingkan dengan bahan yang segar, stabil selama penyimpanan, selama penyimpanan tidak membutuhkan tempat yang besar, biasanya memiliki kandungan antimikrobia, mengandung antioksidant natural, memiliki masa simpan yang panjang, lebih mudah untuk ditransportasikan, dan lebih aman dari jamur-jamur berbahaya yang biasanya tumbuh di rempah-rempah (Khasanah *et al.* 2017). Menurut Sofyana *et al.* (2013) terdapat beberapa metode yang dapat digunakan untuk mengekstrak oleoresin seperti *solvent extraction*, *steam destilation*, *high hydrostatic pressure extraction*, *pulse electric field process*, *high pressure process*. Metode ekstraksi tersebut memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan suhu tinggi sehingga hasil oleoresin yang didapat tidak optimal.

3. Etanol

Etanol merupakan pelarut organik yang banyak digunakan. Etanol termasuk pelarut organik dengan polaritas yang tinggi (Sumbono, 2019). Hasil yang diperoleh dari pelarut etanol tidak sebaik metanol. Metanol memiliki polaritas yang lebih tinggi dibanding etanol. Namun

metanol bersifat racun sehingga tidak bisa digunakan untuk ekstraksi makanan sehingga yang digunakan etanol yang aman jika dikonsumsi atau *food grade* (Lestario, 2017). Pelarut etanol banyak digunakan untuk ekstraksi dikarenakan selektif, tidak mudah ditumbuhi mikroba, tidak beracun, netral, absorpsi baik, mampu bercampur dengan air, dan mudah diuapkan pada suhu rendah. Etanol dapat melarutkan alkaloid, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar, dan klorofil. Selain itu juga sedikit melarutkan lemak, malam, tanin, dan saponin. Kemampuan melarutkan etanol dapat membuat bahan yang tidak diinginkan ikut terlarut meski dalam jumlah sedikit (Najib, 2018). Sifat etanol yang memiliki kepolaran tinggi membuat etanol dapat berikatan dengan air. Saat proses ekstraksi, etanol akan menarik minyak sambil berikatan dengan air sehingga saat evaporasi pelarut etanol akan menguap. Namun, air akan tetap tertinggal di dalam minyak. Etanol juga melarutkan warna yang terkandung pada bahan yang diekstrak. Sifat etanol yang melarutkan pigmen warna pada sampel terutama yang gelap menyebabkan minyak hasil ekstraksi etanol tidak bisa dilakukan analisa bilangan penyabunan (Aziz, 2009).

4. *Ultrasound-assited Extraction (UAE)*

Ekstraksi ultrasound didasarkan pada fenomena sonokimia yang berhubungan dengan kavitasi akustik yaitu dengan pembentukan microbubbles dalam cairan ketika tekanan tinggi diaplikasikan juga. Gelembung yang terbentuk akan tumbuh dengan ukuran yang tidak stabil yang kemudian pecah dan melepaskan energi yang kuat dengan efek kimia dan mekanis. Selama gelembung pecah tekanan meningkat lebih dari 1000 atm (Martínez, 2009). Pelarut organik yang digunakan umumnya etanol. Etanol memiliki sifat rendah toksisitas dan termasuk ke dalam *green solvent* yang mampu diaplikasikan dalam pengolahan pangan (Aguirre, 2017).

Menurut Capelo-Martine (2009) terdapat beberapa hal yang mempengaruhi hasil ekstraksi, diantaranya adalah

- Jumlah sampel : bila terjadi penambahan sampel, harus diikuti dengan penambahan solvent agar dihasilkan rasio konstan antara solid dan solvent
- Ukuran partikel sampel : semakin kecil ukuran partikel sampel maka akan meningkatkan *solid-liquid interface* dan akan menaikkan efektifitas ekstraksi.

- Solvent : solvent yang dipilih harus memiliki sifat polaritas yang sesuai dengan analisis serta tidak ikut mengekstrak senyawa pengganggu.
- *Sonic Power* : setiap alat memiliki kekuatan masing-masing yang dapat mempercepat proses ekstraksi
- Frekuensi : besarnya frekuensi mempengaruhi gelembung kativasi dan semakin tinggi frekuensi maka produksi dari gelembung aktivasi akan semakin sulit.
- Waktu ekstraksi : efektivitas ekstraksi akan meningkat seiring dengan waktu sampai mencapai titik equilibrium, tetapi semakin lamanya waktu ekstraksi dapat menyebabkan degradasi komponen
- Suhu ekstraksi : semakin naiknya suhu, maka akan menaikkan efisiensi dari ekstraksi karena akan menaikkan jumlah gelembung kativasi tetapi bila suhu mendekati titik didih maka akan menurunkan hasil ekstraksi.

5. Suhu dan Waktu Ekstraksi

Menurut Capelo-Martin (2009) hasil akhir ekstraksi dipengaruhi oleh suhu. Suhu semakin tinggi, maka akan menaikkan efisiensi dari ekstraksi. Hal ini dikarenakan temperatur akan menaikkan jumlah gelembung kativasi. Charpe & Rathod (2016) menambahkan bahwa suhu yang terlalu rendah akan menghasilkan gelembung yang sedikit tetapi meletus dengan intensitas yang tinggi sehingga meningkatkan penggangguan sell dan menaikkan transfer massa. Pada suhu tinggi, gelembung yang dihasilkan akan lebih banyak tetapi meletus dengan intensitas yang rendah. Oleh karena itu, pada suhu yang lebih tinggi perubahan dalam hasil ekstraksi adalah marginal.

Waktu ekstraksi yang semakin lama akan membuat berat jenis oleoresin cenderung semakin besar. Hal ini disebabkan karena kandungan pelarut pada oleoresin menguap, sehingga pelarut dalam oleoresin berkurang dan menyebabkan oleoresin lebih jernih, pekat dan kental dan diperoleh berat jenis yang cenderung membesar seiring dengan bertambahnya waktu ekstraksi. Namun semakin lama waktu ekstraksi, maka berat oleoresin akan semakin menurun, karena semakin lamanya waktu ekstraksi, mengakibatkan jumlah rendemen oleoresin yang dapat diikat oleh pelarut organik semakin sedikit dikarenakan menguapnya sebagian minyak atsiri (Bustan *et al.*, 2008).

6. Proses Pengolahan Oleoresin Biji Pala dengan Ekstraksi Ultrasonik

Proses pengolahan oleoresin menggunakan ekstraksi ultrasonik (*Ultrasound Assisted Extraction*, UAE). Pertama, biji pala dikeringkan selama 1 hari pada suhu 50°C. Lalu biji pala kering dihancurkan hingga menjadi bubuk menggunakan blender. Kemudian bubuk pala dicampurkan dengan etanol dengan perbandingan 10:100 (bubuk pala:etanol) dan dimasukkan dalam erlenmeyer. Kemudian sampel diekstraksi dengan *ultrasound* pada frekuensi 45kHz dan power 100 W dengan perlakuan suhu 50 °C dan waktu ekstraksi 37,5 menit. Setelah itu hasil ekstraksi disaring dengan kertas Whatman no. 1, kemudian pelarut diuapkan dengan *Rotary Vacum Evaporator* untuk mendapatkan oleoresin biji pala. Diagram alir penelitian disajikan pada Gambar 1.

Untuk mengetahui kualitas oleoresin biji pala dilakukan pengujian efisiensi oleoresin biji pala (rendemen), aktivitas antioksidan, dan total fenolik. Pengujian efisiensi oleoresin biji pala dilakukan dengan menghitung % rendemen dari sampel, aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH, dan total fenolik menggunakan metode Folin–Ciocalteu.

Pengujian Uji Efisiensi Oleoresin Biji Pala (Anggraini et al., 2018 modifikasi)

Pengujian efisiensi ekstraksi oleoresin biji pala dilakukan dengan perhitungan menggunakan rumus :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{volume oleoresin hasil ekstraksi (ml)}}{\text{berat awal (g)}} \times 100\%$$

Pengujian Aktivitas Antioksidan (Rauf et al., 2013; Gulcin, 2005)

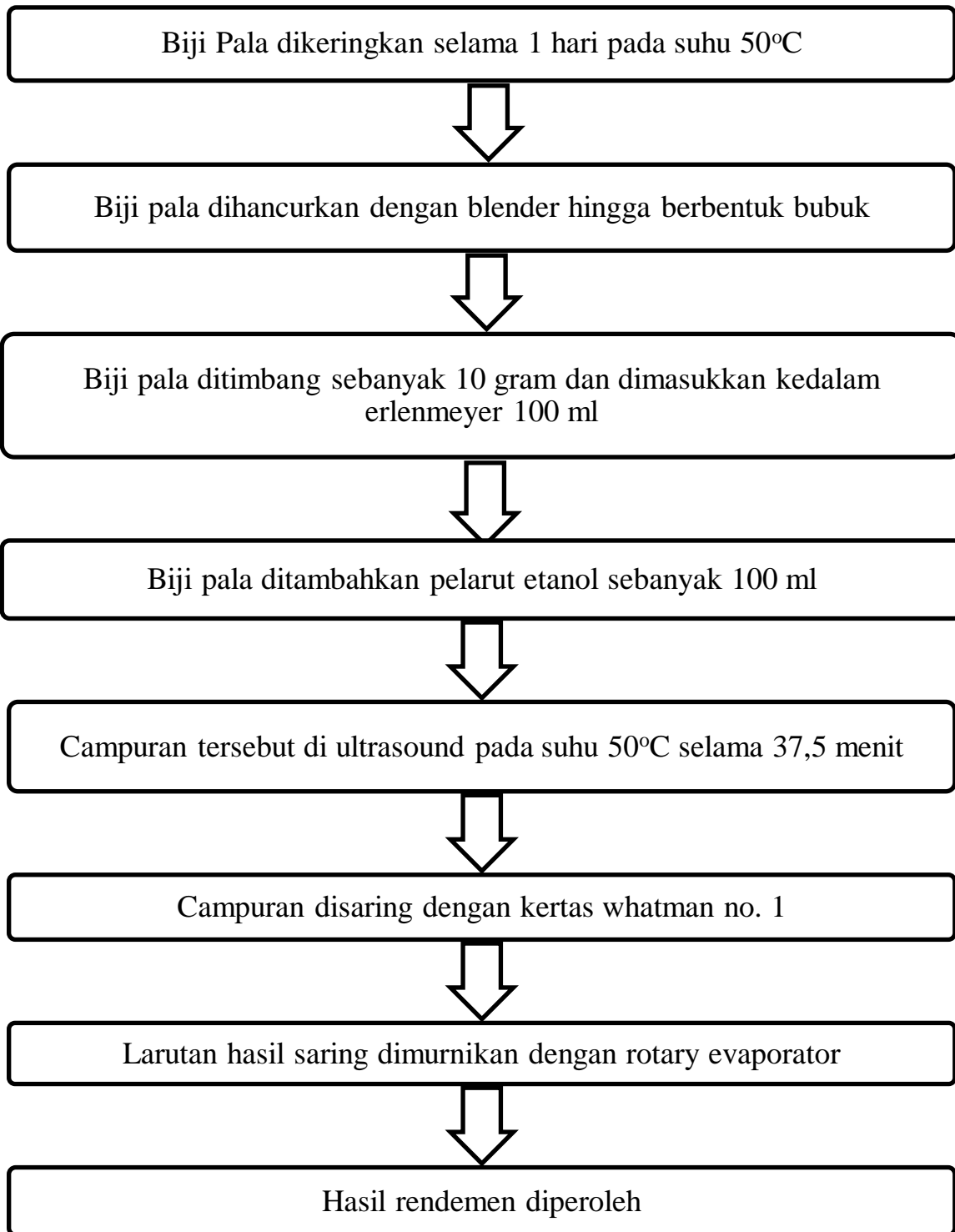
Aktivitas antioksidan diperoleh menggunakan metode DPPH. Pertama-tama disiapkan larutan DPPH dalam metanol. Kemudian disiapkan larutan stok sampel 1000 ppm. Lalu sampel diambil sebanyak 5 ml dan ditambahkan 3 ml DPPH. Campuran sampel diinkubasi selama 30 menit dalam keadaan gelap. Setelah itu larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm (A_{sampe}). Nilai absorbansi larutan blanko

(A_{blanko}) diukur melalui metode yang sama, tanpa adanya penambahan sampel. Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai %*discoloration* yang dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\%Discoloration = \left[\frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \right] \times 100$$

Pengujian Total Fenolik (Santos et al., 2015 modifikasi)

Total fenolik dianalisa dengan spektrofotometer dengan metode Folin–Ciocalteu. Senyawa Folin–Ciocalteu diencerkan (1:10) kemudian ditambahkan ke 0,5 ml larutan ekstrak dalam metanol. Setelah 5 menit, ditambahkan 2,0 ml larutan natrium karbonat (7,5%). Setelah itu larutan disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada 762 nm. Asam galat digunakan sebagai standar, dan hasilnya dinyatakan sebagai miligram *gallic acid equivalent* (GAE) per gram ekstrak.



Gambar 1. Diagram Alur Proses Pengolahan Oleoresin Biji Pala

Metode ekstraksi ultrasonik merupakan salah satu metode terbaik untuk mengekstraksi sampel. Metode ekstraksi ultrasonik menggunakan gelembung kavitasi yang mampu memecah dinding sel pada sampel sehingga didapatkan hasil ekstrak yang lebih banyak dibandingkan dengan metode yang lain. Hasil ekstraksi biji pala menggunakan metode ultrasonik rendemen sebesar 48,7%. Hasil rendemen yang didapat kemudian dianalisa lebih lanjut menggunakan uji total fenolik dan uji aktivitas antioksidan. Oleoresin biji pala yang dihasilkan mempunyai kualitas yang baik dimana hasil total fenolik yang didapat sebesar 8,163% sedangkan pada hasil aktivitas antioksidan yang diperoleh sebesar 93,07%.



(a)



(b)

Gambar 2. (a) Biji pala sebelum proses pengolahan (b) Oleoresin biji pala

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, Rini, Afghani Jayuska, & Andi Hairil Alimuddin. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Minyak Atsiri Lada Hitam (*Piper nigrum* L.) Asal Sajingan Kalimantan Barat. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. Volume 7 Nomor 4:24-133.
- Aguirre, Daniela Bermudez. (2017). *Ultrasound: Advances in Food Processing and Preservation*. Academic Press. UK.
- Capelo-Martine, J.L. (2009). *Ultrasound in Chemistry Analytical Application*. Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA. Portugal.
- Charpe, T.W., & Rathod, V.K. (2016). *Kinetic Of Ultrasound Assisted Extraction Of Wedelolactone From Eclipta alba*. *Brazilian Journal*, 33(4). Brazil.
- Gulcin, I. (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *International Journal Food Science Nutrition*, 56(7), 1-9. doi:10.1080/09637480500450248
- Jain, S. Mohan & H. Häggman. (2007). *Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits*. Springer. Netherlands.
- Khasanah, L. U., Anandhito, B. K., Titiek Rachmawaty, R. U., & Manuhara, G. J. (2015). Pengaruh Rasio Bahan Penyalut Maltodekstrin, Gum Arab, dan Susu Skim Terhadap Karakteristik Fisik dan Kimia Mikrokapsul Oleoresin Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*). *Agritech*, 35(4). Retrieved from <https://media.neliti.com/media/publications/177527-ID-pengaruh-rasio-bahan-penyalut-maltodekst.pdf>
- Lestario, Lydia Ninan. (2017). *Antosianin: Sifat Kimia, Perannya dalam Kesehatan, dan Prospeknya sebagai Pewarna Makanan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Nurdjannah, Nanan. (2007). *Teknologi Pengolahan Pala*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Indonesia.
- Peter, K. V. (2012). *Handbook of Herbs and Spices*. Woodhead Publishing. UK.
- Prasetyo, A. P. & Mulyono, E. (1987). Penggunaan Oleoresin Sebagai Bahan Penyedap Makanan dan Minuman. *Bul Littro*, 1(2). Lampung.
- Rauf, A., Uddin, G., Ali, M., Ahmad, N., & Gul, S. (2013). Phytochemical screening and antioxidant activity of. *Wudpecker Journal of Medicinal Plants*, 2(1), 001-006.
- Rodianawati I, Hastuti P, & Cahyanto M.N. Nutmeg's (*Myristica fragrans* Houtt) Oleoresin: Effect of Heating to Chemical Compositions and Antifungal Properties. The First International Symposium on Food and Agro-biodiversity (ISFA2014). *Procedia Food Science* 3, 244-254.
- Santos, Philipe, Ana C. Aguiar, Gerardo F. Barbero, Camila A. Rezende, & Julian Martínez. (2015). *Supercritical Carbon Dioxide Extraction Of Capsaicinoids*

From Malagueta Pepper (Capsicum frutescens L.) Assisted by Ultrasound. Ultrasonics Sonochemistry. Volume 22 nomor 1:78–88.

Sofyana, Supardan, M. D., Maulida, C. A., & Haura, U. (2013). Ultrasound Assisted Extraction of Oleoresin from Nutmeg (*Myristia Fragrans* Houtt). *International Journal on Advanced Scienced, Engineering and Information Technology*. doi:10.18517/ijaseit.3.4.298.

Tainter, Donna R. & Anthony T. Grenis. (2001). *Spices and Seasonings: A Food Technology Handbook*. Wiley – WCH. Canada.

USDA. _____. *Plants Profile for Myristica fragrans Houtt (nutmeg)*. <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MYFR3> (diakses tanggal 14 Maret 2019).

