

## 4. PEMBAHASAN

### 4.1. Keberadaan Literatur

Literatur yang digunakan untuk pada *review* ini membahas tentang pemanfaatan limbah apel untuk produk pangan. Sebagian besar literatur mengatakan bahwa limbah apel mempunyai kandungan senyawa bernilai yang dapat diolah untuk dimanfaatkan menjadi produk yang bernilai. Literatur yang digunakan untuk membuat *review* ini total berjumlah 50 literatur yang terdiri dari 41 artikel penelitian, 7 *review*, dan 2 buku. Sebagian besar literatur yang digunakan adalah literatur berbahasa Inggris. Hal ini dikarenakan, sulit menemukan literatur berbahasa Indonesia yang memenuhi kriteria ranking. Tahun terbit literatur yang digunakan berkisar antara 2007-2022. Kualitas artikel yang digunakan pada *review* ini didominasi oleh ranking Scopus Q1.

### 4.2. Keberadaan Limbah

Dalam 56 tahun terakhir, secara global produksi apel meningkatkan 453% (Montanes *et al.*, 2018). Sebanyak 70% buah apel dipasarkan sebagai buah segar dan 25-30% lainnya diolah menjadi jus atau konsentrat jus, cuka, puree, selai, dan produk kering (Walia *et al.*, 2014). Jus apel merupakan salah satu jus buah yang paling populer dalam diet manusia. Menurut data FAOSTAT, perkebunan apel menghasilkan sekitar 80 juta ton apel setiap tahunnya. Cina merupakan salah satu produsen apel terbesar dunia. Produksi apel di Cina mencapai angka lebih dari 40% dari total produksi apel di dunia. Amerika Serikat merupakan produsen apel terbesar kedua dengan angka lebih dari 5 juta ton per tahun. Produsen apel terbesar di Eropa dipegang oleh Polandia dengan produksi apel lebih dari 4 juta ton per tahunnya (KolanoWsKi, 2019). Sejumlah besar apel terbuang selama tahap pertanian (3%), distribusi (15%), dan konsumsi rumah tangga (17%) (Ghinea & Leahu., 2022).

Sebagian besar apel digunakan untuk produksi jus apel, konsentrat jus apel, dan sari buah apel. Lebih dari 50% total produksi konsentrat jus apel di dunia dipegang oleh Cina, Amerika Serikat, dan Polandia. Seiring dengan meningkatnya industri pengolahan apel, jumlah limbah apel juga semakin meningkat. Produksi jus apel menghasilkan limbah berupa residu padat seperti kulit, biji, dan *apple pomace* (KolanoWsKi, 2019). *Apple pomace* yang dihasilkan mencapai 25-30% dari berat buah segar asli (Malinowska *et al.*, 2018). Jumlah limbah apel yang dihasilkan selama pembuatan sari buah apel cukup banyak. Oleh karena itu, perlu

dilakukannya valorisasi untuk meningkatkan nilai dari limbah tersebut. Saat ini, sebagian kecil (20%) dari *apple pomace* digunakan dengan cara tradisional seperti pengomposan dan pakan ternak berkualitas rendah, sementara sebagian besar (80%) dibuang secara sia-sia ke Tempat Pembuangan Akhir (TPA) atau insinerator (Malinowska *et al.*, 2018).

Biji apel merupakan salah satu limbah hasil produksi sari apel. Biji apel kaya akan senyawa polifenol. *Phloridzin* dan *quercetin-3-galactoside* merupakan senyawa fenolik yang paling banyak ditemukan di dalam biji apel. *Phloretin-2'-xyloglucoside*, *5-caffeoylquinic acid* (asam klorogenat), (-) epikatekin, dan *p-coumaroylquinic acid* juga merupakan kandungan senyawa yang terdapat di biji apel (Fromm *et al.*, 2012). *Phloridzin* berperan memberikan ketahanan terhadap bakteri patogen dan memiliki potensi untuk pengobatan diabetes tipe 2 (Carson *et al.*, 1994). Studi terbaru juga menunjukkan adanya aktivitas antioksidan, antimikroba, dan antiproliferatif dari *apple seed oil* (Montañés *et al.*, 2018). Selain itu, biji apel juga kaya akan asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat dan linoleat (Walia *et al.*, 2014).

Kulit apel dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan alami yang berkontribusi dalam peningkatan kesehatan manusia. Kandungan antioksidan dalam kulit apel lebih besar dibandingkan dagingnya (Tow *et al.*, 2011, Preti & Tarola, 2021). Menurut Shin *et al.*, (2017), 9000 ton kulit apel dapat dihasilkan tiap tahunnya dari industri pengolahan apel. Kulit apel kaya akan kandungan polifenol berupa flavonol, *phloridzin*, *quercetin* glikosida, dan *procyanidins* dengan kapasitas 2 kali lebih banyak dari daging apel (Sablani *et al.*, 2019). *Epigallocatechin gallate* dan rutin merupakan polifenol terbanyak dalam ekstrak kulit apel yang diikuti dengan *quercetin*, asam gallat, dan katekin. *Epigallocatechin gallate*, rutin, katekin, dan *quercetin* memiliki fungsi sebagai antiinflamasi serta mencegah penyakit kronis seperti kardiovaskular, kanker, dan diabetes tipe 2 (Casaszza *et al.*, 2020).

*Apple pomace* merupakan salah satu limbah apel dengan kuantitas tertinggi dalam industri pengolahan buah yang mencapai 25-30% (Montañés *et al.*, 2018). Produksi tahunan dari *apple pomace* di Amerika Serikat dan Jerman berjumlah sekitar 1,3 dan 0,25 juta metrik ton. Pada tahun 2010, secara global produksi *apple pomace* diperkirakan akan melebihi 3.600 kton/tahun (Vidović *et al.*, 2020). Limbah dari *apple pomace* mengandung empat komponen fisiologis berupa daging (60-65%), kulit (30-35%), biji (3-4,5%), dan batang (0,5-1%) (Montañés *et al.*, 2018). Diperkirakan, jus apel yang dihasilkan dari industri hanya mengandung 3-10% dari total

antioksidan buah apel. Komposisi *apple pomace* mencakup selulosa 7,2-43,6%, hemiselulosa 4,26-29,90%, lignin 15,3-23,5%, pektin 3,5-14,32%, protein 2,9-5,7%, lemak 1,2-3,9% (Egüés *et al.*, 2021). *Apple pomace* memiliki kandungan antioksidan seperti *quercetin*, katekin, rutin, asam klorogenat, prosianidin, dan floretin glikosida yang dapat mengurangi resiko penyakit kronis (Ferrentino *et al.*, 2018; Wijngaard & Brunton, 2010). Polifenol pada kulit apel dapat diambil dengan ekstraksi *solid-liquid* atau sering disebut dengan ekstraksi Soxhlet. Penggunaan suhu yang tinggi saat ekstraksi menghasilkan polifenol yang lebih banyak dibandingkan suhu kamar. Ekstraksi dengan *ultrasound* menghasilkan kandungan total polifenol yang lebih tinggi daripada ekstraksi Soxhlet (Casaszza *et al.*, 2020; Egüés *et al.*, 2021).