Wagner, H. & Bladt, S. (2011) *Plant Drugs Analisis, a Thin Layer Chromatography*. 2nd Edition, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York.



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00201973966, 2 Oktober 2019

Pencipta

Nama : **Dr. V. Kristina Ananingsih, ST., MSc, Dr. Ir. B. Soedarini, MP,**
, dkk

Alamat : JL. Mugas Dalam No 08 RT 04/ RW 01, Kelurahan : Mugasari,
Kecamatan : Semarang Selatan , Semarang, Jawa Tengah, 50145

Kewarganegaraan : Indonesia

Pemegang Hak Cipta

Nama : **LPPM Universitas Katolik Soegijapranata**

Alamat : Jl. Pawiyatan Luhur IV/1, Bendan Dhuwur, Semarang, Jawa Tengah,
50234

Kewarganegaraan : Indonesia

Jenis Ciptaan : **Buku Panduan/Petunjuk**

Judul Ciptaan : **PENGOLAHAN OLEORESIN BIJI PALA DENGAN
METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK**

Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 14 Agustus 2019, di Semarang

Jangka waktu perlindungan : Berlaku selama 50 (lima puluh) tahun sejak Ciptaan tersebut pertama kali dilakukan Pengumuman.

Nomor pencatatan : 000157128

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.

Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.

a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL



Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

LAMPIRAN PENCIPTA

No	Nama	Alamat
1	Dr. V. Kristina Ananingsih, ST., MSc	JL. Mugas Dalam No 08 RT 04/ RW 01, Kelurahan : Mugasari, Kecamatan : Semarang Selatan
2	Dr. Ir. B. Soedarini, MP	JL. Ngadinegaran MJ.3/154 RT 003/RW001 Kelurahan : Mantrijeron, Kecamatan:Mantrijeron
3	Evita Nia Rahardjo	JL. Wanara Timur Raya 996 RT 005/RW005, Kelurahan : Pedurungan Tengah, Kecamatan : Pedurungan



Dokumen pendukung luaran Tambahan #3

Luaran dijanjikan: Prosiding dalam pertemuan ilmiah Internasional

Target: sudah terbit/sudah dilaksanakan

Dicapai: Sedang direview

Dokumen wajib diunggah:

1.

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah artikel

Dokumen belum diunggah:

-

Separation of Oleoresin from Nutmeg Using Ultrasound Assisted Extraction and Hexane as Solvent

Victoria Kristina Ananingsih, Bernadeta Soedarini, Emerentiana Karina
Department of Food Technology, Soegijapranata Catholic University, Semarang,
Indonesia

Email : kristina@unika.ac.id

Abstract. Indonesia has many herbs and spices that function as ingredients for making herbal medicine or for cooking. Nutmeg (*Myristica fragrans*) is an Indonesia's origin plant that has many health benefits. It produces specific flavors come from its bioactive compounds, namely oleoresin. Oleoresin can be extracted from nutmeg to get the concentrated compounds; hence it can be applied easily as the ingredient of food and beverage products. Ultrasonic assisted extraction (UAE) is applied in this research since it has higher yield compared to other extraction methods. This research is aimed to optimize the process condition of ultrasonic assisted extraction of nutmeg to get the good qualities of oleoresin. Solvent used in this research was hexane with extraction temperatures of 39, 45, 52 °C, and extraction times of 30, 45 and 60 minutes. Ratio between nutmeg and solvent were 5:100, 10:100 and 15:100. Frequency used was 45 kHz. The results showed that the optimum process condition to separate oleoresin from nutmeg were at extraction temperature of 52 °C, extraction time of 60 minutes and ratio between nutmeg and hexane of 5:100. This optimized process condition produced yield 62% of extracted oleoresin. Antioxidant activity and phenol content of this optimized oleoresin were 44,78% and 0,11 ppm respectively.

Keywords: nutmeg, oleoresin, ultrasound, hexane

1. Background

Nutmeg (*Myristica fragrans*) is an original plant from Indonesia that grows well in tropical climates at altitudes below 700 meters above sea level. When the nutmeg is cut into two parts, the nutmeg seeds appear wrapped in a red layer called mace. Nutmeg seeds can be used to give flavor to food products due to the presence of oleoresin and essential oils contained in them. As a country of origin of nutmeg, Indonesia supplies nearly 75% of the world's nutmeg and mace seed needs. The popularity of nutmeg on the global market began in the 16th century since Ternate, Tidore, Ambon and the Banda Islands became the main pathway for foreign countries to enter Indonesia. In 2006, Indonesia exported 347,919 kg of nutmeg with a total export value of 1,861,232 USD. Then in 2017, Indonesia exported 11,505,972 kg of nutmeg with a total export value of 50,138,286 USD (Directorate General of Plantations, 2017).

Nutmeg consists of three parts namely flesh, mace, and nutmeg seeds. Nutmeg meat can be processed as a pickled fruit product. Whereas mace and nutmeg seeds are known to have high oleoresin content, but oleoresin has easily oxidized properties. Oleoresin extract from nutmeg has a high amount of demand for domestic and export needs so it requires more handling to maintain its quality. Therefore it need a method to produce optimal amount of oleoresin. The most commonly used

method to obtain oleoresin is the extraction method. Ultrasound extraction has high mass transfer efficiency, less use of organic solvents, and higher extraction rates than the Soxhlet method.^[1] At present ultrasound, extraction has begun to be applied in industries such as edible oil extraction.^[2] Ultrasound extraction is more effectively applied for extraction at low temperatures which would be advantageous for extracting heat-sensitive compounds.^[3]

This study aims to determine the effect of the ratio between the solvent and the ingredients, temperature, and extraction time on the effectiveness of the nutmeg oleoresin extraction process. In addition, this study also aims to determine the total phenolic content and antioxidant activity in nutmeg oleoresin extract.

2. Methods

2.1. Materials

The materials used in this study were nutmeg, n-hexane, *Folin-Ciocalteu* compound, sodium carbonate solution (7.5%), DPPH solution in ethanol 0.1 mM, gallic acid, KOH 0.1 N solution, *phenolphthalein* indicator, a solution of 0.5 N HCl, and distilled water.

2.2. Response Surface Methodology (RSM)

This method is used to analyze problems where several independent variables influence the response variable and create a model or experimental design to optimize the response. The relationship between the response of Y and the independent variable X is as follows:

$$Y = b_0 + \sum_i^k b_i \cdot x_i + \sum_i^k b_{ii} \cdot x_i^2 + \sum_i^k b_i \cdot x_i \cdot x_{ii}$$

Explanation:

Y= response variable

X_i= independent variable / factor (i = 1,2, ... k)

b= coefficient

The first step of the *Response Surface Method* (RSM) is to determine the relationship between response Y and response X through a first order polynomial equation and use a linear regression model.^[4]

$$Y = b_0 + \sum_i^k b_i \cdot x_i + \sum_i^k b_{ii} \cdot x_{ii}$$

Y= response variable

X_i= independent variable / factor (i = 1,2, ... k)

b= coefficient

The full experimental design in this study can be seen as follows:

a) Independent Variable

- Temperature, connoted as X₁ with points: 390C, 450C, and 520C.
- Time, connoted as X₂ with points: 30 minutes, 45 minutes and 60 minutes.
- Ratio, connoted as X₃ with points: 5:100, 10:100, and 15:100.

b) Response Variable

- Percentage of yield
- Total phenolic
- Percentage of antioxidant activity

c) First order model: factorial design 2³, each factor having a low level (code: -1), middle level (code: 0), high level (code: +1), and a level on the axial axis (code: -α and +α). The α value for the CCD design is:

$$\alpha = (2^k)^{1/4}$$

Explanation:

α = axial axis

k= number of factors or independent variables

In this study there are 3 (three) independent variables, then an α value of 1.682 is obtained. The magnitude of the variables with codes - α and + α can be calculated by the equation:

$$- \alpha = (0) - 1,682 [(0) - (-1)]$$

$$+ \alpha = (0) + 1,682 [(0) - (-1)]$$

With this equation, we obtain 3 (three) independent variables with 5 (five) level variables.

2.3. *Oleoresin Extraction Process*

The oleoresin extraction process begins by drying the nutmeg seeds using an oven at 60°C for 1 hour. Then nutmeg crushed using a blender. Furthermore, nutmeg seed powder is put into an Erlenmeyer tube and the n-hexane solvent is added, and then tightly closed with aluminum foil. After the Erlenmeyer tube is inserted in an *ultrasonic bath* that has been set in temperature and time. The extraction temperature range used is 39°C, 45°C, and 52°C. The extraction time range used is 30 minutes, 45 minutes and 60 minutes. The ratio of the sample to the solvent used is 5: 100, 10: 100, and 15: 100. Then the extract is filtered with a filter cloth. After that, the extract is evaporated with a *rotary vacuum evaporator* for 4-6 minutes at 40°C. With a speed of 50 rpm. Furthermore, the extract was put into a vial bottle and stored in a *freezer* so that it can be used for further analysis.^[5]

2.4. *Nutmeg Oleoresin Quality Testing*

Tests carried out to measure the extraction efficiency of nutmeg oleoresin or rendemen^[6], testing of antioxidant activity^[7] and total phenolic testing^[8].

3. Results and Discussion

3.1. *Effectiveness of Oleoresin Extraction*

The results of the optimization analysis of the yield of nutmeg oleoresin extraction can be seen in Figure 1, 2 and which is a *fitted surface* graph depicting the relationships between variables in three coordinate segments so as to form a 3D (three-dimensional) curve, namely (1) time and ratio variables (2) time and temperature (3) temperature and ratio, to the yield of nutmeg oleoresin yield. Based on the graph, the red area shows the optimal area. In this study the optimal point of extraction temperature was 41.27°C, extraction time was 55.30 minutes and the ratio of material was 11.79 grams to the yield of nutmeg oleoresin

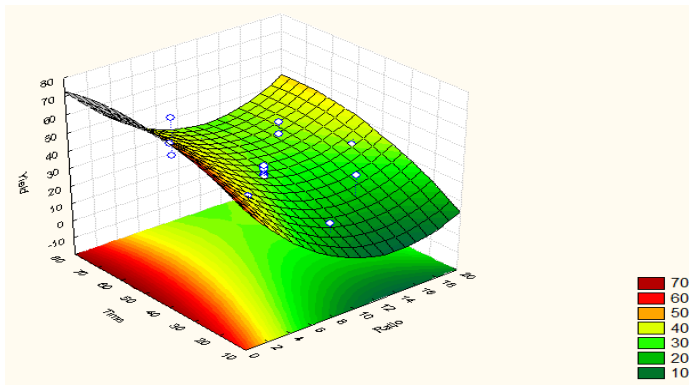
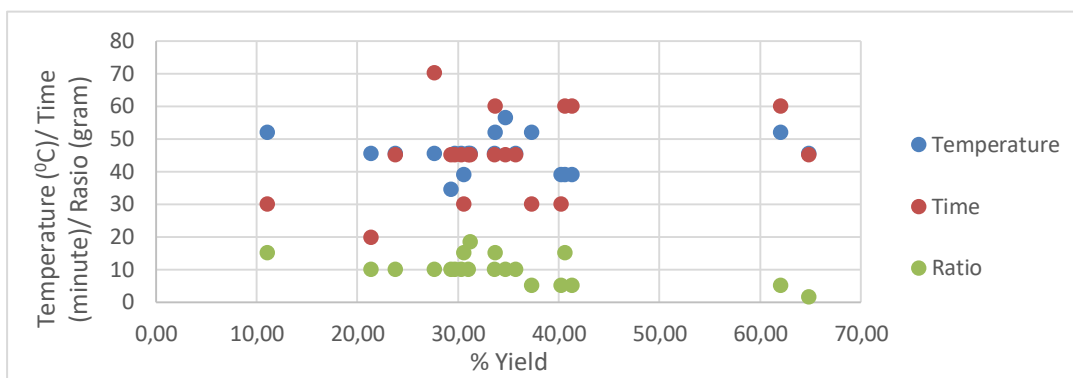
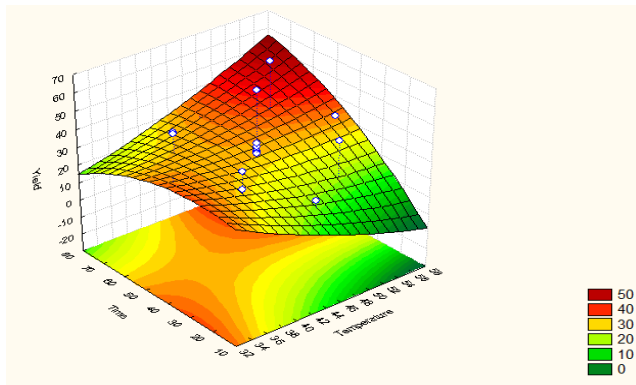
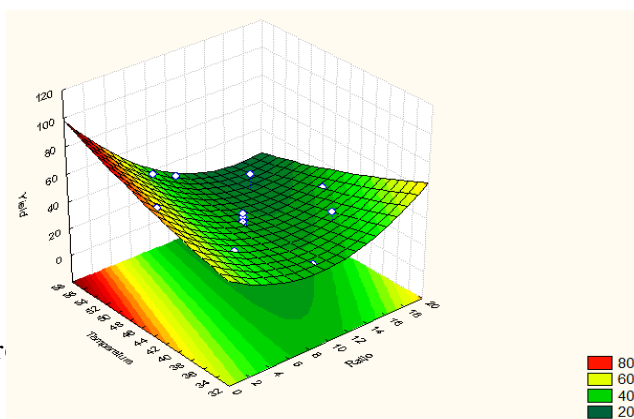


Figure 1. Optimization Analysis Results of Nutmeg Oleoresin Extraction Results Based on Time and Ratio



Temperature and Time



Figure

Nutmeg Oleoresin Yield Based on

Based on Figure 4, it can be concluded that the yield of nutmeg oleoresin obtained is fluctuating. Some points show that the higher the extraction temperature, the higher the yield produced and the other points show that the higher the extraction temperature, the lower the yield. This also occurs at the time of extraction, some points indicate that the longer the extraction time, the higher the yield produced and some other points indicate that the shorter the extraction time, the lower the yield produced. Whereas in the ratio of materials used, most points indicate that the less material used, the higher the yield produced.

Table 1. Results of Regression Analysis of Nutmeg Oleoresin Yield

Parameter	Regression Analysis Results	
	Coefficient	P Value
A constant	109,514	0,202
Time (X ₂)	-1,185	0,263
Ratio (X ₃)	0,214	0,942
X ₁ .X ₂	-0,170	0,027
X ₁ .X ₃	0,046	0,010
R ²	91,27%	

It can be seen in Table 1 that the interaction between temperature and time variables has a significant effect on the yield of nutmeg oleoresin because the p value is 0.027 or smaller than α (0.05). In addition, the interaction between temperature and ratio variables also had a significant effect on the yield of nutmeg oleoresin because the p value was 0.010 or smaller than α (0.05). Based on the results of the regression analysis, an equation is obtained:

$$Y = 109,514 - 1,185X_2 + 0,214X_1 - 0,170X_1.X_3 + 0,046 X_1.X_2$$

Explanation:

Y= yield

X₁= temprature

X₂= time

X₃ = ratio

3.2. Antioxidant Activity

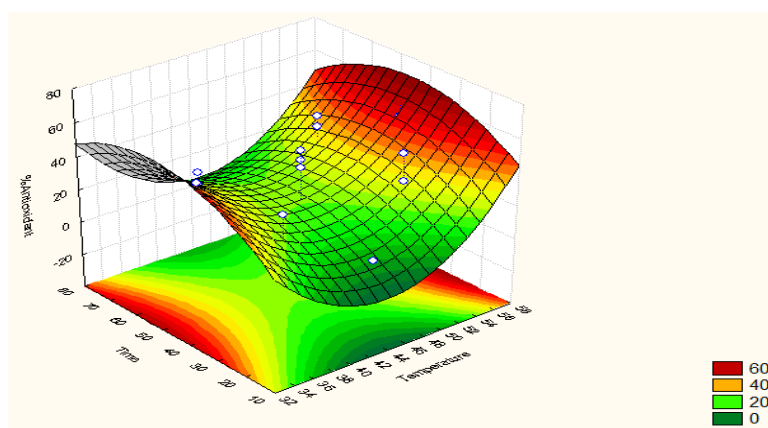


Figure 5. Optimization Analysis Results of the Nutrition Oleoresin Activity Test of Nutmeg Seeds Based on Temperature and Time

The graph above is a *fitted surface* graph that illustrates the relationship between variables in three coordinate segments so as to form a 3D (three-dimensional) curve that is the temperature and time variable of the antioxidant activity of nutmeg oleoresin. In this study, the optimal extraction temperature was obtained at 43.82°C, the extraction time was 51.92 minutes and the ratio of 1.59: 100 to the antioxidant activity of nutmeg oleoresin.

The longer the extraction time, the more extracts are produced. The longer time needed for the extraction process can make the contact between the sample with the solvent becomes longer so that

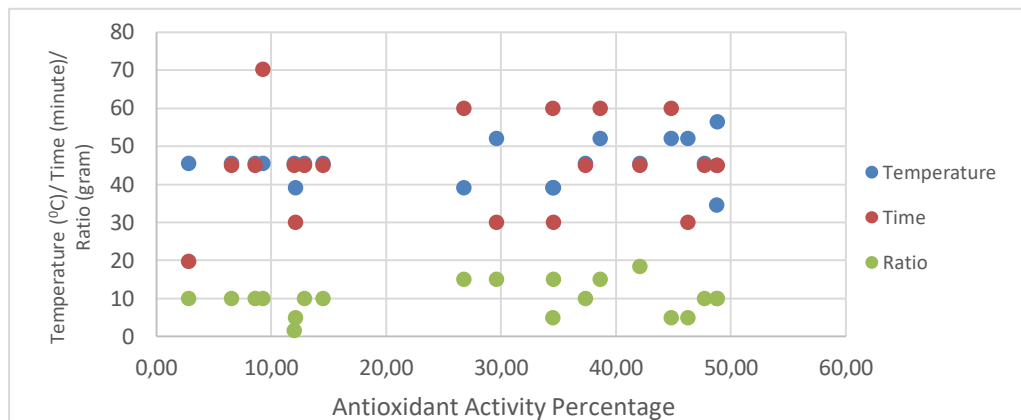


Figure 6. Test Result of Nutmeg Oleoresin Antioxidant Activity

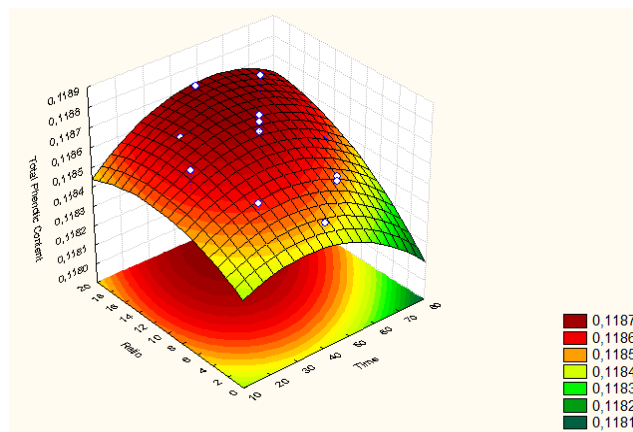
the diffusion process can run optimally. The higher the temperature used in the extraction process will help the process of diffusion of solvents into the tissue material so that it can increase the activity of the solvent in hydrolyzing substances in the cell material and the extraction time can run faster. However, using too high a temperature and too long a time can damage the structure of the substance of the desired extract. The longer the extraction time and the more volume of the solvent used can produce a more concentrated extract.^[9] Also the longer the extraction time can increase the specific gravity of the extract, because the extract also evaporates along with the solvent. The high yield in extraction results can also be influenced by the presence of residues that carry over into the extract. Another factor that influences yield yields is the ratio of the ingredients to the solvent. In this study, the highest yield was found in the ratio of ingredients to solvents of 1.59: 100, followed by a comparison of materials with solvents of 10: 100. The more the amount of solvent added to the sample, the greater the ability of the solvent to extract the oil contained in nutmeg seeds. However, solvents have a maximum limit on the ability to extract oil in nutmeg seeds^[10].

Based on Figure 6 it can be concluded that the results of testing the antioxidant activity of nutmeg oleoresin extract obtained are fluctuating. Some points indicate that the higher the extraction temperature, the higher the yield produced and some other points indicate that the higher the extraction temperature, the higher the antioxidant activity. This also occurs at the time of extraction and the ratio of material used, some points indicate that the longer the extraction time and the more material used, the higher the antioxidant activity and some other points indicate that the shorter the extraction time and the less material used, the lower its antioxidant activity.

3.3. Total Phenolic

The graph below is a *fitted surface* graph that illustrates the relationship between variables in three coordinate segments so as to form a 3D (three-dimensional) curve that is the time variable and the ratio of total phenolic nutmeg oleoresin. Based on the graph, the red area shows the optimal area.

Overall, the highest total phenolic content was obtained at a temperature of 36.28°C for 35 minutes at a ratio of a material to a solvent of 9.76: 100. The longer the extraction time, the higher the extract produced. In addition, the use of temperatures that are not too high can prevent extraction damage due to heat, but the extraction time required is getting longer. Therefore, the higher the yield produced, the more antioxidants (phenols) contained in it so as to increase the total phenolic number.



Based on Figure 8 it can be concluded that the total phenolic test results of nutmeg oleoresin extract

Figure 7. Analysis Results of Optimization of Total Test of Phenolic Oleoresin in Nutmeg Seeds Based on Time and Ratio

obtained are fluctuating. Some points indicate that the higher the extraction temperature, the higher the polyphenols produced and the other points indicate that the higher the extraction temperature will reduce the polyphenol content in oleoresin extract This also occurs in the extraction time variable and the ratio of the material used, some points indicate that the longer the extraction time and the many ingredients used, the higher the polyphenol content in oleoresin extracts. While some other points show that the longer the extraction time and the many ingredients used will reduce the levels of polyphenols in nutmeg oleoresin extract.

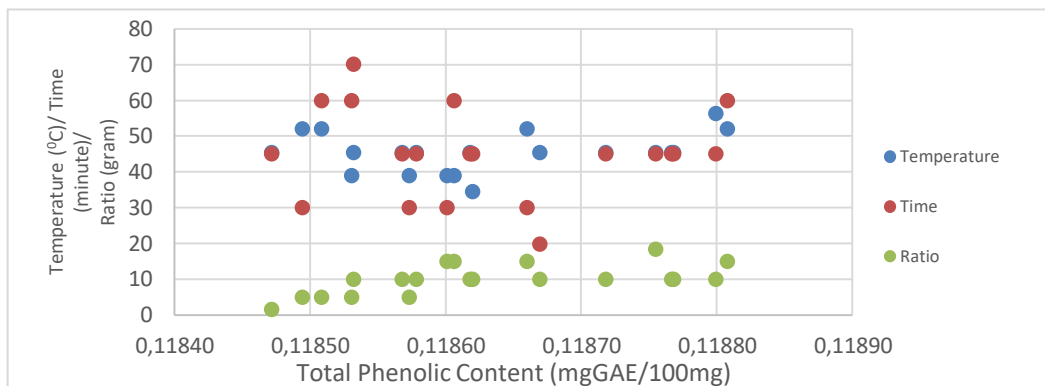


Figure 8. Analysis Results of Optimization of Total Test of Phenolic Oleoresin in Nutmeg Seeds

4. Conclusions

The combination of treatments to obtain the optimum percentage yield is at extraction temperature 41.27°C, extraction time for 55.30 minutes, and the ratio of 11.79:100. The combination of treatments to obtain antioxidant activity with optimum percentage is at extraction temperature of 43.82°C, extraction time for 51.92 minutes, and the ratio of 7.55: 100. The combination of treatments to obtain total phenolic with optimum amount is at extraction temperature of 36.28°C, extraction time for 35 minutes, and the ratio of 9.76: 100.

Based from the parameters tested, the yield is the response to the independent variables temperature, time, and ratio show that the yield has a mathematical model: $Y = 109,514 - 1,185X_2 + 0,214X_1 - 0,170X_1.X_3 + 0,046 X_1.X_2$, with an R^2 value of 0,9127. Based on the mathematical model determined, the optimum value of the independent variables from the results of the yield analysis will produce an antioxidant percentage of 94.71%. Based on the mathematical model determined, the optimum value of the independent variables from the total phenolic analysis yield results the percentage of 30.11%.

5. Acknowledgment

The authors are grateful to the financial support from *Ministry of Research, Technology and Higher Education of the Republic of Indonesia*, Nr: 010/L6/AK/SP2H.1/PENELITIAN/2019.

References

- [1] Fang, Zhen, Richard L. Smith, Jr., dan Xinhua Qi. (2015). *Production of Biofuels and Chemicals with Ultrasound*. Springer. London.
- [2] Chen, Dong, Sanjay K. Sharma, dan Ackmez Mudhoo. (2012). *Handbook on Applications of Ultrasound: Sonochemistry for Sustainability*. CRC Press. Boca Raton.
- [3] Aguirre, Daniela Bermudez. (2017). *Ultrasound: Advances in Food Processing and Preservation*. Academic Press. UK.
- [4] Nuryanti and Salimy, Djati. H. (2008). Response Surface Methodology and Its Application on

Chemical Experiments. Risalah Lokakarya Komputasi Dalam Sains dan Teknologi Nuklir.

- [5] Ni Made, R. O. A. (2015). Effect of Particle Size and Extraction Time on the Characteristics of Natural Colorant of Pandan (*Pandanus tectorius*). Universitas Udayana.
- [6] Anggraini, Rini, Afghani Jayuska, dan Andi Hairil Alimuddin. (2018). Isolation and Characterization of Essential Oil from Black Pepper (*Piper nigrum* L.) originated from *Sajingan, West Borneo*. Jurnal Kimia Khatulistiwa. Volume 7 Nomor 4:124-133.
- [7] Mardiana, F.M. (2015). Effect of Maltodextrin Addition on the Characteristics of Teak Leaves Powder Processed by Freeze Drying. Universitas Katolik Soegijapranata.
- [8] Santos, Philipe, Ana C. Aguiar, Gerardo F. Barbero, Camila A. Rezende, dan Julian Martínez. (2015). *Supercritical Carbon Dioxide Extraction Of Capsaicinoids From Malagueta Pepper (Capsicum frutescens L.) Assisted by Ultrasound*. Ultrasonics Sonochemistry. Volume 22 nomor 1:78–88.
- [9] Bustan, M. D., Febriyani, R. and Pakpahan, H. (2008). Effect of Time and Particle Size on the Yield of Ginger Oleoresin Produced by Different Concentration of Organic Solvents. Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan.
- [10] Masud, Fajriyati dan Pabbenteng. (2016). Ratio of Rice Bran and Solvent on the Extraction of Paddy's Bran. Politeknik Negeri Ujung Pandang. Makassar.

i-COSINE 2019

The 2nd International Conference on Science and Innovated Engineering
Lhokseumawe State of Polytechnique, Jalan Banda Aceh – Medan
Km. 280 Buketrata – Lhokseumawe 24301 P.O BOX 90, Aceh, Indonesia.

Organizer:



Victoria Kristina Ananingsih
kristina@unika.ac.id

OSM.19.V02.F02.042
20th August 2019

Dear Author,

ACCEPTANCE LETTER FOR THE 2nd i-COSINE 2019 IN IMPERIAL HERITAGE HOTEL, MALACCA, MALAYSIA ON 9th - 10th NOVEMBER 2019

Thank you for your interest to participate in “The 2nd International Conference on Science and Innovated Engineering” (i-COSINE 2019). On behalf of the Organizing Committee, I am delighted to inform you that your paper based on your abstract has been accepted.

Paper ID: CC042

Authors: **Victoria Kristina Ananingsih, Bernadeta Soedarini, Karina**

Title: **Separation of Oleoresin from Nutmeg Using Ultrasound Assisted Extraction and Hexane as Solvent**

Registration & abstract submission

Your registration fee is **IDR 3,500,000 (Three Million, Five Hundred Thousand Indonesia Rupiah)**. Participant will be provided with a conference package, accommodation (2 nights-sharing room), BBQ dinner and IOP Proceeding.

Payment can be made to **Bank Negara Indonesia Syariah (BNI Syariah)** bank account no: **0576130910 (Nelly Safitri)** or Swift Code: **SYNIIDJA**

To complete the registration, please submit your full paper by **30th September 2019** and proof of payment by **5th October 2019** to our email: icosine.conference@gmail.com and usman@pnl.ac.id

Full paper submission

The full manuscript should be prepared by referring to the IOP standard format of the **IOP Conference Series: Material Science and Engineering**. The details of the format may be downloaded from the following link: (<http://cms.iopscience.iop.org/alfresco/d/d/workspace/SpacesStore/f67538ae-18b2-11e4-831a-29411a5deefe/WordGuidelines.zip>).

Thank you for your interest and we look forward to seeing you in the wonderful city, Malacca.

Kind Regards,

USMAN, ST, M. Eng, Ph.D
Organizer, i-COSINE 2019

c.c Rec. OSM -2019, Vol. 2, file 02.042

Dokumen pendukung luaran Tambahan #4

Luaran dijanjikan: Publikasi Ilmiah Jurnal Internasional

Target: submitted

Dicapai: Submitted

Dokumen wajib diunggah:

1.

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah artikel

Dokumen belum diunggah:

-

1 ***OPTIMIZATION OF TEMPERATURE, TIME, AND REDUNDANCY***
2 ***RATIO ON THE ULTRASOUND-ASSISTED EXTRACTION OF***
3 ***NUTMEG OLEORESIN (*Myristica fragrans*) USING ETHANOL***
4 ***SOLVENT***

5
6 Dr. V. Kristina Ananingsih, ST., MSc.¹, Dr. Ir. B. Soedarini, S.TP, MP.¹, Evita Nia

7 Rahardjo²

8 Food Technology Department, Soegijapranata Catholic University, Semarang Indonesia

9
10
11 **Abstract**

12
13 Nutmegs are well known as one of the Indonesian ingredients to give a unique taste and
14 flavor as the result of its oleoresin content. The effort to add the value of nutmeg is done
15 by extraction of its oleoresin which can support both national and international
16 marketing. The oleoresin from nutmeg can be applied to many kinds of foods, such as
17 herbal drinks, sweets, ice cream, and cooking ingredients. Oleoresin also contains
18 antioxidant which is good for health. However, this oleoresin is easy to be degraded due
19 to the application of heat during extraction. Ultrasound-assisted extraction (UAE) is
20 applied in this research because it provides some advantages such as providing yield
21 efficiency, fast, simple, reducing solvent use, lower temperature and lower energy use
22 compared to those of conventional extraction. This research is aimed to study the effect
23 of temperatures and extraction times on the yield, phenolic content, and antioxidant
24 activity of nutmeg oleoresin. Nutmeg was grinded to get the size of 36 mesh and UAE
25 was operated at 45 kHz. The best extraction temperature at 50,1°C for 36,36 minutes

26 using a ratio of 6,1 grams in 100 ml of ethanol. In the result of validation% yield, the
27 ratio treatment greatly affects the results. The yield% validation showed the best
28 extraction temperature at 51.3°C for 40.58 minutes with a ratio of 7.1 grams in 100 ml
29 of ethanol. In the analysis of total phenol, the ratio treatment affects. the best total
30 phenol content was obtained at an extraction temperature of 48.8°C for 31.91 minutes
31 with a ratio of 14.46 grams in 100 ml of ethanol. In the analysis of antioxidant activity,
32 the ratio treatment affects. The best antioxidant compounds were obtained at 42.09°C
33 for 33.71 minutes at a ratio of 15.7 grams in 100 ml of ethanol.

34

35 *Keywords: ultrasound-assisted extraction, nutmeg, oleoresin*

36

37

38 **1. Introduction**

39

40 Indonesia is one of the nutmeg producing countries. The main nutmeg producing
41 regions in Indonesia are the Maluku Islands, North Sulawesi, West Sumatra, Nanggroe
42 Aceh Darussalam, West Java, and Papua. Nutmeg is becoming one of the important
43 export commodities because Indonesia is the biggest exporter of nutmeg and mace,
44 which supplies about 60% of the world's nutmeg needs. Aside from being an export
45 commodity, domestic demand is also quite high. Indonesian nutmeg production is
46 around 19.9 thousand tons per year. Nutmeg itself can be processed into essential oils
47 and oleoresin (Nurdjannah, 2007). Nutmeg is widely used for culinary and medicine
48 (Jain and Häggman, 2007).

49 The content in nutmeg can be extracted into oleoresin. The extraction process is often
50 done using the Soxhlet method. But now the industry is starting to reduce the use of
51 organic solvents due to environmental problems (Santos et al., 2015). The application of

52 ultrasound extraction is one way to overcome it. Ultrasound extraction has high mass
53 transfer efficiency, less use of organic solvents, and higher extraction rates than the
54 soxhlet method (Fang et al., 2015). At present ultrasound, extraction has begun to be
55 applied in industries such as edible oil extraction (Chen et al., 2012). Ultrasound
56 extraction has many advantages. The advantage of ultrasound extraction is efficient
57 contact between a solid matrix and a solvent and can minimize extraction time and
58 reduce the use of organic solvents when compared to Soxhlet. Besides, various sample
59 sizes can be used, some extractions can be done simultaneously, and also do not require
60 special laboratory alignment (Martínez, 2009). Ultrasound extraction is more effectively
61 applied for extraction at low temperatures (Aguirre, 2017) which would be
62 advantageous for extracting heat-sensitive compounds.

63 Oleoresin is the result of processed spices in the form of thick liquid obtained by
64 extracting spices with organic solvents. The use of oleoresin has the advantage of being
65 more hygienic, sterile, free of bacteria, flavor and aroma can be standardized, small
66 volume, free of fungal attack, contains natural antioxidants and free of enzymes.
67 Oleoresin can be stored for a long time in good condition (Nurdjannah, 2007).

68 This research was conducted with the aim to determine the effect of temperature, time,
69 and nutmeg oleoresin extraction ratio and to know the extraction efficiency, phenol
70 content, antioxidant activity, acid number, saponification number, and ester number.

71 **2. Methods**

72 **Nutmeg Oleoresin Extraction with Ultrasound-assisted Extraction (UAE)**

73 Nutmeg is crushed to powder. Then the nutmeg powder was mixed with ethanol in a
74 ratio of 10: 100 (nutmeg powder: ethanol) in Erlenmeyer (Rathod and Rathod, 2014).

75 Then the sample was extracted by ultrasound at a frequency of 45kHz and 100 W power
76 with the temperature treatment and extraction time which was calculated by the RSM
77 method as follows:

78

No Sample	Temperature (°C)	Time (minute)
1	45	30
2	55	30
3	45	45
4	55	45
5	43	37,5
6	57	37,5
7	50	27
8	50	48
9	50	37,5
10	50	37,5
11	50	37,5

79 Table 1 temperature treatment and extraction time

80 *Oleoresin analysis*

81 The extract was filtered with number 1 Whatman filter paper. Then the sample was
82 separated from ethanol by a rotary evaporator.