### 4.3. Status Valorisasi

#### 4.3.1. Edible Film

Jika dibandingkan dengan bahan plastik sintetis, pembuatan *film* dari bahan *biodegradable* seperti biopolimer alami dapat mengurangi terjadinya kerusakan lingkungan (Sganzerla *et al.*, 2020; Sablani *et al.*, 2009). *Edible film* terbuat dari campuran biopolimer dan zat aditif seperti *plasticizers*, antioksidan, dan antimikroba. Penggunaan *edible film* dapat meningkatkan kualitas produk makanan dengan memperpanjang umur simpan dan mencegah terjadinya perubahan fisik, kimia, dan biologis (Shin *et al.*, 2017). *Edible film* bermanfaat sebagai penghalang semipermeabel dengan mengurangi kehilangan kelembapan, oksigen dan migrasi gas lainnya (Sganzerla *et al.*, 2020).

Antioksidan dan antimikroba alami seperti senyawa fenolik dan asam organik dapat ditambahkan pada *edible film* untuk mempertahankan dan memperpanjang umur simpan produk makanan sebagai pengganti bahan pengawet kimia. Berbagai senyawa fenolik dan flavonoid terdapat dalam kulit apel. Keuntungan penggunaan asam organik adalah memiliki sifat antimikroba, murah, dan mudah dimanipulasi tanpa menyebabkan perubahan sensorik pada produk (Shin *et al.*, 2017).

Pembuatan *edible film* diawali dengan mengeringkan bubuk kulit apel dengan oven. Kemudian, kulit apel kering dihaluskan dengan penggiling listrik. Pembuatan larutan pelapis dilakukan dengan mencampur CMC, gliserol, air suling, dan bubuk kulit apel. Kemudian larutan tersebut dihomogenkan dengan *high pressure homogenization* pada tekanan 150 MPa. Lalu, asam tartarat ditambahkan ke dalam larutan tersebut. Setelah itu, gelembung udara dihilangkan

menggunakan aspirator (Shin *et al.*, 2017). Sablani *et al.* (2009) juga melakukan penelitian yang serupa yaitu dengan *high pressure homogenization*.

Carboxymethylcellulose (CMC) adalah salah satu biopolimer yang sering digunakan untuk pembuatan *edible film* karena dapat memberikan kualitas yang bagus. CMC memiliki sifat penghalang oksigen, minyak, dan kelembapan, *biodegradable*, fleksibel, non toksik, aman dikonsumsi, bersifat amfifilik (Shin *et al.*, 2017). Teknik *high pressure homogenization* dapat mengecilkan ukuran partikel biomassa sehingga menjadi lebih larut (Shin *et al.*, 2017). Perubahan tekanan menghasilkan gaya yang dapat memotong rantai polimer. Tekanan tinggi pada proses homogenisasi menyebabkan penurunan viskositas karena rusaknya granula pati sehingga membentuk *film* yang homogen (Sablani *et al.*, 2009).

Pada Tabel 8, dapat diketahui bahwa jenis limbah yang digunakan untuk *edible film* adalah kulit apel. Hal ini dikarenakan, kulit apel mengandung senyawa kitosan. Kitosan adalah hasil turunan dari deasetilasi kitin. Kitosan sangat diminati karena memiliki karakteristik non toksik, *biodegradable*, dan antimikroba (Riaz *et al.*, 2021). Kitin dan kitosan adalah biopolimer non toksik alami. Kitosan merupakan polimer polikationik dengan struktur dan sifat yang spesifik, serta mengandung lebih dari 5000 unit glukosamin. Kitosan adalah serat, tetapi berbeda dari serat tumbuhan. Kitosan memiliki sifat unik termasuk kemampuan untuk membentuk *film*. Karena muatan ion positif pada kitosan memiliki kemampuan untuk mengikat lemak, *lipid*, dan asam empedu bermuatan negative secara kimia (Shiekh *et al.*, 2013). Kitosan adalah salah satu senyawa yang terbaik untuk pembuatan *edible film* karena dapat meningkatkan kualitas dan resistivitas buah (Shiekh *et al.*, 2013).

Kulit apel mengandung pektin. Pektin merupakan salah satu komponen utama dinding sel tumbuhan yang secara kimiawi tersusun oleh asam  $\alpha$ 1-4-galakturonat. Menurut derajat esterifikasinya dengan metanol, pektin dapat diklasifikasikan sebagai pektin metoksil tinggi atau pektin metoksil rendah. Dalam industri makanan, pektin diakui sebagai aman oleh *Food and Drug Administration* sebagai agen pembentuk gel, stabilisasi, atau pengental dalam produk makanan seperti selai, minuman *yoghurt*, minuman susu buah, dan es krim. Karena biodegradabilitas, biokompatibilitas, *edibility*, dan sifat kimia dan fisik yang serbaguna (seperti gelasi, permeabilitas gas selektif). Pektin adalah matriks polimer yang cocok untuk elaborasi *edible film* yang dimaksudkan sebagai kemasan makanan aktif (Espitia *et al.*, 2014)

Pada penelitian yang dilakukan oleh Sganzerla *et al.* (2020), bubuk apel dibuat dengan cara mencuci buah apel dan disanitasi dengan natrium hipoklorit (NaClO). Kemudian kulit buah apel dipisahkan dengan dagingnya. Lalu kulit apel dimasukkan ke dalam dehidrator selama 1 minggu. Setelah itu, dihomogenkan dalam multiprosesor dan diayak menggunakan *Mesh Tyler 200* untuk mendapatkan partikel berdiameter 75 $\mu$ m. Pembuatan *film* dilakukan dengan mencampur bubuk apel, pati, pektin, dan gliserol. Lalu dipanaskan pada suhu 85 °C dengan *undermagnetic stirrer* hingga pati tergelatinasi. Setelah itu, larutan *film* dipindahkan ke cawan petri dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 35 °C selama 48 jam hingga air menguap, kemudian disimpan dalam desikator untuk dianalisis.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Riaz *et al.* (2018) pembuatan *edible film* dilakukan dengan cara mengeringkan kulit apel dengan *freeze-dried* kemudian digiling menjadi bubuk menggunakan penggiling dapur. Larutan kitosan dibuat dengan cara mencampur kitosan dengan larutan asam asetat dan gliserol. Bubuk kulit apel ditambahkan kedalam larutan yang sudah dicampur tadi dan dihilangkan gelembung udaranya menggunakan vakum degasser. Lalu larutan tersebut diletakkan dalam cawan petri dan didiamkan hingga kering. Menurut Riaz *et al.* (2018), peningkatan konsentrasi polifenol menyebabkan ikatan antara polifenol dan kitosan semakin kuat. Polifenol berperan sebagai jembatan antara satu molekul kitosan dengan yang lain karena adanya gugus polihidroksil dalam struktur molekulnya. Hal ini menyebabkan, jarak antara molekul kitosan menjadi lebih pendek sehingga membuat struktur *film* menjadi lebih rapat sehingga ketebalan *film* meningkat.