83

84 **Efficiency Test for Nutmeg Oleoresin Extraction (Anggraini et al., 2018**
85 **modification)**

86 Nutmeg oleoresin extraction efficiency testing is done by calculations using the formula
87 :

$$\%rendemen = \frac{\text{extracted oleoresin volume(ml)}}{\text{initial weight (gr)}} \times 100\%$$

88

89 **Total Phenolic Analysis (Santos et al., 2015 modification)**

90 Total phenolic was analyzed by spectrophotometer with the Folin-Ciocalteu method.
 91 Then 1 ml of oleoresin is taken and mixed with 5 ml of distilled water and 0.5 ml of
 92 reagent. After 5 minutes, 2.0 ml of sodium carbonate (7.5%) was added again. After that
 93 the solution is stored in a dark room for 1 hour. Absorbance was measured at 760 nm.
 94 Gallic acid is used as a standard, and the results are expressed as milligrams of gallic
 95 acid equivalent (GAE) per gram of extract.

96

97 **Analysis of antioxidant activity (Rauf et al., 2011; Gulcin, 2005)**

98 0.1 ml extract solution was added with 2.9 ml DPPH solution in methanol. The mixture
 99 was then incubated for 30 minutes in a dark room. Then the mixture is measured by
 100 absorbance with a spectrophotometer at a wavelength of 517 nm.

$$\text{antioxidant activity(\%)} = 100 - \left[\left(A_o - \frac{A_i}{A_o} \right) - 100 \right]$$

101 Information :

102 A_i : absorbance value of the sample

103 A_o : the absorbance value of the control (without the addition of extracts)

104

105

106 **RESULTS AND DISCUSSION**

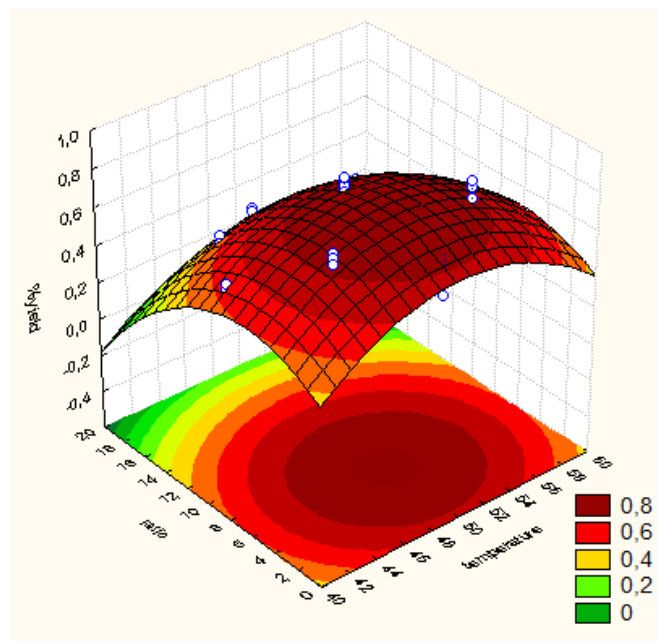
107

108 **Oleoresin Results and Advanced Analysis Results**

No	Temperature (°C)	Time (minute)	Ratio (gram)	%Rendemen	%Fenol	% Antioksidan
1	45,0	30,0	5,0	76%	8,15%	35,75%
2	45,0	30,0	15,0	26%	8,53%	99,99%
3	45,0	45,0	5,0	77%	8,18%	49,60%
4	45,0	45,0	15,0	48%	8,23%	64,24%
5	55,0	30,0	5,0	80%	8,16%	32,31%
6	55,0	30,0	15,0	35%	8,51%	99,74%
7	55,0	45,0	5,0	74%	8,13%	28,21%
8	55,0	45,0	15,0	41%	8,21%	57,72%
9	41,6	37,5	10,0	50%	8,21%	50,12%
10	58,4	37,5	10,0	46%	8,26%	73,69%

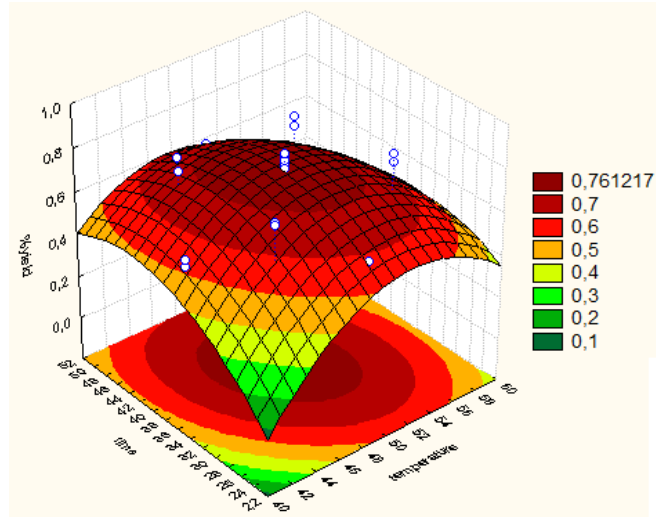
11	50,0	24,9	10,0	51%	8,20%	54,54%
12	50,0	50,1	10,0	57%	8,19%	45,99%
13	50,0	37,5	1,6	63%	8,16%	48,30%
14	50,0	37,5	18,4	34%	8,24%	65,95%
15	50,0	37,5	10,0	76%	8,23%	60,55%
16	50,0	37,5	10,0	80%	8,52%	98,36%
17	50,0	37,5	10,0	78%	8,22%	65,44%
1'	45,0	30,0	5,0	75%	8,20%	61,30%
2'	45,0	30,0	15,0	35%	8,24%	67,04%
3'	45,0	45,0	5,0	71%	8,16%	42,10%
4'	45,0	45,0	15,0	44%	8,27%	72,02%
5'	55,0	30,0	5,0	83%	8,21%	53,01%
6'	55,0	30,0	15,0	48%	8,27%	55,07%
7'	55,0	45,0	5,0	69%	8,22%	56,86%
8'	55,0	45,0	15,0	36%	8,29%	57,22%
9'	41,6	37,5	10,0	53%	8,50%	100,29%
10'	58,4	37,5	10,0	49%	8,61%	100,58%
11'	50,0	24,9	10,0	56%	8,26%	72,45%
12'	50,0	50,1	10,0	63%	8,25%	71,12%
13'	50,0	37,5	1,6	53%	8,12%	32,25%
14'	50,0	37,5	18,4	33%	8,26%	100,38%
15'	50,0	37,5	10,0	82%	8,35%	91,61%
16'	50,0	37,5	10,0	70%	8,23%	72,19%
17'	50,0	37,5	10,0	74%	8,28%	71,72%

109



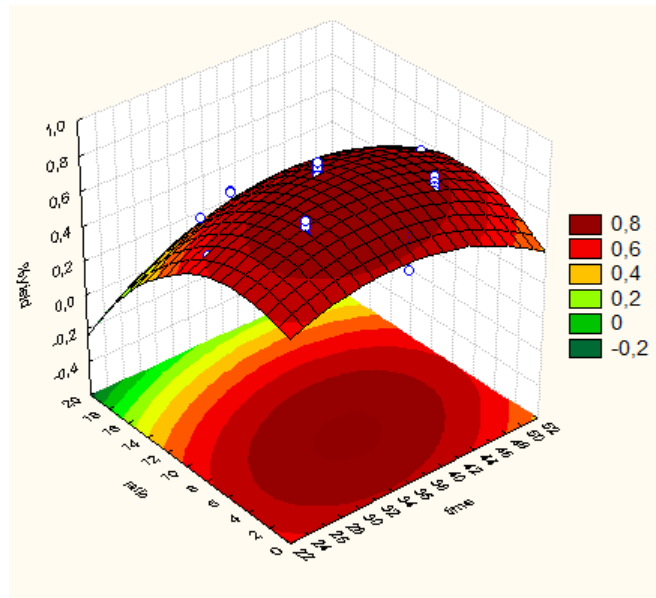
110
111

Fitted Surface Effect of Temperature Ratio on % Yield



Fitted Surface Effect of Time Temperature on % Yield

112
113
114



Fitted Surface Effect of Time Ratio on % Yield

115
116
117

118 This analysis of % yield is displayed in a 3-dimensional graph. This graph is obtained
119 according to the graph of temperature and ratio treatment, temperature and time, and
120 time and ratio. The graph is shown in Figure 4. In this treatment, a 3-dimensional graph
121 forms the maximum graph. The maximum graph itself shows that the maximum point is
122 within the scope of the study (Bezerra et al., 2008). Temperature, time, and ratio greatly
123 affect oleoresin yield. The high temperature used will increase the efficiency of the
124 extraction so that the results obtained are more and more. But if the temperature is too

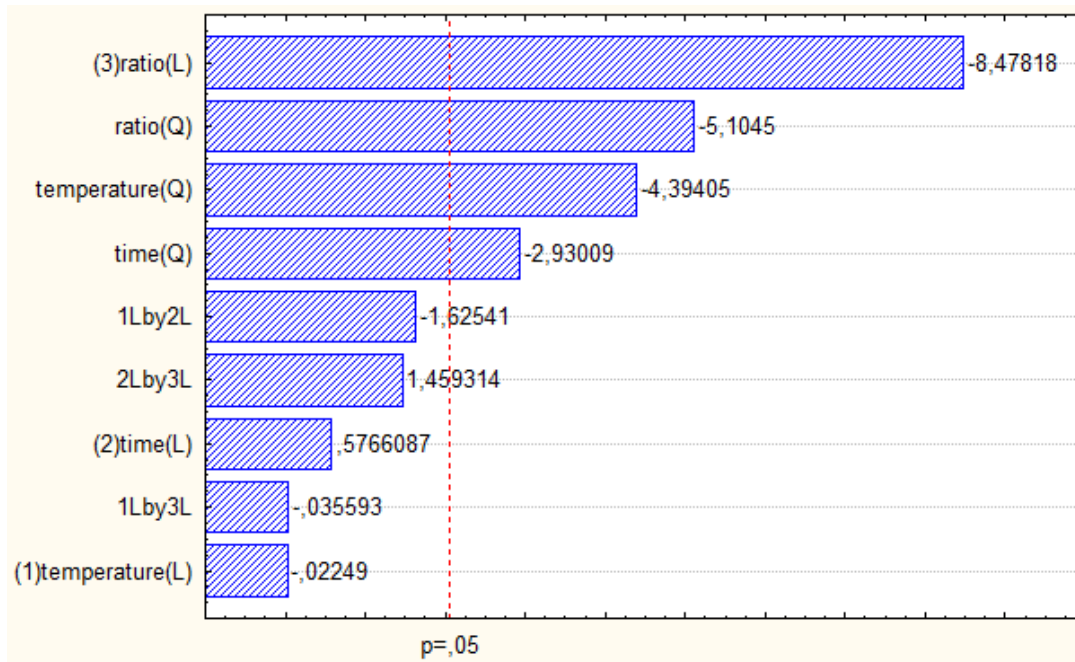
125 high the extraction process is not efficient (Charpe and Rathod, 2016). On the
 126 temperature-time and temperature-ratio graphs, it is seen that temperatures that are too
 127 high able to reduce the extraction results so that the results obtained are not optimal.
 128 Extraction time also greatly affects the extraction results. If the time is longer it will
 129 give more oleoresin, but if it is too long then the results will decrease due to evaporation
 130 (Bustan et al., 2008). On the temperature-time and time-ratio graphs, the longest time
 131 spent producing oleoresin results is at the lowest. This shows that there is evaporation
 132 occurs in oleoresin. In addition, the treatment ratio used must be in accordance with the
 133 amount of solvent used. The ratio must be constant between solid and solvent (Capelo-
 134 Martine, 2009). On the temperature-ratio and time-ratio graphs show that the highest
 135 ratio does not produce optimal oleoresin. The ratio of nutmeg powder is too high,
 136 making it difficult for solvents to attract all oleoresin compounds.

137
 138

ANOVA Analysis Results% Yield

Faktor	SS	Df	MS	F	P
Suhu (L)	0,000004	1	0,000004	0,00051	0,982243
Suhu (Q)	0,137165	1	0,137165	19,30765	0,000194
Waktu (L)	0,002362	1	0,002362	0,33248	0,569573
Waktu (Q)	0,060992	1	0,060992	8,58542	0,007323
Rasio (L)	0,510644	1	0,510644	71,87958	0,000000
Rasio (Q)	0,185105	1	0,185105	26,05589	0,000032
1L by 2L	0,018769	1	0,018769	2,64197	0,117136
1L by 3L	0,000009	1	0,000009	0,00127	0,971901
2L by 3L	0,015129	1	0,015129	2,12960	0,157445
Error	0,170500	24	0,007104		
Total SS	0,972148	33			

139



Pareto Chart % Yield

140
141
142
143
144
145
146
147
148
149
150
151
152
153
154
155
156

The obtained Pareto showed that the ratio and temperature most affect the yield. Pareto is useful to show the level of compatibility of the data analysis results with the variables used (Chotikapanich, 2008). The Pareto shown shows the ratio greatly affects the results where the data obtained is very significant. ANOVA test is a test procedure based on the breakdown of the total variability in the response variable. This ANOVA test is used to determine the linear relationship between response variables and subsets of regression variables. If the variable does not give an effect then the variable is not significant to the response (Myers et al., 2009). ANOVA and Pareto charts are used to show important variables (Pambi and Musonge, 2016). In the picture shown, it can be seen that the variables that greatly influence are temperature and ratio. This proves that changes in temperature and mismatch ratio will affect the final yield%.

157 Yield % Regression Analysis Results

Factor	Regression Coefficient	p
Mean	-9,89020	0,000218
Suhu (L)	0,34647	0,000103
Suhu (Q)	-0,00312	0,000194
Waktu (L)	0,10805	0,007810
Waktu (Q)	-0,00092	0,007323
Rasio (L)	0,01589	0,750086
Rasio (Q)	-0,00362	0,000032
1L by 2L	-0,00091	0,117136
1L by 3L	-0,00003	0,971901
2L by 3L	0,00082	0,157445
R2	0,82462	

158

159 In RSM, it is necessary to develop an estimated model for the real response surface. The

160 actual response surface is driven by some unknown physical mechanism. The

161 approximation model is based on data that is observed from a process or system called

162 an empirical model. Regression is a collection of statistical techniques that are useful for

163 establishing the empirical type required by RSM. Regression compares several

164 independent variables as predatory or regression variables (Myers et al., 2009).

165 Regression is used to determine the relationship between variables. In the analysis of 3

166 variables the RSM equation used is $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3$

167 $+ b_{23}X_2X_3 - b_1^2X_1^2 + b_2^2X_2^2 + b_3^2X_3^2$ (Lee et al., 2006). The regression table obtained is

168 then processed into a regression equation for the% yield analysis. The equation obtained

169 is $Y = -7,84813 + 0,28813X_1 + 0,06856X_2 + 0,04070X_3 - 0,00021X_1X_2 - 0,00033X_1X_3$

170 $+ 0,00024X_2X_3 - 0,00276X_1^2 - 0,00076X_2^2 - 0,00326X_3^2$.

171

172

173

174

175

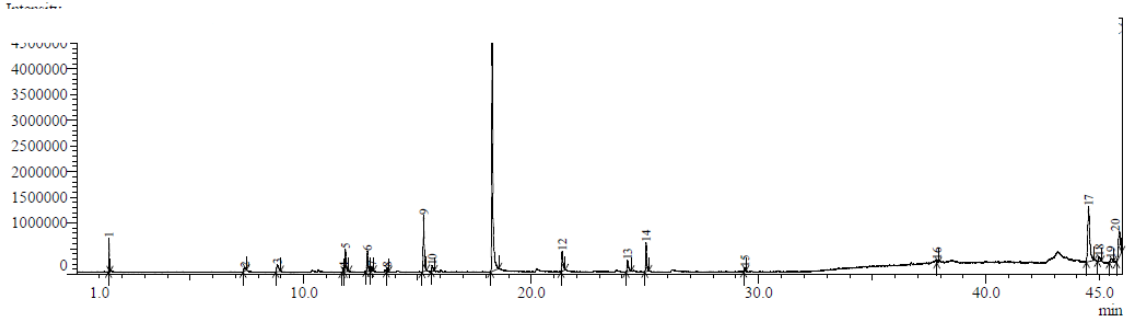
176

177

178

179

180 **GC-MS Analysis**



181
182
183
184

Results of Peak Analysis of GC-MS Oleoresin Nutmeg

Table of Compound Results in Nutmeg Oleoresin

Peak#	R Time	Area	Area%	Height	Name
1	1.431	775588	1.84	664275	ETHANOL
2	7.397	319959	0.76	60837	.alpha.-Thujene
3	8.822	900226	2.14	142221	.beta.-Phellandrene
4	11.742	266292	0.63	79939	.gamma.-Terpinene
5	11.828	1666037	3.96	432578	trans Sabinene hydrate
6	12.790	1403367	3.34	390125	trans Sabinene hydrate
7	12.974	276689	0.66	81781	Ether, p-menth-6-en-2-yl methyl
8	13.663	222759	0.53	81843	Ether, p-menth-6-en-2-yl methyl
9	15.268	3598632	8.56	1089801	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS)
10	15.651	347417	0.83	104688	ALPHA, TERPINEOL
11	18.287	16731426	39.80	4924525	1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenyl)- (CAS)
12	21.359	1561442	3.71	389265	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)- (CAS)
13	24.235	976017	2.32	218412	CROWEACTIN
14	25.056	1840982	4.38	569634	cis-Asarone
15	29.388	213881	0.51	74809	Tetradecanoic acid, methyl ester (CAS)
16	37.840	209251	0.50	52715	d-Nerolidol
17	44.511	6750410	16.06	1064705	Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide
18	44.984	469315	1.12	87102	4'-Hydrazino-4-pentyl-2',3',5',6'-tetrafluorobiphenyl
19	45.490	461035	1.10	75828	Naphthalene, 1,1'-(1,10-decanediyl)bis[decalhydro- (CAS)
20	45.863	3052887	7.26	498115	Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-4-thiocyanato-phenyl)-amide
		42043612	100.00	11083198	

185
186
187

188 GC-MS results show peak number 11 has the highest content and continued peak
189 numbers 17 and 9 for the relatively high content. peak number 11 is 1,3-Benzodioxole,
190 5- (2-propenyl) - (CAS). Peak number 17 is Adamantane-1-carboxylic acid (2-methyl-
191 4-thiocyanate-phenyl) -amide. Peak number 9 is a compound of 3-Cyclohexene-1-ol, 4-
192 methyl-1- (1-methyl ethyl) - (CAS) which has another name for terpineol. In nutmeg
193 seeds, seeds contain terpineol compounds (Wagner and Bladt, 2011).

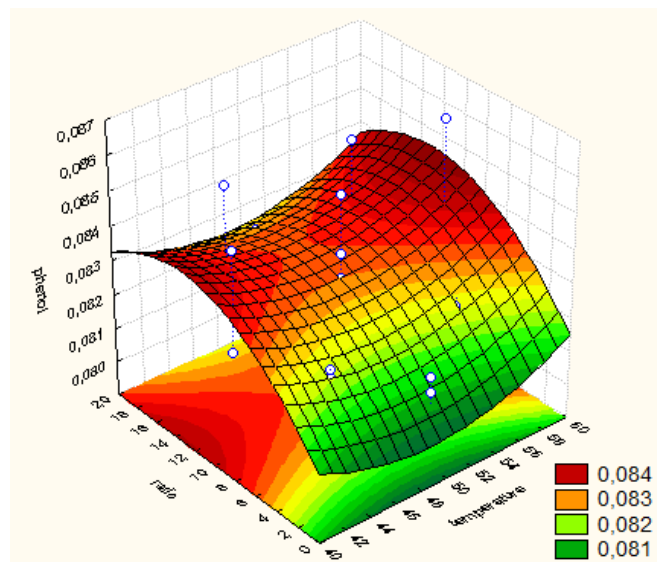
194

195 **Phenol Analysis**

196 Testing the total phenolic activity is the basis for testing antioxidant activity because
197 phenolic compounds are able to prevent the oxidation process. Measurement of total
198 antioxidant food can be done by measuring total phenolic levels using the Folin-

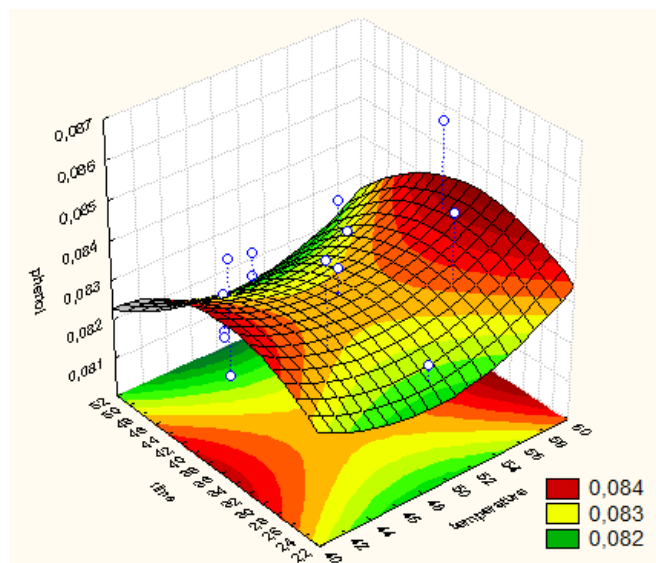
199 Cocteau reagent. The total phenol test is used to determine the total phenolic
200 compounds contained in the sample so that if the phenolic compound content in the
201 sample is high, the antioxidant activity will be high. This analysis uses the gallic acid
202 standard curve as a comparison (Djapiala *et al.*, 2013). Phenol compounds contribute
203 directly to antioxidant activity. The positive correlation between antioxidant activity and
204 total phenolic comes from the effectiveness of hydrogen donors in phenol compounds.
205 There is a relationship between the ability of phenol compounds as antioxidants and
206 their chemical structure. The configuration and the total hydroxyl group is the basis that
207 greatly influences the mechanism of its activity as an antioxidant. There is a positive
208 correlation between antioxidant activity and the content of polyphenol compounds.
209 Phenol compounds are antioxidants (Ibrahim *et al.*, 2015). Antioxidant compounds
210 themselves are not resistant to heat and will be damaged when exposed to heat (Sie,
211 2013).

212



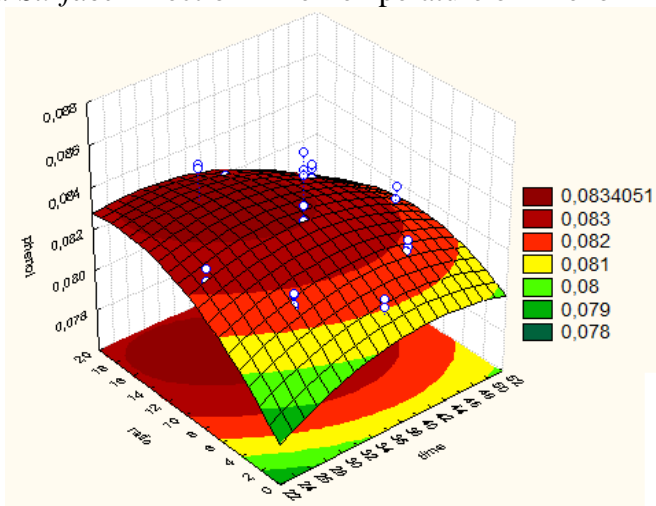
213
214

Fitted Surface Effect of Temperature Ratio on Phenol Analysis



215
216

Fitted Surface Effect of Time Temperature on Phenol Analysis



217
218
219

Fitted Surface Effect of Time Ratio on Phenol Analysis

220 The shown phenol analysis graph is the response of the phenol to the temperature, time,
221 and ratio treatment. On the graph of temperature - ratio, and temperature - time form a
222 saddle graph. At the time treatment - the ratio of the graph that is formed is maximum
223 but the shape is not maximal. On the temperature-ratio graph, the highest phenol content
224 is found at low temperature at the optimal ratio and at the optimal high-temperature
225 ratio. On the temperature-time graph, the highest phenol content is seen at high
226 temperatures at an optimal time. The highest phenol content is not present at high
227 temperatures and times simultaneously. This is because phenol compounds are

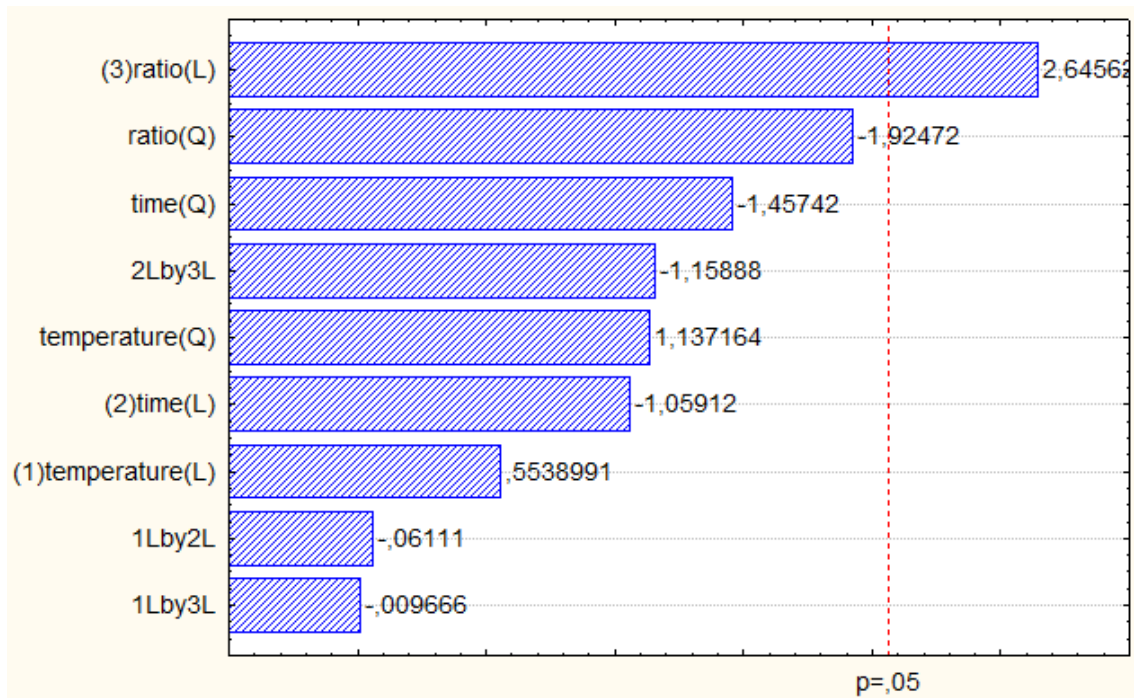
228 antioxidant compounds (Ibrahim *et al.*, 2015). Antioxidant compounds themselves are
 229 not resistant to heat and will be damaged when exposed to heat (Sie, 2013). When
 230 phenol is at a high temperature and a long time it will be damaged.

231

232 ANOVA Analysis Results on Total Phenol

Faktor	SS	Df	MS	F	P
Suhu (L)	0,000000	1	0,000000	0,306804	0,584772
Suhu (Q)	0,000002	1	0,000002	1,293142	0,266696
Time (L)	0,000001	1	0,000001	1,121740	0,300088
Time (Q)	0,000003	1	0,000003	2,124084	0,157961
Ratio (L)	0,000008	1	0,000008	6,999335	0,014161
Ratio (Q)	0,000004	1	0,000004	3,704537	0,066198
1L by 2L	0,000000	1	0,000000	0,003734	0,951777
1L by 3L	0,000000	1	0,000000	0,000093	0,992368
2L by 3L	0,000002	1	0,000002	1,342999	0,257907
Error	0,000028	24	0,000001		
Total SS	0,000050	33			

233



234

235

Pareto Chart Total Phenol

236

237 This ANOVA test is used to determine the linear relationship between response

238 variables and subsets of regression variables. If the variable does not give an effect then

239 the variable is not significant to the response (Myers *et al.*, 2009). ANOVA and Pareto

240 charts are used to show important variables (Pambi and Musonge, 2016). Figure 8
 241 shows that the ratio used is significant so that the ratio greatly influences the phenol
 242 yield. The comparison of nutmeg powder with a solvent must be appropriate in order to
 243 obtain optimal phenol conditions.

244

245 Phenol Regression Analysis Results

Factor	Regression Coefficient	P
Mean	0,093839	0,003897
Temperature(L)	-0,001002	0,308764
Temperature(Q)	0,000010	0,266696
Time (L)	0,000522	0,288051
Time (Q)	-0,000006	0,157961
Ratio (L)	0,000784	0,230373
Ratio (Q)	-0,000018	0,066198
1L by 2L	0,000000	0,951777
1L by 3L	0,000000	0,992368
2L by 3L	-0,000008	0,257907
R2	0,43601	
R2	0,436010	

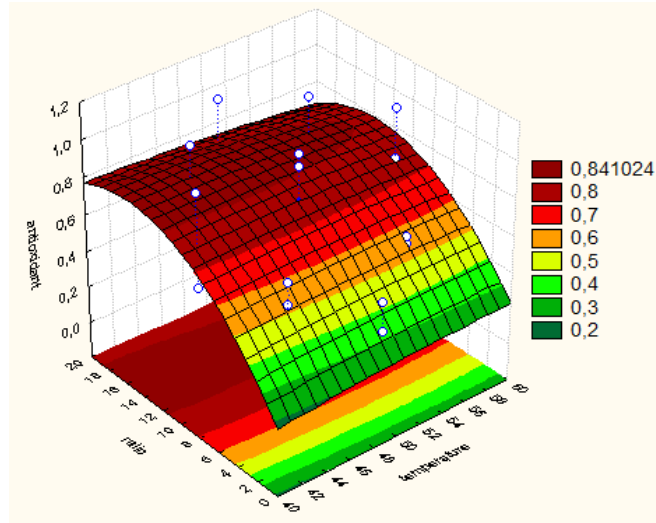
246

247

248 **Antioxidant Analysis**

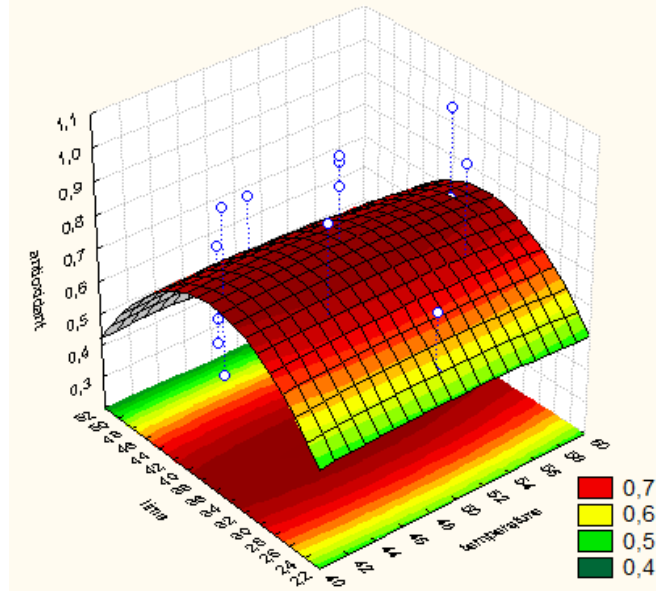
249 Phenol compounds contribute directly to antioxidant activity. The positive correlation
 250 between antioxidant activity and total phenolic comes from the effectiveness of
 251 hydrogen donors in phenol compounds. There is a relationship between the ability of
 252 phenol compounds as antioxidants and their chemical structure. The configuration and
 253 the total hydroxyl group is the basis that greatly influences the mechanism of its activity
 254 as an antioxidant. There is a positive correlation between antioxidant activity and the
 255 content of polyphenol compounds. Phenol compounds are antioxidants (Ibrahim *et al.*,
 256 2015). Antioxidant compounds themselves are not resistant to heat and will be damaged
 257 when exposed to heat (Sie, 2013).

258



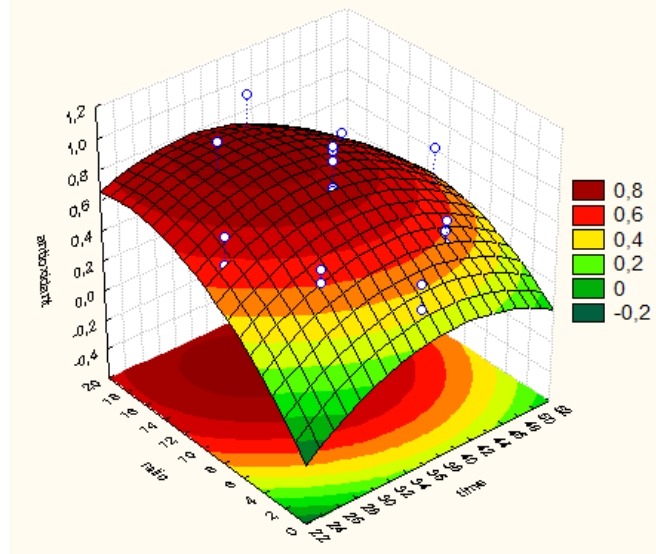
259
260

Fitted Surface Effect of Temperature Ratios on Antioxidant Activity



261
262

Fitted Surface Effect of Time Temperature on Antioxidant Activity



263

Fitted Surface Effect of Time Ratio on Antioxidant Activity

264

265

266

In the antioxidant activity graph, it is shown that the temperature-ratio and temperature-

267

time treatments form a plateau graph while in the time-ratio treatment it looks to form a

268

mountain even though it is not perfect. The graph shows the unaffected variables

269

(Bezerra *et al.*, 2008). Graph (a) shows the high ratio under which all temperatures have

270

the highest antioxidant activity. In the graph (b) shows that at optimal times all

271

temperatures have high antioxidant activity. Antioxidant compounds are not resistant to

272

heat and will be damaged when exposed to heat (Sie, 2013). The results of this analysis

273

are not appropriate due to an error due to external factors such as the DPPH solution

274

used is unstable. DPPH solutions are very sensitive to light (Hasanah *et al.*, 2017). The

275

DPPH solution used may have been exposed to light so that its activity has decreased.

276

On the time graph - the ratio looks to form a maximum but not perfect graph. the

277

maximum graph shows that the optimal point is on the scale of the study so that the

278

optimal point can be determined (Bezzerra *et al.*, 2008).