Brakut *et al.* (2021) melakukan penelitian *pembuatan edible film* dengan memanfaatkan limbah bubuk kulit apel. Larutan pembentuk *film* dibuat dengan mencampurkan bubuk kulit apel dengan air suling lalu diaduk. Pembuatan larutan dilakukan dengan sonikator ultrasonik selama 30-40 menit dengan frekuensi 50 Hz. Setelah itu, larutan dipanaskan dan ditambahkan gliserol sebagai *plasticizer* untuk meningkatkan kelenturan *film*. Larutan dituang ke dalam cawan petri dan dikeringkan di udara selama 24 jam pada suhu kamar. *Film* yang sudah kering dikupas direndam dalam larutan kalsium klorida 2% selama 5 menit dan dibiarkan hingga kering. Kalsium klorida digunakan untuk meningkatkan kekuatan *film*. Selain itu, penambahan kalsium klorida sebagai kation multivalen ke dalam *film* berbasis pektin dapat meningkatkan ikatan antara polimer sehingga sifat kelarutannya rendah.

Penambahan *plasticizer* pada *edible film* bertujuan untuk meningkatkan fleksibilitas dan mekanisme *film*. Gliserol adalah *plasticizer* dengan molekul hidrofilik yang relatif kecil. Gliserol dapat mengurangi gaya tarik antar molekul dan meningkatkan mobilitas molekul (Sablani *et al.*, 2009). Brakut *et al.* (2021) menemukan adanya hubungan terbalik antara konsentrasi gliserol dengan kadar air *film*, dengan meningkatnya konsentrasi gliserol maka kadar air dan aktivitas air akan menurun karena gliserol memiliki sifat penghalang pada *film*.

Asam tartarat adalah asam organik dikarboksilat yang secara alami ditemukan dalam buah-buahan dan aman ditambahkan ke produk makanan. Berdasarkan hasil pengujian, asam tartarat efektif untuk sifat antimikroba dan antioksidan serta memiliki aroma asam yang paling rendah. Asam tartarat juga mampu mengontrol bakteri *Samonella* pada produk daging dan unggas. Fungsi dari asam tartarat adalah sebagai antibakteri dan antijamur. Asam tartarat dapat mengganggu aktivitas mikroba dengan mengasamkan sitoplasma (Shin *et al.*, 2017).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Shin *et al.* (2017), penggunaan *edible film* yang dikombinasi dengan penyimpanan pada suhu dingin dapat menurunkan pertumbuhan *S. enterica* pada *patty* daging sapi. Selain itu, *edible film* juga dapat meningkatkan tekstur, rasa, dan penerimaan keseluruhan *patty* daging sapi yang sudah dimasak. Protein myofibrillar pada *patty* daging sapi rusak karena adanya kandungan bubuk kulit apel pada *edible film* yang berperan sebagai protease pada *patty* daging sapi sehingga daging yang dihasilkan lebih empuk. *Patty* daging sapi yang diberi *edible film* lebih disukai karena rasanya lebih enak. Hal ini disebabkan oleh rasa apel yang terkandung dalam *edible film*.

Riaz *et al.* (2021), mengaplikasikan limbah kulit apel sebagai *edible film* pada buah *strawberry*. *Edible film* dibuat dengan mencampurkan bubuk kulit apel dengan gliserol dan diaduk selama 30 menit. Setelah itu, *strawberry* dicelupkan pada larutan dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Hasil yang didapat dari penelitian ini adalah pelapis berbasis kitosan dan biopolimer lainnya dapat memperlambat laju respirasi dan memodifikasi atmosfer internal buah dan sayur segar dengan bertindak sebagai penghalang selektif untuk O<sub>2</sub> dan CO<sub>2</sub> (Riaz *et al.*, 2021). Pelapisan buah dengan *film* yang mengandung kitosan dapat mengurangi penurunan kandungan flavonoid pada *strawberry*. Penggunaan *edible film* dari kulit apel dapat membantu menunda penuaan buah yang dikaitkan dengan perubahan warna dan *off-flavor*. Secara

signifikan, *edible film* dapat meningkatkan atribut kualitas *strawberry* dan dapat digunakan secara efektif untuk memperpanjang umur pascapanen *strawberry*.

Kemasan *edible film* memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba yang tinggi sehingga dapat disebut sebagai kemasan bioaktif karena adanya senyawa fenolik dan flavonoid didalamnya (Sganzerla *et al.*, 2020). Penggunaan *edible film* dari bubuk kulit apel terbukti dapat menghambat oksidasi lemak karena adanya senyawa polifenol dalam bubuk kulit apel. Senyawa fenolik dapat mencegah oksidasi lemak dengan memerangkap oksigen (O<sub>2</sub>) atau radikal hidroksil (Urbinat *et al.*, 2019). Senyawa fenolik stabil dalam keadaan asam sehingga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dalam *film*. Oksidasi lemak dapat terhambat karena adanya lapisan aktif yang berperan sebagai penghalang untuk mencegah oksidasi mencapai fraksi lemak pada liposom (Shin *et al.*, 2017). Bubuk kulit apel yang digunakan memberikan efek warna kuning kemerahan dan transparan tergantung dari konsentrasi bubuk kulit apel yang digunakan. *Edible film* dapat melindungi makanan yang rentan terhadap sinar UV yang dapat menyebabkan hilangnya nutrisi, perubahan warna, dan *off-flavour* (Sganzerla *et al.*, 2020; Riaz *et al.*, 2018).

*Edible film* yang mengandung senyawa antioksidan dapat berpotensi sebagai *eco-friendly packaging*. Penggunaan *edible film* berbasis kulit apel dapat memperpanjang umur simpan produk makanan serta aman digunakan untuk produk makanan (Matta *et al.*, 2018; Shin *et al.*, 2017). Berikut ini merupakan beberapa instansi yang mempunyai hak paten terhadap produk *edible film* atau coating berbasis limbah apel, meliputi Newgem Foods LLC (GooglePatent, 2012), Givaudan SA (GooglePatent, 2005), dan Hefei Zhonghao New Material (Espacenet, 2018).

#### **4.3.2. Apple Seed Oil**

Industri makanan mulai berfokus dalam mengembangkan produk makanan berkualitas tinggi. Saat ini, berbagai macam minyak nabati mulai diperkenalkan ke pasar makanan secara global seperti minyak apulkat, minyak biji labu, minyak kemiri, dan *apple seed oil*. Beberapa dari minyak tersebut menunjukkan manfaat kesehatan atau sifat sensorik khusus. Umumnya harga minyak nabati lebih mahal apabila dibandingkan dengan minyak goreng biasa, meskipun beberapa diantaranya dihasilkan dari limbah industri makanan, seperti biji apel dan biji anggur (KolanoWsKi, 2019). Karena minyak nabati yang dibuat dari biji non konvensional memiliki

senyawa alami yang berharga seperti asam lemak tak jenuh, pitosterol, dan tokoferol (Górnaś *et al.*, 2014). Limbah biji dari produksi jus apel dikumpulkan kemudian diekstraksi menjadi produk sampingan baru yang berharga. Rata-rata kandungan minyak pada biji apel berkisar antara 15-22%, namun angka tertingginya bisa mencapai 29,4% (Montañés *et al.*, 2018). komposisi asam lemak pada biji apel disajikan pada Tabel 12:

Tabel 12. Komposisi Asam Lemak *Apple Seed Oil*

Asam Lemak	Jumlah (%)
Asam palmitat	7,25
Asam stearat	1,72
Asam oleat	46,50
Asam linoleat	43,81
Asam arakidik	0,72

Sumber : (Walia *et al.*, 2014)