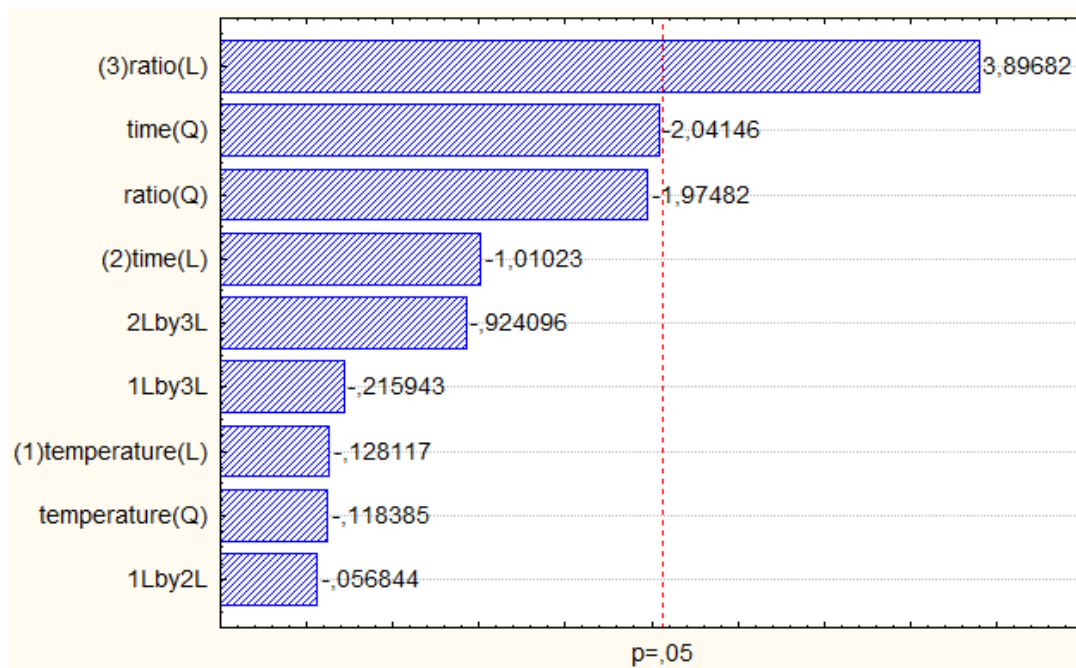
279

280

ANOVA Analysis Results of Antioxidant Activity

Factor	SS	df	MS	F	p
Temperature(L)	0,000508	1	0,000508	0,01641	0,899124
Temperature(Q)	0,000434	1	0,000434	0,01401	0,906748
Time (L)	0,031569	1	0,031569	1,02057	0,322461
Time (Q)	0,128914	1	0,128914	4,16755	0,052347
Ratio (L)	0,469723	1	0,469723	15,18521	0,000684
Ratio (Q)	0,120636	1	0,120636	3,89992	0,059900
1L by 2L	0,000100	1	0,000100	0,00323	0,955140
1L by 3L	0,001442	1	0,001442	0,04663	0,830857
2L by 3L	0,026415	1	0,026415	0,85395	0,364635
Error	0,742390	24	0,030933		
Total SS	1,487571	33			

281



Pareto Chart of Antioxidant Activity

282
 283
 284
 285
 286
 287
 288
 289
 290
 291
 292
 293
 294
 295
 296
 297
 298
 299
 300
 301
 302
 303

ANOVA and Pareto charts are used to show important variables (Pambi and Musonge, 2016). In the Pareto results, the ratio variable is an important variable because the Pareto results shown are significant. In addition, the ANOVA results also show that the ratio is also significant which is shown through red. In this analysis, the temperature should show significance because antioxidants are not resistant to heat (Sie, 2013). But the results obtained are a significant ratio. The extraction results themselves are influenced by the sample ratio (Capelo-Martine, 2009). This is likely to occur because when the nutmeg powder is used more and more, the content of antioxidants that are attracted is increasingly large so that when analyzed produces significant data.

304 Results of Regression Analysis of Antioxidant Activity

Factor	Regression Coefficient	P
Mean	-2,61946	0,586139
Temperature(L)	0,02297	0,883916
Temperature(Q)	-0,00018	0,906748
Time (L)	0,11045	0,167896
Time (Q)	-0,00134	0,052347
Ratio (L)	0,14437	0,173456
Ratio (Q)	-0,00293	0,059900
1L by 2L	-0,00007	0,955140
1L by 3L	-0,00038	0,830857
2L by 3L	-0,00108	0,364635
R2	0,50094	

305

306 **Critical Value**

307 *Critical values* are determined through a 3-dimensional graph obtained through RSM
 308 analysis results. *Critical values* are obtained from polynomial functions to obtain
 309 quadratic equations. *Critical value* can be obtained if the graph is in the form of
 310 maximum, minimum, and saddle. *Critical points* are obtained through the first
 311 derivation of mathematical functions that describe the response surface and equalize to
 312 zero (Bezerra *et al.*, 2008).

313

314 Results of Analysis of *Critical Values* % Yield

Factor	Observed Mimum	Critical Values	Observed Maximum
Temperature	41,59104	50,17497	58,40896
Time	24,88655	36,35338	50,11345
Ratio	1,59104	6,09695	18,40896

315

316 On the results of the analysis of% 3-dimensional graph rendered displayed in the
 317 maximum form in all treatments. The maximum 3-dimensional graph form shows the
 318 optimal point within the scope of the study (Bezerra *et al.*, 2008). The ANOVA analysis
 319 showed significant variables, namely temperature, and ratio. The results of *critical*
 320 *values* analysis show optimal temperature, time, and ratio. The best temperature at

321 50.4oC for 38.6 minutes with a ratio of 5.11 grams in 100 ml of ethanol. In the results
 322 of the analysis of the validation of% 3-dimensional graph rendered displayed in the
 323 maximum form in all treatments. The maximum 3-dimensional graph form shows the
 324 optimal point within the scope of the study (Bezerra *et al.*, 2008). In the ANOVA
 325 analysis, it is seen that the significant variable is the ratio variable. The results of
 326 *critical values* analysis show optimal temperature, time, and ratio. The best extraction
 327 temperature at 51.3oC. The best extraction time is 40.58 minutes. The best extraction
 328 ratio uses 7.1 grams of nutmeg in 100 ml of ethanol. In the validation data results, the
 329 critical values data on all variables obtained are close to the results of the initial RSM
 330 analysis so that the data obtained are good.

331

332 Results of *Critical Values* Analysis on Total Phenol

Factor	<i>Observed Mnimum</i>	<i>Critical Values</i>	<i>Observed Maximum</i>
Temperature	41,59104	48,79733	58,40896
Time	24,88655	31,91392	50,11345
Ratio	1,59104	14,45662	18,40896

333

334 Results of *Critical Values* Analysis of Antioxidant Activity

Factor	Observed Mnimum	Critical Values	Observed Maximum
Temperature	41,59104	42,09415	58,40896
Time	24,88655	33,71436	50,11345
Ratio	1,59104	15,69610	18,40896

335

336 In the phenol analysis results, 3-dimensional graphs formed of *saddle* and maximum are
 337 seen. On the *saddle chart*, there is a reflection point between relative minimums and
 338 relative maximums. On the saddle chart, it is difficult to determine the optimal point. At
 339 the maximum graph, the optimal point is within the scope of the study (Bezerra *et al.*,
 340 2008). The ANOVA and Pareto results show a ratio variable that gives an effect on the
 341 phenol yield. The results of critical values analysis show optimal temperature, time, and

342 ratio. The best temperature at 48.8°C for 31.91 minutes with a ratio of 14.46 grams in
 343 100 ml of ethanol. The results of the antioxidant analysis show a plateau and a
 344 maximum 3-dimensional graph. The plateau graph shows that the variable did not show
 345 significant results so there was no optimal left. On the graph, the maximum optimal
 346 point can be determined because it is within the scope of the study (Bezerra *et al.*,
 347 2008). In the ANOVA and Pareto results, the ratio variable shows the effect on
 348 antioxidant results. The results of critical values analysis show optimal temperature,
 349 time, and ratio. The best temperature at 42.09°C for 33.71 minutes with a ratio of 15.7
 350 grams in 100 ml of ethanol.

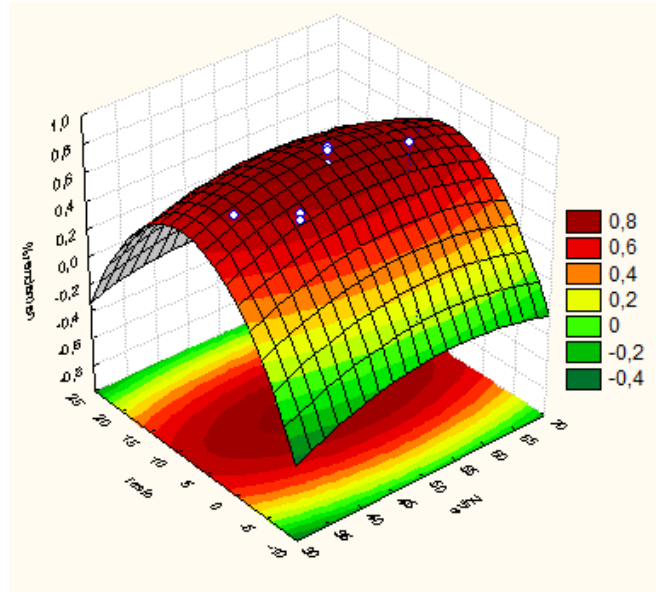
351
 352
 353

Validation% Yield Analysis

Results of Analysis of Validation% Yield

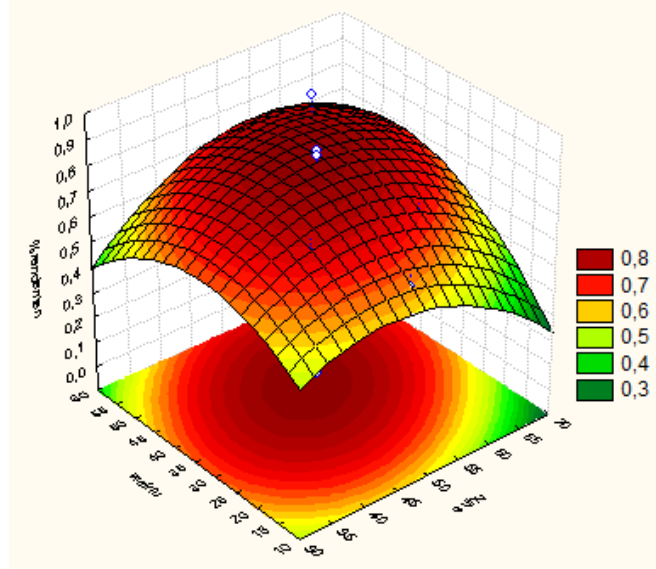
No	Temperature(°C)	Time (minute)	Ratio (gram)	%Rendemen (%)
1	42	24,9	1,6	71
2	42	24,9	18,4	38
3	42	50,1	1,6	67
4	42	50,1	18,4	38
5	58	24,9	1,6	63
6	58	24,9	18,4	40
7	58	50,1	1,6	88
8	58	50,1	18,4	31
9	36	36,4	6,1	69
10	64	36,4	6,1	65
11	50	15,1	6,1	59
12	50	57,6	6,1	66
13	50	36,4	-8,0	0
14	50	36,4	20,2	28
15	50	36,4	6,1	88
16	50	36,4	6,1	86
17	50	36,4	6,1	77

354



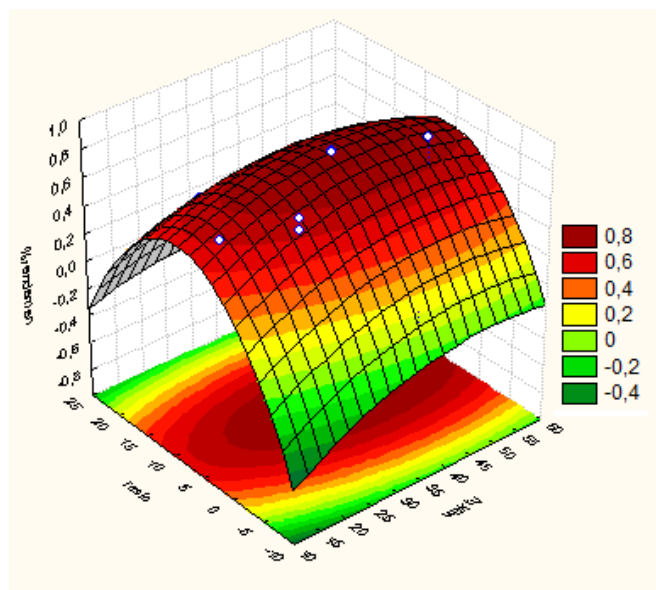
355
356

Fitted Surface Effect of Temperature Ratios on Validation % Rendemen



357
358

Fitted Surface Effect of Time Temperature on % Yield Validation



359 *Fitted Surface* The Effect of Time Ratio on % Validation Yield

360

361

362

Validation data is used to prove the data from RSM analysis is the correct data. The

363

results of the *fitted surface* analysis show the graph forming a maximum graph, which

364

shows that the optimum point is in the graph (Bezerra *et al.*, 2008). ANOVA and Pareto

365

charts are used to show important variables (Pambi and Musonge, 2016). In the

366

ANOVA and Pareto results displayed significant treatment ratio results. Regression

367

compares several independent variables as predatory or regressor variables (Myers *et*

368

al., 2009). The results of the regression analysis showed that the ratio affected the

369

results of the % Rendemen validation.

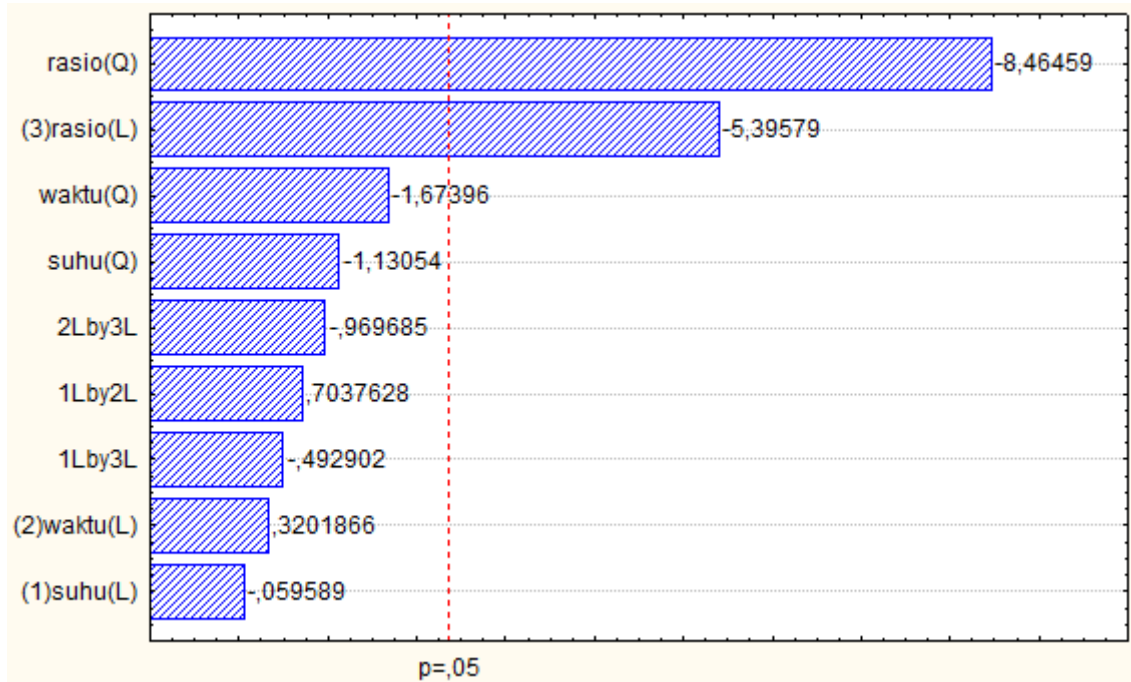
370

371

ANOVA Analysis Results Validation % Yield

Factor	SS	df	MS	F	P
Temperature(L)	0,000039	1	0,000039	0,00355	0,954149
Temperature(Q)	0,013950	1	0,013950	1,27811	0,295493
Time (L)	0,001119	1	0,001119	0,10252	0,758172
Time (Q)	0,030585	1	0,030585	2,80214	0,138052
Ratio (L)	0,317781	1	0,317781	29,11451	0,001013
Ratio (Q)	0,782042	1	0,782042	71,64929	0,000063
1L by 2L	0,005406	1	0,005406	0,49528	0,504310
1L by 3L	0,002652	1	0,002652	0,24295	0,637166
2L by 3L	0,010263	1	0,010263	0,94029	0,364507
Error	0,076404	7	0,010915		

372



373
374
375
376

Pareto Chart Validation % Yield

Results of Regression Analysis of % Yield Validation

Factor	Koefisien Regresi	p
Mean	-0,829405	0,564095
Temperature(L)	0,042653	0,385510
Temperature(Q)	-0,000496	0,295493
Time (L)	0,016116	0,503402
Time (Q)	-0,000325	0,138052
Ratio (L)	0,073155	0,039248
Ratio (Q)	-0,003360	0,000063
1L by 2L	0,000245	0,504310
1L by 3L	-0,000247	0,637166
2L by 3L	-0,000323	0,364507
R2	0,92314	

377
378

Benefits of Nutmeg Oleoresin Seeds

379 Nutmeg is widely used for culinary and medicine (Jain and Häggman, 2007). Nutmeg
380 oleoresin has a stronger aroma and flavor compared to its ingredients (Nurdjannah,
381 2007). Nutmeg oleoresin is widely used in the food and beverage industry. The food
382 industry utilizes oleoresin in the preparation of meat products, making soups, bakery

383 products, making puddings, seasonings, and adding flavor to dairy-based foods (Peter,
384 2001). The content in nutmeg can be extracted to obtain oleoresin. Nutmeg oleoresin is
385 used industrially for *coloring* and *flavoring* (Peter, 2012). Nutmeg oleoresin which is
386 extracted using ethanol is able to contribute color to food due to the nature of ethanol
387 which dissolves pigments (Aziz, 2009). Apart from the food industry, nutmeg oleoresin
388 is also used in the medicine and perfume industries. Nutmeg oil in the world of health is
389 used to treat inflammation of the bladder and urinary tract, halitosis, dyspepsia,
390 flatulence, impotence, insomnia, and skin diseases (Peter, 2001).