Dari data Tabel 11., diatas dapat diketahui bahwa asam lionelat dan asam oleat memiliki komposisi terbanyak dibandingkan dengan asam lemak lainnya. Kandungan asam oleat pada *apple seed oil* mencapai angka 46,5%. Sedangkan kandungan asam linoleat adalah 43,81%. Asam lemak oleat dan linoleat termasuk dalam kategori asam lemak tidak jenuh. Tingginya presentase asam lemak tidak jenuh dalam biji apel dapat diaplikasikan sebagai bahan makanan diet dan minyak nabati yang memiliki efek positif dalam menurunkan LDL kolesterol dan mengurangi resiko penyakit jantung (Yu *et al.*, 2007). Asam lemak palmitat, stearat, dan arakidik memiliki jumlah yang relatif kecil apabila dibandingkan dengan asam oleat dan linoleat. Asam stearat memiliki kandungan paling sedikit dalam *apple seed oil* yaitu hanya 1,72%. Asam lemak palmitat, stearat, dan arakidik termasuk dalam kategori asam lemak jenuh. Tingginya kandungan asam lemak tidak jenuh ( $\pm 90\%$ ) membuat *apple seed oil* cocok menjadi bahan makanan diet.

Tokoferol dan tokotrienol adalah antioksidan yang larut dalam lemak. Tokoferol terbagi menjadi 4 isomer yaitu  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , and  $\delta$ . Pada umumnya,  $\alpha$  tokoferol lebih dikenal dengan sebutan vitamin E (Arain *et al.*, 2012; Da Silva & Jorge, 2017). Biji apel diperkaya akan kandungan tokoferol yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber vitamin E. Pada penelitian yang dilakukan oleh Da Silva & Jorge (2017),  $\alpha$ - dan  $\gamma$ -tokoferol berperan sebagai pelindung saat proses oksidasi lemak. Tokoferol berperan sebagai antioksidan utama dalam *apple seed oil* karena

menyumbangkan satu atom hidrogennya ke radikal peroksida yang mengganggu proses oksidatif. Beberapa faktor abiotik yang mempengaruhi biosintesis *lipid* pada biji apel adalah suhu, ketersediaan air, paparan sinar matahari, dan hortikula (Fromm *et al.*, 2012).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Radenkovs *et al.* (2018), terdapat 5 jenis pitosterol yang ditemukan dalam *apple seed oil* yaitu campesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, isofucosterol,  $\Delta^7$ -avenasterol.  $\beta$ -sitosterol merupakan jenis pitosterol yang paling banyak ditemukan pada *apple seed oil* dengan jumlah 82,1-97,5%. Mengonsumsi makanan yang kaya akan kandungan pitosterol dapat mengurangi kadar kolesterol LDL dengan mengurangi penyerapan kolesterol pada usus (Derdemeiz *et al.*, 2010).

Pemanfaatan limbah biji apel sebagai *apple seed oil* dapat dilakukan dengan cara mengekstraksi biji apel. Sebelum diekstraksi, biji apel dikeringkan di bawah sinar matahari lalu digiling menjadi bubuk menggunakan blender/mesin penggiling. Kemudian, bubuk biji apel diekstrak menggunakan Soxhlet dengan pelarut n-hexane pada suhu 60-65 °C selama 5-6 jam. Lalu, *apple seed oil* disimpan pada suhu 4 °C sebelum dianalisis (Walia *et al.*, 2014; Anang *et al.*, 2019). Hal serupa dilakukan dalam penelitian Yukui *et al.* (2009), namun menggunakan pelarut berbeda yaitu petroleum eter.

Montañés *et al.* (2018), melakukan penelitian dengan metode *Supercritical Fluid Extraction* (SFE). Mesin ekstraksi terdiri dari 2 pompa ISCO yang dapat menyediakan pasokan CO<sub>2</sub> bertekanan tinggi secara terus-menerus. Kemudian CO<sub>2</sub> superkritis masuk ke bejana yang berisi bubuk biji apel dan dikontrol suhunya. Setelah itu, CO<sub>2</sub> dan ekstrak terlarut didepresurisasi melalui *micro metering valve* yang terhubung dengan *separation vessel* pada suhu 313 K. Ekstrak diambil secara manual dari separator vessel melalui katup di bagian bawah. CO<sub>2</sub> pada *cylinder pressure* didaur ulang kembali ke *syringe pumps* melewati *flow meter dan kondesor*. Laju aliran CO<sub>2</sub> berkisar antara 6 dan 10 mL CO<sub>2</sub>/menit dan ekstraksi berlangsung selama 300 menit. Suhu pada *extraction* dan *separation vessels* dikontrol menggunakan aliran air yang dikendalikan oleh *waterbath heater*. *Glycol chiller* digunakan untuk memadatkan dan mendinginkan CO<sub>2</sub> yang didaur ulang.

Komposisi minyak didominasi oleh asam lemak tidak jenuh. Minyak tidak dapat larut dalam air, namun dapat larut dalam pelarut non polar atau pelarut organik. Pelarut non polar meliputi

n-hexana, kloroform, alkohol, dan eter (Oliveira *et al.*, 2019). Berdasarkan artikel jurnal penelitian yang ditemukan, n-hexana merupakan salah satu pelarut yang sering digunakan untuk ekstraksi minyak pada biji. Hal ini dikarenakan n-hexana memiliki sifat non polar, murah, dapat didaur ulang, menguap pada suhu panas rendah, dan titik didih rendah (63-67°) (Kumar *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2014).

Menurut Zarrinmehr *et al.* (2022), Campuran pelarut kloroform dan metanol dapat mengekstrak lemak polar dan non polar sehingga dapat meningkatkan jumlah asam lemak yang terekstrak. Ekstraksi yang dilakukan pada suhu terlalu tinggi dapat menyebabkan degradasi asam lemak volatil seperti asam oleat (Yukui *et al.*, 2009). Semakin lama waktu ekstraksi dengan *ultrasonic bath*, semakin banyak juga jumlah asam lemak yang dapat terekstraksi karena asam lemak yang terikat pada sel dapat dilepaskan dapat meningkatkan jumlah asam lemak yang terekstraksi karena asam lemak yang terikat pada sel dapat dilepaskan (Zarrinmehr *et al.*, 2022). Etanol memiliki 2 gugus fungsi yaitu gugus OH (hidroksil) yang bersifat polar dan juga etil yang bersifat non polar. Etanol dapat mengekstrak senyawa *lipid* polar seperti *fosfolipid* daripada n-heksana. Penggunaan etanol dapat digunakan untuk fraksinasi *fosfolipid* dari matriks padat (Baümler *et al.*, 2016).

Penggunaan teknik seperti *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) digunakan untuk memperoleh minyak murni (Montañés *et al.*, 2018). Perbedaan suhu dan tekanan pada metode *supercritical extraction* untuk ekstraksi *apple seed oil* menimbulkan efek pada jumlah  $\delta$ -tocopherol. Suhu tinggi dapat mengurangi jumlah tokoferol kecuali  $\delta$ -tocopherol, hal ini dikarenakan  $\delta$ -tocopherol lebih stabil dan mudah diekstrak pada suhu yang tinggi. Sedangkan, penggunaan tekanan tinggi dapat meningkatkan jumlah  $\delta$ -tocopherol hingga 60% dari total tokoferol. Tekanan tinggi dapat melindungi dan membantu stabilitas tokoferol terhadap suhu yang lebih tinggi. Ekstraksi pada tekanan 1300 bar dan suhu 316 K menghasilkan kandungan tokoferol terbaik yang mencapai 191 g ekstrak/kg CO<sub>2</sub> tanpa terjadinya perubahan profil *lipid* dari ekstraksi minyak. *Apple seed oil* dapat dimanfaatkan sebagai produk makanan nabati yang kaya akan kandungan tokoferol (Montañés *et al.*, 2018).

Berdasarkan artikel jurnal penelitian yang ditemukan, *apple seed oil* memiliki potensi yang baik sebagai bahan makanan diet karena tingginya presentase asam lemak tak jenuh yang mencapai  $\pm 90\%$ . Kandungan asam linolenat pada *apple seed oil* dapat mencapai 58-60%,

sedangkan asam oleat mencapai 27,5-30% sehingga membuatnya sangat tidak jenuh. *Apple seed oil* memiliki karakter fisik berwarna kekuning-kuningan (Walia *et al.*, 2014). Jumlah asam lemak bebas pada *apple seed oil* tergolong rendah yaitu 3,16 mg/KOH/g. Hal ini merupakan salah satu keuntungan yang dimiliki oleh *apple seed oil*, karena jumlah asam lemak bebas yang rendah dapat mencegah terjadinya hidrolisis enzimatis sehingga senyawa *flavor* pada minyak dapat terjaga selama proses penyimpanan (Anang *et al.*, 2019).

#### 4.3.3. Ekstrak Antioksidan

Selama 20 tahun terakhir, peneliti mengungkapkan bahwa limbah makanan seperti buah-buahan dan sayuran dapat berfungsi sebagai sumber senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan, vitamin, dan serat. Beberapa penelitian menunjukkan beberapa kemungkinan efek buruk dari konsumsi antioksidan sintetis. Oleh karena itu, ekstraksi senyawa antioksidan dari sumber daya alam dapat dimanfaatkan sebagai pengganti antioksidan sintetis. Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menangkal radikal bebas dalam tubuh. Antioksidan dapat berupa polifenol, karotenoid, vitamin, *dietary glutathione*, dan beberapa endogen metabolit (Blidi *et al.*, 2015; Casazza *et al.*, 2020).

Pemanfaatan antioksidan dapat dijadikan sebagai makanan diet, suplemen, obat-obatan, makanan fungsional dan kosmetik (Blidi *et al.*, 2015; Wijngaard & Brunton, 2010). Selain itu, antioksidan juga memiliki sifat antimikroba yang dapat ditambahkan pada produk roti untuk memperpanjang umur simpan atau mencegah oksidasi *lipid* pada minyak zaitun (Ferrentino *et al.*, 2018). Senyawa fenolik dapat menghambat kerusakan DNA dalam tubuh karena memiliki sifat antioksidan yang kuat. Mengonsumsi senyawa fenolik limbah apel dapat mengurangi resiko terkena penyakit kanker usus besar karena sel-sel pada usus besar dapat terlindungi (Mc Cann *et al.*, 2007).

Pemanfaatan ekstrak limbah apel sebagai antioksidan dapat dilakukan dengan mengekstrak senyawa fenolik kulit apel dengan metode *Microwave Assisted Extractions*. Kulit apel dikeringkan pada suhu 45 °C selama 3 hari kemudian digiling dan diayak. Ekstraksi dilakukan di bejana tertutup pada *laboratory microwave multimodal oven* yang dilengkapi dengan sensor pengontrol suhu otomatis. Ekstraksi kulit apel kering dilakukan dengan pelarut etanol. Sebelum ekstraksi, nitrogen di dalam bejana digelembungkan untuk memberikan efek *inert atmosphere* yang dapat mencegah terjadinya degradasi. Setelah ekstraksi, fase padat yang diperoleh

dikeringkan pada suhu 110 °C selama 24 jam. Kemudian dilakukan sentrifugasi selama 10 menit. Setelah itu, supernatan yang diperoleh disimpan untuk dianalisis (Casaszza *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tow *et al.* (2011), antioksidan pada kulit apel diambil dengan cara ekstraksi Soxhlet. Kulit apel dikeringkan menggunakan metode *freeze-dried* lalu digiling hingga menjadi bubuk menggunakan cawan porselen dan mortar. Setelah itu, bubuk kulit apel diekstraksi dengan etanol. Campuran tersebut disentrifugasi pada selama 20 menit pada suhu ruang kemudian diambil supernatannya. Metode serupa juga dilakukan oleh Ferrentino *et al.* (2018). Withouck *et al.*, (2019) mengekstraksi senyawa antioksidan dengan metode *Ultrasound-assisted Extraction* (UAE) dengan mencampur limbah apel yang sudah digiling dengan pelarut dalam bejana reaktif. Proses ekstraksi dilakukan pada suhu  $60 \pm 3$  °C selama 30 menit. Setelah itu, ekstrak disentrifugasi dan disaring untuk dianalisis.

Ekstraksi senyawa fenolik pada penelitian Ferrentino *et al.* (2018) dilakukan dengan metode *Supercritical Fluid Extraction* yang menggunakan CO<sub>2</sub> sebagai pelarut pada suhu 45 dan 55 °C serta tekanan 20 dan 30 MPa. Proses ekstraksi dimulai dengan meletakkan bubuk *apple pomace* kering di dalam bejana. Ekstraksi dilakukan selama 120 menit. Selama 60 menit pertama, dilakukan metode ekstraksi statis dengan memaparkan sampel secara langsung pada CO<sub>2</sub> dengan kondisi suhu dan tekanan yang sudah ditentukan. Setelah itu, dilakukan ekstraksi dinamis dengan membilas CO<sub>2</sub> selama 60 menit. Laju aliran CO<sub>2</sub> ditetapkan pada 2 liter/jam untuk semua kondisi ekstraksi. Laju aliran rendah ini bertujuan supaya bubuk *apple pomace* kering dapat kontak langsung dengan CO<sub>2</sub> dalam waktu yang lama. Pada akhir waktu ekstraksi, ekstrak dikumpulkan dalam labu dan ditimbang menggunakan neraca analitik. Kemudian, labu dicuci dengan 25 mL etanol untuk meminimalkan kehilangan ekstrak dan memulihkan semua residu yang diekstraksi dari *apple pomace*.

Gulsunoglu *et al.* (2020) melakukan penelitian dengan modifikasi biokimia oleh mikroorganisme untuk meningkatkan ekstraksi senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan. Modifikasi dilakukan dengan menumbuhkan kapang pada suhu 30 °C selama 3-5 hari, kemudian spora yang terbentuk dikumpulkan di dalam air suling. Suspensi spora disentrifugasi dan dicuci. Spora dihitung menggunakan *Thoma slide* dan konsentrasinya diatur menjadi 10<sup>7</sup> spora/mL. Setelah itu, bubuk kulit apel yang sudah dikeringkan dengan *freeze dried* dicampur dengan aquades steril dalam labu *Erlenmeyer* sebagai media fermentasi. Larutan garam pekat

seperti  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  ditambahkan ke dalam air sebelum dicampur karena mineral yang cukup diperlukan untuk pertumbuhan jamur. Suspensi spora diinokulasi dalam labu *Erlenmeyer* dan diinkubasi pada suhu  $30\text{ }^\circ\text{C}$  selama 7 hari. Setelah itu, labu *Erlenmeyer* diambil dan isinya dikeringkan dalam *freeze dried* selama 18 jam. Kemudian sampel kering digiling dan disimpan pada suhu  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  untuk analisis lebih lanjut.