391

392 **Nutmeg Toxicity**

393 Nutmeg contains toxic compounds. The content of myristicin in nutmeg is a toxic
394 compound. Nutmeg powder in minimal amounts (5 grams) can cause psychogenic
395 effects. In 7 grams of nutmeg powder contained 400 mg of myristicin which can cause
396 interference with the human brain. In addition, consumption of large amounts of nutmeg
397 can cause flushing, tachycardia, hypertension, dry mouth, blurred vision, psychoactive
398 hallucinations, feelings of euphoria (unreal) and delirium. High consumption of
399 myristicin can also cause bad changes in the nervous system due to exposure to toxic
400 chemicals. This can cause traumatic brain damage and other neurological diseases.
401 Myristicin itself is neurotoxicity that can damage the brain through induction in the
402 nervous system (Rahman *et al.*, 2015).

403

404

405

406

407 **Conclusion**

408 The temperature, time, and ratio treatment affect the results of oleoresin extraction. The
409 highest % of yield was at 50.4°C for 38.6 minutes with a ratio of 5.11 grams in 100 ml
410 of ethanol. The best phenol results were obtained at 48.8°C for 31.91 minutes with a
411 ratio of 14.46 grams in 100 ml of ethanol. The best antioxidant activity results were
412 obtained at 42.09°C for 33.71 minutes with a ratio of 15.7 grams in 100 ml of ethanol.
413 Nutmeg oleoresin is widely used as *flavoring* and *coloring*. The use of ethanol solvent
414 causes the pigment in the nutmeg to dissolve. The content of *myristicin* in excessive
415 consumption can cause brain damage.

416

417 **References**

- 418 Aguirre, Daniela Bermudez. (2017). *Ultrasound: Advances in Food Processing and*
419 *Preservation*. Academic Press. UK.
- 420 Anggraini, Rini, Afghani Jayuska, dan Andi Hairil Alimuddin. (2018). *Isolasi Dan*
421 *Karakterisasi Minyak Atsiri Lada Hitam (Piper nigrum L.) Asal Sajingan*
422 *Kalimantan Barat*. Jurnal Kimia Khatulistiwa. Volume 7 nomor 4:124-133.
- 423 Bezerraa, Marcos Almeida, Ricardo Erthal Santelli, Eliane Padua Oliveiraa, Leonardo
424 Silveira Villar, dan Luciane Amelia Escaleira. (2008). *Response Surface*
425 *Methodology (RSM) As a Tool for Optimization in Analytical Chemistry*. Journal
426 *Talanta*. Volume 76 nomor 5:965-977.
- 427
- 428 Capelo-Martine, JL .(2009). *Ultrasound In Chemistry Analitical Application*. WILEY-
429 VCH Verlag GmbH & Co. KgaA. Portugal

430 Chasani , M., V.H. Nursalim , S. Widyaningsih , I.N. Budiasih , dan W.A. Kurniawan.
431 (2014). *Sintesis, Pemurnian dan Karakterisasi Metil Ester Sulfonat (MES) sebagai*
432 *Bahan Inti Deterjen dari Minyak Biji Nyamplung (Calophyllum inophyllum L).*
433 *Jurnal Molekul.* Volume 9 nomor 1:63-72.

434 Chen, Dong, Sanjay K. Sharma, dan Ackmez Mudhoo. (2012). *Handbook on*
435 *Applications of Ultrasound: Sonochemistry for Sustainability.* CRC Press. Boca
436 Raton.

437 Chotikapanich, Duangkamon. (2008). *Modeling Income Distributions and Lorenz*
438 *Curves.* Springer. Australia.

439 Dang, Thanh T., Quan Van Vuong, Maria J. Schreider, Michael C. Bowyer, Ian A. Van
440 Altena, dan Christopher J. Scarlett. (2017). *Optimisation of Ultrasound-Assisted*
441 *Extraction Conditions for Phenolic Content and Antioxidant Activities of The Alga*
442 *Hormosira Banksii Using Response Surface Methodology.* *Journal of Applied*
443 *Phycology.* Volume 29 nomor 6:3161–3173.

444 Fang, Zhen, Richard L. Smith, Jr., dan Xinhua Qi. (2015). *Production of Biofuels and*
445 *Chemicals with Ultrasound.* Springer. London.

446

447 Gulcin, Ilhami. (2005). *The antioxidant and radical scavenging activities of black*
448 *pepper (Piper nigrum) seeds.* *International Journal of Food Sciences and Nutrition.*
449 *Volume 56 nomor 7:491-499.*

450 Hasanah, Mauizatul, Bella Maharani, dan Ensiwi Munarsih. (2017). *Daya Antioksidan*
451 *Ekstrak dan Fraksi Daun Kopi Robusta (Coffea Robusta) Terhadap Pereaksi DPPH*
452 *(2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).* *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and*
453 *Technology.* Volume 4 nomor 2:42-49.

454 Jain, S.Mohan dan H. Häggman. (2007). *Protocols for Micropropagation of Woody*
455 *Trees and Fruits*. Springer. Netherlands.

456 Lee, W.C., S. Yusof , N.S.A. Hamid, dan B.S. Baharin. (2006). *Optimizing Conditions*
457 *for Enzymatic Clarification of Banana Juice Using Response Surface Methodology*
458 *(RSM)*. Journal of Food Engineering. Volume 73 nomor 1:55–63.

459 Lestario, Lydia Ninan. (2017). *Antosianin: Sifat Kimia, Perannya dalam Kesehatan,*
460 *dan Prospeknya sebagai Pewarna Makanan*. Gadjah Mada University Press.
461 Yogyakarta.

462 Martínez, José Luis Capelo. (2009). *Ultrasound in Chemistry: Analytical Applications*.
463 Wiley-VHC. Weinheim.

464

465 Myers, Raymond H., Douglas C. Montgomery, Dan Christine M. Anderson-Cook.
466 (2009). *Response Surface Methods: Process and Product Optimization Using*
467 *Design Experiments* . Wiley Publisher. USA.

468 Nurdjannah, Nanan. (2007). *Teknologi Pengolahan Pala*. Badan Penelitian dan
469 Pengembangan Pertanian. Indonesia.

470 Oei, Jessica Oeinitan. (2013). *Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis*
471 *(Garcinia mangostana Linn.) Hasil Pengadukan dan Reflux*. Jurnal Ilmiah
472 Mahasiswa Universitas Surabaya. Volume 2 nomor 1:1-10.

473 Pambi, R. L. L. dan P. Musonge. (2016). *Application of Response Surface Methodology*
474 *(RSM) in The Treatment of Final Effluent from The Sugar Industry Using Chitosan*.
475 WIT Transactions on Ecology and The Environment. Vol 209:209-219.

476 Peter, K. V. (2001). *Handbook of Herbs and Spices*. Woodhead Publishing Limited.
477 England.

478 Peter, K. V. (2012). *Handbook of Herbs and Spices*. Woodhead Publishing. UK.

479 Prasetyo, A. P., dan Mulyono, E. (1987). *Penggunaan Oleoresin Sebagai Bahan*
480 *Penyedap Makanan dan Minuman*. Buletin Littro. Volume 1 nomor 2:94–101.

481 Rahman, N.A.A, Fazilah A., dan Effarizah M.E. (2015). *Toxicity of Nutmeg*
482 *(Myristicin): A Review*. International Journal on Advanced Science, Engineering
483 and Information Technology. Volume 5 nomor 3:212-215.

484 Rathod, Sachin S. dan Virendra K. Rathod. (2014). *Extraction of piperine from Piper*
485 *longum using ultrasound*. Industrial Crops and Products. Volume 58 nomor 1:259–
486 264.

487 Rauf, Rusdin, Eni Purwani, dan Endang Nur Widiyaningsih. (2011). *Kadar Fenolik dan*
488 *Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH Berbagai jenis Ekstrak Jahe (Zingiber*
489 *officinale)*. Jurnal Teknologi Hasil Pertanian. Volume IV nomor 2:121-125.

490 Rodianawati, I., Hastuti, P., & Cahyanto, M. N. (2015). *Nutmeg 's (Myristica fragrans*
491 *Houtt) Oleoresin : Effect of Heating to Chemical Compositions and Antifungal*
492 *Properties*. Procedia Food Science. Volume 3:244–254.

493 Santos, Philipe, Ana C. Aguiar, Gerardo F. Barbero, Camila A. Rezende, dan Julian
494 Martínez. (2015). *Supercritical Carbon Dioxide Extraction Of Capsaicinoids From*
495 *Malagueta Pepper (Capsicum frutescens L.) Assisted by Ultrasound*. Ultrasonics
496 Sonochemistry. Volume 22 nomor 1:78–88.

497 Sumbono, Aung. (2019). *Biomolekul*. Penerbit Deepublish. Yogyakarta.

498 Tainter, Donna R. dan Anthony T. Grenis. (2001). *Spices and Seasonings: A Food*
499 *Technology Handbook*. Wiley – WCH. Canada.

500 USDA. _____. *Plants Profile for Myristica fragrans Houtt (nutmeg)*.
501 <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=MYFR3> (diakses tanggal 14 Maret
502 2019).

503 Wagner, Hildebert dan Sabine Blatt. (2011). *Plant Drug Analysis : A Thin Layer*
504 *Chromatography Atlas Second Edition*. Springer. German.

505 Waluyo, Totok, E. S. Sumadiwangsa, Pudji Hastuti, dan Evi Kusmiyati. *Sifat-Sifat*
506 *Kopal Manila dari Probolinggo, Jawa Timur*. Jurnal Penelitian Hasil Hutan. Volume 22
507 nomor 2:87–94.

published and citable, and linked from your article. [Learn more.](#)

I wish to select a statement explaining why I am not linking to or uploading my research data (this statement will appear next to your article on Science Direct).

Your files should be numbered in the correct order before proceeding.

The order in which the attached items appear in the list will be the order in which they appear in the PDF file that is produced.

If multiple files are attached, you may change the order by entering new numbers in the "Order" textbox, and then click "Update File Order".

You only need to change the number of the files you want to move; the other files will be renumbered automatically.

Order	Item	Description	File Name	Size	Last Modified	Actions
1	*Manuscript	*Manuscript	Victoria K Ananingsih.docx	474.7 KB	Dec 01, 2019	Download Remove
Update File Order						Remove All

[Previous](#) [Next](#)

Dokumen pendukung luaran Tambahan #5

Luaran dijanjikan: Publikasi Ilmiah Jurnal Nasional Terakreditasi

Target: submitted

Dicapai: Submitted

Dokumen wajib diunggah:

1.

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah artikel

Dokumen belum diunggah:

-

OPTIMASI SUHU DAN WAKTU EKSTRAKSI ULTRASONIK OLEORESIN BIJI PALA (*Myristica fragrans* Houtt.) MENGGUNAKAN RESPONSE SURFACE METHODOLOGY (RSM)

Victoria Kristina Ananingsih, Bernadeta Soedarini, Mahardini Putri

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, UNIKA Soegijapranata
Semarang

ABSTRAK

Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) merupakan salah satu jenis tanaman rempah yang banyak dihasilkan di Indonesia. Bagian dari buah pala yang sering dimanfaatkan adalah bagian bijinya. 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. Salah satu cara untuk mendapatkan oleoresin dari biji pala adalah dengan ekstraksi ultrasonik. Metode ekstraksi ultrasonik dipilih karena dapat memberikan hasil rendemen yang lebih banyak dengan waktu ekstraksi yang relatif lebih cepat dibanding ekstraksi metode maserasi dan *soxhlet*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui suhu dan waktu optimal ekstraksi ultrasonik, agar mendapat rendemen tertinggi dengan kualitas oleoresin yang baik. Ekstraksi dilakukan menggunakan *ultrasonic cleaner* (100 W, 45 kHz), dengan 13 kombinasi perlakuan suhu (43, 45, 50, 55, dan 57°C) dan waktu (27; 30; 37,5; 45 dan 48 menit), serta pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Metode analisa data menggunakan metode permukaan respon (*Response Surface Methodology*) untuk melihat hubungan rendemen, total fenol dan aktivitas antioksidan oleoresin biji pala terhadap variabel suhu dan waktu yang digunakan. Hasil analisa menggunakan metode permukaan respon pada suhu 55°C selama 45 menit menunjukkan bahwa kandungan aktivitas antioksidan tertinggi sebesar 94,2537%, dengan jumlah rendemen sebesar 52,53% dan total fenol 0,1092 mg GAE/g.

Kata kunci : ekstraksi ultrasonik, oleoresin, biji pala, suhu, waktu

1. PENDAHULUAN

Tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt.) merupakan salah satu jenis tanaman rempah yang banyak dihasilkan di Indonesia. Bagian dari buah pala adalah cangkang, daging buah, fuli, dan biji pala. Di Indonesia, buah pala sering digunakan sebagai rempah yang ditambahkan kedalam masakan untuk meningkatkan cita rasa masakan tersebut. Salah satu bagian dari buah pala yang sering dimanfaatkan adalah pada bagian bijinya. 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).

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). Keuntungan dari metode ekstraksi ultrasonik adalah kualitas produk yang dihasilkan lebih baik dan proses produksinya lebih efisien karena waktu ekstraksi yang lebih singkat dibanding beberapa metode ekstraksi lainnya (Widjanarko *et al.*, 2011).

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengolah data penelitian adalah metode permukaan respon atau *Response Surface Methodology* (RSM). RSM dapat digunakan untuk mengetahui keterkaitan antar variabel proses yang digunakan dalam penelitian, terhadap jumlah dan kualitas produk yang dihasilkan, serta metode ini memberikan rendering grafik serta titik optimal suatu proses (Polowczyk & Kozlecki, 2017).

2. MATERI DAN METODE

2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *ultrasonic cleaner* (Biobase UC-10SD), mortar dan alu, blender, kertas saring, timbangan analitik, gelas ukur, termometer, pipet volume, pompa pileus, labu takar, *erlenmeyer*, mikro pipet, *cuvet*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pengaduk kaca, *beakerglass*, *rotary vacuum evaporator*, *hot plate*, botol vial, *vortex*, *cabinet dryer* dan spektrofotometer (Shimadzu UV-1280).

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji pala (*Myristica fragrans* Houtt.) yang diperoleh dari salah satu penjual di pasar Jatingaleh Semarang yang khusus menjual rempah – rempah, aquades, etanol 96%, senyawa *Folin–Ciocalteu*, larutan natrium karbonat (7,5%), metanol 99%, larutan DPPH.

2.3. Ekstraksi Oleoresin Dan Penelitian Pendahuluan

Sebelum menentukan kombinasi perlakuan suhu dan waktu ekstraksi pada penelitian ini, dilakukan penelitian pendahuluan terlebih dahulu dengan melakukan proses ekstraksi. Proses ekstraksi oleoresin dilakukan 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. Kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan alat *ultrasonic cleaner* dengan pelarut etanol 96% yang sudah diatur suhu dan waktunya. Setelah proses ekstraksi selesai dilakukan, dilanjutkan dengan penyaringan ekstrak menggunakan kertas saring, yang kemudian hasil saringan di evaporasi dengan *rotary vacuum evaporator* untuk mendapatkan oleoresin. Oleoresin yang didapat kemudian ditimbang dan dicatat beratnya. Setelah itu hasil optimum dan minimum suhu dan waktu ekstraksi yang didapat, diolah menggunakan salah satu metode penelitian yang ada di dalam aplikasi pengolahan data RSM untuk mendapatkan ke tiga belas kombinasi perlakuan suhu dan waktu yang akan digunakan pada penelitian ini. Setelah kombinasi perlakuan didapatkan, ekstraksi menggunakan alat *ultrasonic cleaner* di lakukan sesuai kombinasi perlakuan suhu dan waktu yang didapat. 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.

2.4. Analisa Rendemen

Analisa rendemen oleoresin yang dihasilkan dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat oleoresin (gr)}}{\text{berat biji pala (gr)}} \times 100\%$$

2.5. Analisa Total Fenol

Untuk melakukan analisa fenol, pertama-tama ambil sebanyak 0,5 ml sampel yang telah diencerkan kedalam tabung reaksi. Kemudian tambahkan 2 ml larutan *Folin-Ciocalteu* dan 4 ml natrium karbonat (7,5%). Campuran larutan kemudian di *vortex* dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Setelah diinkubasi, kemudian larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 765 nm. Asam galat digunakan sebagai standar, dan hasilnya dinyatakan sebagai miligram *gallic acid equivalent* (GAE) per gram ekstrak.