*Apple pomace* digunakan sebagai substrat alami untuk *solid-state fermentation* pada penelitian Ajila *et al.* (2012). Mikroorganisme strain *P. chrysosporium* (ATCC 24275) dipilih sebagai organisme yang cocok untuk bio *solid state fermentasi* karena berpotensi memproduksi enzim dalam jumlah yang tinggi. Kultur *P. chrysosporium* ditumbuhkan pada cawan petri dan diinkubasi pada suhu  $37 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ . Spora di panen dari plat dan diinokulasi dalam air suling steril dalam tabung reaksi kemudian disimpan didalam *freezer*. *Solid-state fermentation* dilakukan pada *tray fermentor* dalam bioreaktor. Sebanyak 0,5 kg *apple pomace* steril dipindahkan ke dalam nampan dalam kondisi aseptik. Fermentasi dilakukan selama 10 hari di ruangan bersuhu  $37\text{ }^\circ\text{C}$  dan kelembapan antara 72-74%. Ekstraksi senyawa polifenol dilakukan dengan 80% aseton atau 80% etanol pada *ultrasonication bath* selama 30 menit pada suhu  $40 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ . Campuran larutan disentrifugasi, lalu supernatan dikumpulkan untuk dianalisis lebih lanjut.

Flavonoid adalah senyawa yang bersifat polar sehingga larut pada pelarut polar. Pelarut polar meliputi mentanol, etanol, butanol, aseton, dan air (Zhu *et al.*, 2020). Semakin lama waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi, maka kuantitas bahan yang terekstrak juga semakin banyak. Hal ini dapat terjadi karena kontak antara pelarut dan bahan semakin besar. Tetapi waktu ekstraksi yang terlalu lama atau melewati batas waktu optimum ( $>80^\circ\text{C}$ ) menyebabkan pecahnya dinding sel pada bahan sehingga berpotensi terjadinya degradasi zat terlarut dan hilangnya senyawa pada larutan karena adanya penguapan (Mokrani & Madani, 2016; Che *et al.*, 2017). Ekstraksi pada suhu diatas  $50\text{ }^\circ\text{C}$  dengan metode *Supercritical Fluid Extraction* dapat menyebabkan penurunan kandungan senyawa polifenol (Ferrentino *et al.*, 2018). Pada penelitian yang dilakukan oleh Withouck *et al.*, (2019), total fenolik yang ditemukan dengan metode ekstraksi Soxhlet berjumlah  $28,5 \pm 1,3\text{ mg GAE/g DM}$ . Sedangkan, ekstraksi dengan metode MAE menghasilkan kandungan fenolik sebesar  $50,4 \pm 1,3\text{ mg mgGAE/gDB}$  (Casazza *et al.*, 2020).

Penggunaan pelarut *food grade* seperti etanol, air, dan aseton dibutuhkan sebagai media ekstraksi (Wijngaard & Brunton, 2010). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Wijngaard & Brunton (2010) dan Massias *et al.* (2015), asam klorogenat, flavonol, dan floretin glikosida merupakan kelompok polifenol utama yang dapat diekstraksi menggunakan aseton, metanol, dan etanol. Sedangkan, katekin, *procyanidins*, dan asam sinamat hanya ditemukan dalam jumlah yang kecil. Ferrentino *et al.* (2018), juga mengatakan bahwa etanol efektif dalam melarutkan senyawa polifenol seperti katekin, epikatekin, dan *quercetin*. Asam klorogenat banyak ditemukan karena memiliki molekul yang lebih polar dibandingkan dengan *quercetin* glikosida dan floretin glikosida (Wijngaard & Brunton, 2010). Polaritas suatu larutan berperan penting dalam ekstraksi senyawa polifenol. Etanol bersifat lebih polar dari aseton. Namun, jumlah hasil ekstraksi senyawa antioksidan baik menggunakan etanol atau aseton tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (Ajila *et al.*, 2012; Withouck *et al.*, 2019; Wijngaard & Brunton, 2010).

Ekstraksi dengan menggunakan *green solvent* seperti larutan etanol terbukti dapat meningkatkan kandungan antioksidan yang terekstrak dan bersifat ramah lingkungan (Blidi *et al.*, 2015; Casasza *et al.*, 2020). Etanol memiliki afinitas yang besar untuk aktivitas antioksidan (Ferrentino *et al.*, 2018). Penggunaan 50% etanol sebagai pelarut dapat menghasilkan polifenol dalam jumlah yang tinggi yaitu  $229,72 \pm 2,33$  polifenol GAE/g limbah kulit apel. Pelarut etanol terbukti efektif dalam mengekstraksi kandungan polifenol dalam limbah apel serta harganya yang terjangkau sehingga sering digunakan (Tow *et al.*, 2011; Withouck *et al.*, 2019). Salah satu keuntungan menggunakan aseton sebagai pelarut adalah suhu ekstraksinya optimal pada 25 °C, angka ini lebih rendah jika dibandingkan dengan etanol yang optimal pada suhu 80 °C. Karena titik didih aseton lebih rendah dari etanol maka dibutuhkan energi yang lebih sedikit untuk menguapkan aseton sehingga dapat menghemat biaya energi (Wijngaard & Brunton, 2010).

*Solid State Fermentation* (SSF) terbukti sangat cocok untuk produksi enzim oleh jamur berfilamen. Limbah agroindustri dianggap sebagai substrat terbaik untuk proses SSF karena kaya kandungan gula sehingga dapat mendorong pertumbuhan jamur yang lebih baik. Konsentrasi masing-masing senyawa fenolik dapat menunjukkan tinggi atau rendahnya aktivitas antioksidan tergantung dari jumlah gugus OH dalam strukturnya. Sebagian besar senyawa fenolik berikatan dengan gula (glukosa, rhamnosa, dan rutinosa) serta senyawa lain

seperti lemak, asam karboksilat, dan asam organik yang dapat mengurangi aktivitas antioksidan (Ajila *et al.*, 2012; Gulsunoglu *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil dari penelitian yang dilakukan oleh Ajila *et al.* (2012) dan Gulsunoglu *et al.* (2020), melaporkan bahwa fermentasi dengan *Aspergillus* spp. seperti *A.niger* ZDM2 dan *A. Tubingensis* serta Mikroorganisme Strain *P. chrysosporium* (ATCC 24275) dapat meningkatkan kandungan fenolik dan flavonoid. Selama proses fermentasi, kapang menghasilkan enzim selulase, pektinase,  $\beta$ -glukosidase, naringinase,  $\alpha$ -rhamnosidase, dan hesperidinase yang menghidrolisis senyawa fenolik terikat menjadi senyawa fenolik bebas yang lebih aktif secara biologis (Ajila *et al.*, 2012; Gulsunoglu *et al.* 2020). Penggunaan *tray fermentor* juga memungkinkan terjadinya transfer oksigen yang dapat meningkatkan viabilitas organisme saat fermentasi. Hal ini menyebabkan peningkatan produksi enzim sehingga jumlah senyawa polifenol yang terekstrak juga semakin banyak (Ajila *et al.*, 2012).

Beberapa penelitian menyatakan bahwa teknologi ekstraksi non konvensional ramah lingkungan seperti *Microwave Assisted Extractions*, *Ultrasonic Assited Extraction*, dan *Supercritical Fluid Extraction* dapat menghindari penggunaan suhu tinggi dan pelarut beracun (Casaszza *et al.*, 2020). *Supercritical Fluid Extraction* membutuhkan CO<sub>2</sub> sebagai pelarut. Karbondioksida (CO<sub>2</sub>) merupakan pelarut non polar sehingga tidak efektif untuk melarutkan polifenol polar. Oleh karena itu, perlu ditambahkan pelarut organik seperti etanol, aseton, dan metanol untuk meningkatkan daya pelarut CO<sub>2</sub> (Ferrentino *et al.*, 2018).

Penambahan air pada pelarut organik seperti aseton, metanol, dan etanol juga dapat meningkatkan kepolaran pelarut sehingga jumlah senyawa fenolik yang teresktrak dapat meningkat (Withouck *et al.*, 2019). Teknologi *Ultrasonic Assited Extraction* (UEA) dapat mengesktrak senyawa polifenol dari limbah apel serta menghasilkan ekstrak yang bersifat antioksidatif sehingga dapat dimanfaatkan untuk industri makanan. UAE dapat meminimalkan jumlah pelarut yang digunakan dan memaksimalkan jumlah polifenol yang didapat (Withouck *et al.*, 2019; Egüés *et al.*, 2021).

Penambahan antioksidan pada minyak goreng dapat meningkatkan stabilitas oksidatif minyak (Yalcin *et al.*, 2011). Antioksidan dapat memperlambat proses oksidatif degradasi asam linoleat dan  $\alpha$ -linolenat sehingga meningkatkan umur simpan minyak. Manzoor *et al.* (2022)

mengatakan bahwa minyak goreng dengan substitusi antioksidan alami lebih baik dibandingkan sintetik. Antioksidan sintetik dapat kehilangan fungsinya jika terkena suhu tinggi dan distilasi uap sehingga tidak dapat menghambat oksidasi saat menggoreng. Penggunaan antioksidan alami dapat mengurangi pembentukan asam lemak bebas selama penyimpanan (Yalcin *et al.*, 2011). Substitusi antioksidan pada minyak goreng dapat meningkatkan penampilan dan rasa kentang goreng.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Heidarisafar *et al.* (2016), *heat stress* mengakibatkan stres oksidatif pada ayam, hal ini dapat menurunkan kualitas ayam dan melemahkan sistem kekebalannya. Adanya penambahan antioksidan pada diet ayam dapat meningkatkan konsentrasi HDL dan menurunkan kolesterol LDL sehingga peroksidasi *lipid* yang dihasilkan lebih rendah. Senyawa antioksidan mampu melindungi LDL dari stres oksidatif sehingga meningkatkan ketahannya terhadap kerusakan yang disebabkan oleh oksidan. Saat ini, ditemukan beberapa instansi berhak paten yang mengekstraksi senyawa antioksidan dari limbah apel. Menurut Google Patent (2007), Silver Palate Kitchens menambahkan antioksidan dari *apple pomace* ke dalam produk makanan dan minuman untuk meningkatkan kandungan antioksidan dan memperpanjang umur simpan produk. Senyawa antioksidan limbah apel juga diekstraksi oleh Shanxi Zeyuan Food Co Ltd. dan Jianxi Kenaier Agricultural Products Co Ltd. (Espacenet, 2016&2017).

#### **4.4. Tantangan**

Industri berbasis agro, khususnya industri pengolahan apel setiap tahunnya mengalami lonjakan pertumbuhan. Peningkatan besar dalam pengolahan buah ini telah menghasilkan jutaan ton limbah industri pertanian di seluruh dunia. Pada tahun 2008-2009, produksi apel di seluruh dunia melebihi 90.603.640 ton. Hal ini menyebabkan beberapa juta ton limbah selama pemrosesan produk apel seperti jus apel, jeli, dan sari buah apel. Pembuangan langsung limbah apel ini merupakan penyebab utama pencemaran lingkungan dan juga hilangnya biomassa yang dapat digunakan untuk produksi berbagai produk bernilai tinggi. Saat ini, terdapat tren global mengenai pemanfaatan sumber daya alam yang efisien. Limbah ini merupakan isu terpenting dalam agro dan industri pengolahan pangan. Teknologi yang digunakan untuk pengolahan limbah dan aspek keamanan pangan merupakan tantangan dalam melakukan valorisasi limbah apel (Dhillon *et al.*, 2013).

Teknologi yang digunakan untuk proses valorisasi limbah apel menjadi salah satu tantangan dalam proses pengolahan karena menggunakan metode konvensional seperti ekstraksi Soxhlet. Secara singkat, ekstraksi Soxhlet melibatkan sejumlah sampel kering yang diletakkan pada peralatan yang dilalui pelarut. Proses tersebut dilakukan berulang kali hingga ekstraksi selesai (Soquetta *et al.*, 2018). Sampel diekstraksi pada titik didih pelarut dalam waktu lama yang dapat menyebabkan resiko dekomposisi senyawa (De Castro & Priego, 2010; Shams *et al.*, 2015; Heleno *et al.*, 2016). Teknik ekstraksi konvensional sering menggunakan pelarut organik dalam jumlah banyak seperti metanol, eter, dan aseton (Rodríguez *et al.*, 2015; Heleno *et al.*, 2016). Kebanyakan pelarut organik memiliki sifat toksik, mudah menguap, dan mudah terbakar sehingga menyebabkan pencemaran lingkungan dan efek rumah kaca (Chemat *et al.*, 2012). Selain itu, dikatakan bahwa metode ekstraksi konvensional dengan Soxhlet hanya menghasilkan minyak yang berkisar antara 10-17%.

Tantangan dari segi aspek keamanan pangan berasal dari bahan baku limbah biji apel. Biji apel mengandung senyawa sianogen seperti *amygdalin* dan prunasin (Montañés *et al.*, 2018). Umumnya manusia tidak mengonsumsi biji apel. Namun, jus apel umumnya dihasilkan dari apel utuh termasuk bijinya. Biji apel hancur selama produksi juga dan dapat mencemari jus. Glikosida sianogenik seperti *amygdalin*, secara alami merupakan racun tanaman. Sebanyak 2500 spesies tanaman mengandung senyawa beracun tersebut.

Glikosida sianogenik terdapat dalam tanaman pangan yang penting secara ekonomi seperti apel, *almond*, sereal, singkong, talas, sorgum, dan berbagai kacang-kacangan. Glikosida sianogenik tersimpan dalam vakuola di dalam sel tumbuhan. Ketika jaringan terganggu, misalnya dengan proses penghancuran, glikosida sianogenik akan kontak langsung dengan enzim endogen ( $\beta$ -glukosidase dan  $\alpha$ -hidroksinitriliase) sehingga melepaskan hidrogen sianida. Pada tanaman, glikosida sianogenik berfungsi sebagai senyawa pertahanan kimia terhadap hewan herbivora. Sedangkan pada manusia, konsumsi tanaman yang mengandung sianogen dapat menimbulkan gejala seperti sakit kepala, rasa cemas, kebingungan, dan pusing. Keracunan sianida dapat mengakibatkan kehilangan kesadaran, hipotensi, kelumpuhan, koma, dan bahkan kematian (Bolarinwa *et al.*, 2015).