2.6. Analisa Aktivitas Antioksidan

Dari sampel yang sebelumnya telah diencerkan, kemudian diencerkan kembali hingga 100 ppm. Setelah itu ambil 0,5 ml sampel kedalam tabung reaksi, tambahkan 3 ml larutan DPPH. Selanjutnya di *vortex* dan campuran larutan kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Setelah inkubasi selesai, larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm, catat hasil yang didapat. Kemudian hitung aktivitas antioksidannya dengan rumus :

$$\text{Discoloration (\%)} = \left[\left(\frac{A_0 - A_i}{A_0} \right) \times 100\% \right]$$

Keterangan :

A_i : nilai absorbansi sampel

A₀ : nilai absorbansi kontrol (tanpa penambahan ekstrak)

2.7. Analisa Data Dan Optimasi Menggunakan RSM

Hasil analisa rendemen, total fenol dan aktivitas antioksidan ekstraksi oleoresin biji pala berupa data parametrik. Ketiga hasil analisa data oleoresin tersebut diolah menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Analisa data dilakukan dengan menggunakan *pareto chart* dengan tingkat kepercayaan 95% dan kurva *fitted response surface* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang nyata antara variabel yang digunakan, yaitu suhu dan waktu ekstraksi, serta untuk mengetahui suhu dan waktu terbaik agar dapat memperoleh hasil optimal di setiap aspek analisa.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rendemen oleoresin tertinggi didapat pada perlakuan suhu 50°C selama 37,5 menit, yaitu sebesar 55,37% dan rendemen terendah didapatkan pada perlakuan suhu 43°C selama 37,5 menit yaitu sebesar 47,37%. Analisa menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) yang dapat dilihat pada Gambar 2., 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.

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. 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), sehingga etanol cocok digunakan sebagai pelarut dalam penelitian ini karena dapat dengan mudah mengeluarkan senyawa fenol dalam biji pala. Pada hasil pengujian total fenol yang dapat dilihat pada Gambar 4, dari ketiga belas kombinasi perlakuan suhu dan waktu yang digunakan tidak memberikan pengaruh pada kandungan fenol dalam oleoresin yang dihasilkan.

Pengujian aktivitas antioksidan terendah didapatkan hasil *discoloration* pada perlakuan suhu 45°C selama 45 menit, yaitu sebesar 86,1253% dan aktivitas antioksidan oleoresin tertinggi didapatkan hasil *discoloration* pada perlakuan suhu 55°C selama 45 menit, yaitu sebesar 94,2537%. *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 pudar atau luntur.

Variabel suhu dan waktu tidak terlalu mempengaruhi hasil rendemen dan total fenol. Tidak hanya variabel suhu dan waktu 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 proses evaporasi atau proses penguapan pelarut harus dihentikan, maka bisa jadi masih ada pelarut yang tertinggal pada hasil. Hal inilah yang mempengaruhi hasil analisa rendemen dan analisa lainnya seperti analisa total fenol dan 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).

4. KESIMPULAN

Rendemen oleoresin tertinggi didapat pada ekstraksi suhu 50°C selama 37,5 menit yaitu sebanyak 55,37%. Kandungan fenol dalam oleoresin tertinggi didapat pada ekstraksi suhu 43°C selama 37,5 menit dengan kandungan fenol sebesar 0,1230 mg GAE/g. Aktivitas antioksidan tertinggi didalam oleoresin yang dihitung berdasarkan persen *discoloration*, didapat pada ekstraksi suhu 55°C selama 45 menit yaitu sebesar 94,2537%. Pada penelitian ini, kombinasi perlakuan suhu dan waktu ekstraksi yang digunakan mempengaruhi hasil analisa aktivitas antioksidan, tetapi tidak mempengaruhi hasil analisa rendemen dan total fenol oleoresin biji pala.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Algariri *et al.* (2013). *Hypoglycemic and anti-hyperglycemic study of Gynura procumbens leaf extracts*. School Of Pharmaceutical Sciences. University Sains Malaysia. 11800. Penang. Malaysia. 3(5), 358-366.
- Anam, C. (2010). EKSTRAKSI OLEORESIN JAHE (*Zingiber officinale*) KAJIAN DARI UKURAN BAHAN, PELARUT, WAKTU DAN SUHU. *Jurnal Pertanian MAPETA*, XII(2), 72–144.
- Arpi, N., & Rezekiah, K. (2013). Ekstraksi Oleoresin dari Limbah Penyulingan Pala Menggunakan Ultrasonik. *Jurnal Rekayasa Kimia Dan Lingkungan*, 9(4), 180–187.
- Fuadi A. (2012). Ultrasonik Sebagai Alat Bantu Ekstraksi Oleoresin Jahe. *Jurnal Teknologi*, Vol. 12, No. 1, April 2012 : 14-21 14.
- Gulcin, Ilhami. (2005). The Antioxidant And Radical Scavenging Activities Of Black Pepper (*Piper nigrum*) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. Volume 56 nomor 7:491-499.
- Kawiji, Anam, C., Manuhara, G. jati, & Fakhrudin, M. irfan. (2009). Kajian Karakteristik Oleoresin Jahe Berdasarkan Ukuran Dan Lama Perendaman Serbuk Jahe dalam Etanol. *Caraka Tani XXIV*, 1, 61–68.

Lou, Z., H. Wang, M. Zhang, Z. Wang. (2010). Improved Extraction of Oil from Chickpea under Ultrasound in a Dynamic System. *Journal of Food Engineering*; 98 : 13-18.

Peraturan Menteri Pertanian. Nomor 53/Permentan/OT.140/9/2012. Pedoman Penanganan Pascapanen Pala. Peraturan Menteri Pertanian. Jakarta.

Polowczyk, I., & Kozlecki, T. (2017). Central Composite Design Application In Oil Agglomeration Of Talc. *Physicochem. Probl. Miner. Process.* 53(1),2017,1061-1078.

Santos, Philipe, Ana C. Aguiar, Gerardo F. Barbero, Camila A. Rezende, dan Julian Martínez. (2015). Supercritical Carbon Dioxide Extraction Of Capsaicinoids From Malagueta Pepper (*Capsicum frutescens* L.) Assisted by Ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*. Volume 22 nomor 1:78–88.

Soehendro.W.A., Manuhara J.G., Nurhartadi. E., (2015). Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Antimikrobia Ekstrak Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan Pelarut Etanol dan Air. *Jurnal Teknologi Sains Pangan*.

Sofyana, Supardan, M. D., Maulida, C. A., & Haura, U. (2013). Ultrasound Assisted Extraction of Oleoresin from Nutmeg (*Myristia Fragrans* Houtt). *International Journal on Advanced Science Engineering Information Technology*, 3(4), 18–21.

Sri Hartuti & Supardan, M. D. (2012). Optimasi Proses Ekstraksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale* Rosc) Menggunakan Ultrasonik. 9(1), 30–35.

Sri Hartuti & Supardan, M. D. (2013). Optimasi Ekstraksi Gelombang Ultrasonik Untuk Produksi Oleoresin Jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) Menggunakan Response Surface Methodology (RSM). *AGRITECH*, 33(4), 415–423.

Suslick, K. S. (1988). *Ultrasonics: Its Chemical, Physical and Biological Effects*. VHC Publishers, New York.

Wibowo. D.P., Yessi Febriani, Hesti Riasari, Diah L. Aulifa. (2018). Essential Oil Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) From Garut West Java. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. IJPST - 5(3), 2018; 82-87.*

Wicaksono.G.S (2015). Pengaruh Karagenan dan Lama Perebusan Daun Sirsak Terhadap Mutu dan Karakteristik Jelly Drink Daun Sirsak. *Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol 3 No 1 p 281-291.*

Widjanarko, S. B., Sutrisno, A., & Faridah, A. (2011). Effect of Hydrogen Peroxide on Physicochemical Properties of Common Konjac (*Amorphophallus oncophyllus*) Flour by Maceration and Ultrasonic Methods Effect of Hydrogen Peroxide on Physicochemical Properties of Common Konjac (*Amorphophallus oncophyllus*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 12(3), 143–152.

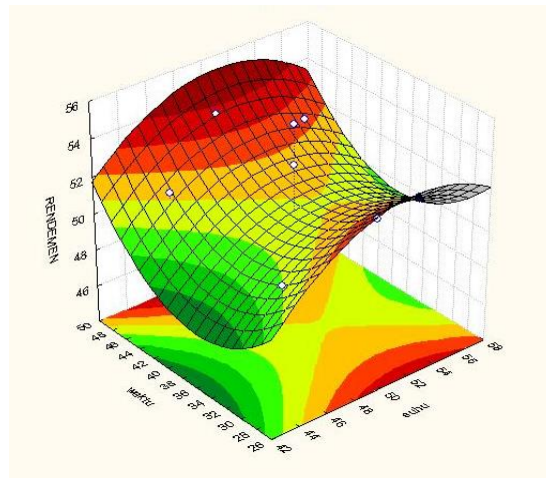
USDA. _____. Plants Profile for *Myristica fragrans* Houtt. (Nutmeg). <https://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=MYFR3>

Lampiran figure dan table

3.1 Rendemen

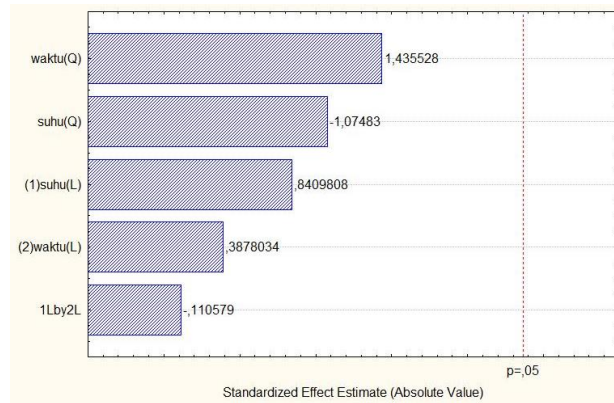
Tabel 1. Hasil Analisa Rendemen Oleoresin Biji Pala

Kombinasi	Suhu (°C)	Waktu (menit)	Rendemen (%) ($\pm 2,44$)
1	45	30	50,22
2	45	45	51,47
3	55	30	51,83
4	55	45	52,53
5	43	37,5	47,37
6	57	37,5	49,65
7	50	27	52,97
8	50	48	53,52
9	50	37,5	49,05
10	50	37,5	48,43
11	50	37,5	55,37
12	50	37,5	53,23
13	50	37,5	48,18



Gambar 1. Kurva fitted surface hubungan antara suhu dan waktu ekstraksi terhadap rendemen oleoresin biji pala

Dari kurva diatas, dapat dilihat bahwa perbedaan perlakuan suhu dan waktu ekstraksi yang digunakan tidak memberi pengaruh yang signifikan pada rendemen oleorein biji pala yang dihasilkan.



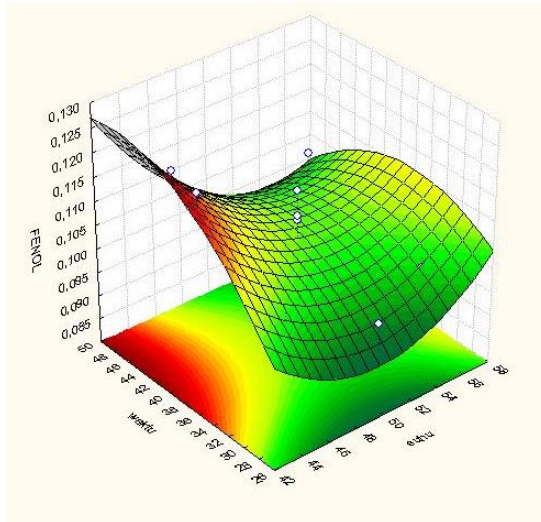
Gambar 2. Hasil analisa pareto rendemen oleoresin biji pala dengan tingkat kepercayaan 95%

Dari hasil pada gambar diatas, menunjukkan bahwa variabel suhu dan waktu yang digunakan tidak memiliki pengaruh yang berbeda nyata terhadap jumlah rendemen oleoresin yang dihasilkan.

5.1. Total Fenol

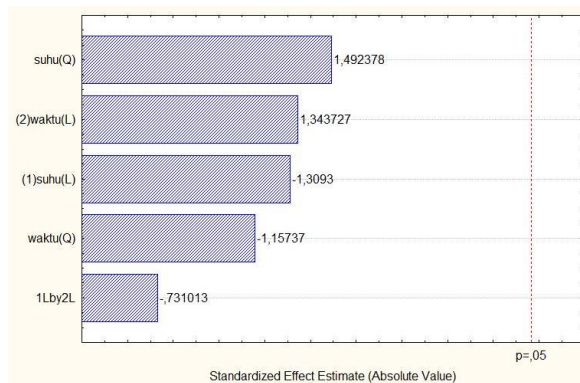
Tabel 2. Hasil Analisa Total Fenol Oleoresin Biji Pala

Kombinasi	Suhu (°C)	Waktu (menit)	Fenol mg GAE/g ($\pm 0,0087$)
1	45	30	0,0967
2	45	45	0,1177
3	55	30	0,0999
4	55	45	0,1092
5	43	37,5	0,1230
6	57	37,5	0,1057
7	50	27	0,0983
8	50	48	0,0983
9	50	37,5	0,1147
10	50	37,5	0,0977
11	50	37,5	0,1087
12	50	37,5	0,0977
13	50	37,5	0,1095



Gambar 3. Kurva fitted surface hubungan antara suhu dan waktu ekstraksi terhadap total fenol oleoresin biji pala

Dari kurva diatas, dapat dilihat bahwa perbedaan perlakuan suhu dan waktu ekstraksi yang digunakan tidak memberi pengaruh yang signifikan pada total fenol oleorein biji pala yang dihasilkan.



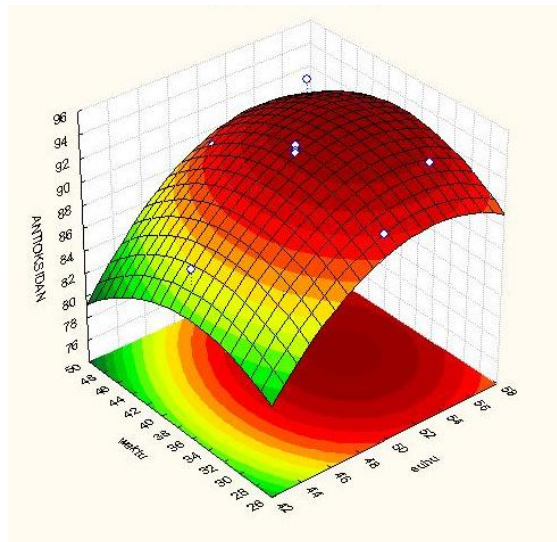
Gambar 4. Hasil uji pareto rendemen oleoresin biji pala dengan tingkat kepercayaan 95%

Dari hasil pada gambar diatas, menunjukkan bahwa variabel suhu dan waktu yang digunakan tidak memiliki pengaruh yang berbeda nyata terhadap total fenol oleoresin yang dihasilkan.

5.2. Aktivitas Antioksidan

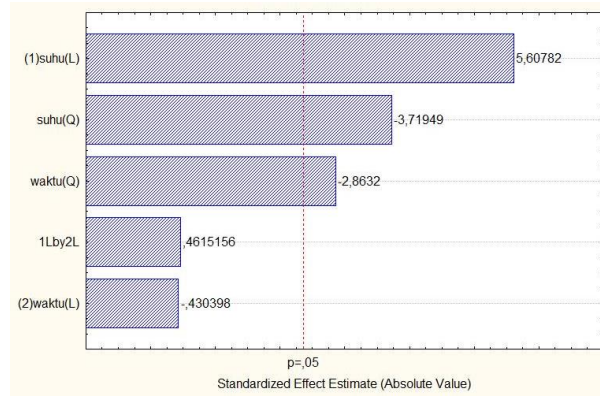
Tabel 3. Hasil Analisa Aktivitas Antioksidan Oleoresin Biji Pala

Kombinasi	Suhu (°C)	Waktu (menit)	Discoloration % ($\pm 2,9396$)
1	45	30	86,4175
2	45	45	86,1253
3	55	30	93,3163
4	55	45	94,2537
5	43	37,5	87,5525
6	57	37,5	91,8675
7	50	27	91,3765
8	50	48	89,7736
9	50	37,5	94,1466
10	50	37,5	92,7441
11	50	37,5	93,7262
12	50	37,5	92,8861
13	50	37,5	93,5476



Gambar 5. Kurva fitted surface hubungan antara suhu dan waktu ekstraksi terhadap aktivitas antioksidan oleoresin biji pala

Dari kurva di atas, dapat dilihat bahwa perbedaan perlakuan suhu dan waktu ekstraksi yang digunakan memberi pengaruh yang signifikan pada aktivitas antioksidan oleorein biji pala yang dihasilkan.



Gambar 6. Hasil uji pareto rendemen oleoresin biji pala dengan tingkat kepercayaan 95%

Dari hasil pada gambar di atas, menunjukkan bahwa variabel suhu dan waktu yang digunakan memiliki pengaruh yang berbeda nyata terhadap aktivitas antioksidan oleoresin yang dihasilkan.



[Home](#) / [User](#) / [Author](#) / [Active Submissions](#)

Active Submissions

[Active](#) | [Archive](#)

ID	MM-DD	Sec	Authors	Title	Status
2267	11-25	ART	Ananingsih	Victoria Kristina Ananingsih	Awaiting assignment

1 - 1 of 1 Items

Start a New Submission

[Click here](#) to go to step one of the five-step submission process.

[Submit an Article](#)

[Authors Guidelines](#)

[Article Template](#)

ABOUT THE JOURNAL

[Online Submissions](#)

[Editorial Team](#)

[Focus and Scope](#)

[Open Access Policy](#)

[Publication Ethics and Malpractice Statement](#)

[Peer Review Process](#)

[Announcements](#)

[Contact Us](#)

Visitors (since Nov. 28, 2017):
00041352