#### 4.5. Peluang

Ekstraksi konvensional menggunakan Soxhlet merupakan metode yang baik untuk mendapatkan senyawa polifenol (Ferrentino *et al.*, 2018; Withouck *et al.*, 2019). Namun, ekstraksi Soxhlet mempunyai beberapa kelemahan seperti diperlukannya pelarut dalam jumlah yang tinggi, waktu yang dibutuhkan lama, dan adanya kemungkinan terjadi degradasi senyawa target. Dalam beberapa tahun terakhir, *green technology* menjadi inovasi untuk pemulihan senyawa berharga seperti antioksidan dari limbah makanan. *Green technology* mencakup *Supercritical Fluid Extraction* (SFE), *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dan *Microwave Assisted Extraction* (MAE). Penggunaan *green technology* dapat mengatasi beberapa kelemahan ekstraksi konvensional seperti mempersingkat waktu pemrosesan, mempercepat panas, mengendalikan reaksi Maillard, serta meningkatkan kualitas (Ferrentino *et al.*, 2018).

Banyak penelitian telah membahas penggunaan *green technology* untuk pengolahan makanan. *Green extraction* didasarkan pada teknologi ekstraksi yang dapat mengurangi konsumsi energi, memungkinkan penggunaan pelarut alternatif (*green solvent*), meningkatkan perpindahan massa dan panas, serta menghasilkan ekstrak/produk yang aman dan berkualitas (Singh *et al.*, 2011; Chemat *et al.*, 2012; Jacotet *et al.*, 2016). *Green solvent* meliputi air, 2-metil tetrahydrofuran, etanol, etil asetat, cyclopentil metil eter, karbondioksida, 2-dimetil karbonat, dan trepena (Prasat *et al.*, 2022). Diantara *green solvent*, *biosolvent* berperan sebagai pengganti pelarut petrokimia. *Biosolvent* merupakan sumber daya baru yang dihasilkan dari biomassa seperti kayu, pati, minyak sayur atau buah-buahan. Pelarut ini memiliki daya pelarut yang tinggi, *biodegradable*, tidak beracun, dan tidak mudah terbakar. Etanol adalah salah satu *biosolvent* yang paling sering digunakan dan diperoleh dari fermentasi bahan kaya gula seperti gula bit dan sereal. Etanol digunakan dalam skala besar karena mudah didapat dalam kemurnian tinggi, harganya murah, dan dapat terurai secara alami (Chemat *et al.*, 2012).

Terdapat beberapa teknik pengeringan yang dilakukan oleh peneliti untuk *pre-treatment* seperti *oven-drying* dan *freeze drying*. Pengeringan dengan oven menghasilkan total kandungan fenolik yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan *freeze drying*. *Oven drying* menggunakan suhu tinggi yang menyebabkan degradasi pada senyawa fenolik serta adanya resiko terkena paparan oksigen yang dapat mempengaruhi komposisi kimia produk yang dihasilkan. Namun demikian, proses pengeringan oven sering digunakan karena biayanya yang lebih murah apabila dibandingkan dengan *freeze drying* (Rana *et al.*, 2015; Withouck *et al.*, 2019). Metode

*freeze drying* dapat mengurangi volume produk sehingga memudahkan sampel untuk disimpan. Metode pengawetan ini dianggap sebagai yang terbaik karena menghasilkan produk kering berkualitas tinggi (Withouck *et al.*, 2019). Pengeringan dengan metode *freeze drying* dapat mempertahankan atribut sensorik dan menghasilkan kandungan total fenolik, dan aktivitas antioksidan dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan pengeringan menggunakan oven. Oleh karena itu, dapat dipastikan bahwa pengeringan menggunakan *freeze drying* dapat meminimalkan kerusakan pada senyawa karena menggunakan suhu yang lebih rendah (Ferrentino *et al.*, 2018). Penggunaan partikel halus (100  $\mu\text{m}$ -2mm) dapat meningkatkan interaksi antara bahan dan pelarut karena luas permukaan yang lebih tinggi (Carpentieri *et al.*, 2021).

*Supercritical Fluid Extraction* (SFE) merupakan teknik ekstraksi menggunakan gas terkompresi pada suhu (30-40 °C) dan tekanan (300 MPa) dengan pelarut CO<sub>2</sub> superkritis untuk menggantikan pelarut organik seperti heksana. Teknik ini digunakan untuk mengekstraksi senyawa non polar dan polar lemah dengan berat molekul rendah seperti trigiliserida, asam lemak, aroma, dan karotenoid (Da Silva *et al.*, 2016; Panzella *et al.*, 2020). Namun, ekstraksi senyawa polar seperti flavonoid juga dapat dilakukan dengan menambahkan pelarut seperti etanol, air, metanol, dan aseton (Herrero *et al.*, 2013).

*Supercritical Fluid Extraction* (SFE) merupakan salah satu metode ekstraksi yang menggunakan karbondioksida (CO<sub>2</sub>) padat sebagai pelarutnya. CO<sub>2</sub> memiliki sifat menguntungkan seperti tidak berwarna, tidak berbau, tidak beracun, tidak mudah terbakar, aman, murah, sangat murni, memiliki suhu kritis rendah (T<sub>c</sub>=31,1 °C), serta mudah dihilangkan setelah proses ekstraksi (Ferrentino *et al.*, 2018; Carpentieri *et al.*, 2021). CO<sub>2</sub> yang digunakan dapat dihilangkan dengan mudah serta dapat didaur ulang sehingga dapat mengurangi biaya pelarut (Panzella *et al.*, 2020). Keuntungan dari metode ini adalah mudah, cepat, senyawa yang dipulihkan lebih stabil, serta menghemat waktu dan energi yang digunakan. Selain itu, suhu selama proses ekstraksi dapat diatur untuk menghindari terjadinya degradasi senyawa. Namun, teknik ini diperlukan investasi awal yang tinggi dan adanya resiko kehilangan senyawa volatil (Carpentieri *et al.*, 2021).

Metode *Ultra-High Pressure Supercritical Fluid Extraction* (UHSFE) juga dapat digunakan sebagai opsi untuk produksi minyak yang baik dan berpusat pada tokoferol. UHSFE

menggunakan tekanan antara 1500-2500 bar. Pada metode ini, CO<sub>2</sub> keluar dari biji saat tekanan dilepaskan sehingga biji menjadi hancur. Tetapi umumnya metode ini tidak dipertimbangkan karena biaya peralatannya yang tinggi dan berkaitan dengan masalah keamanan (Montañés *et al.*, 2018).

Ekstraksi dengan gelombang ultrasonik telah menarik perhatian karena sifatnya yang ramah lingkungan dan efisien. *Ultrasonic Assited Extraction* dapat diterapkan sebagai alternatif dari teknik tradisional karena dapat meningkatkan produktivitas, jumlah senyawa fenolik (karena meningkatnya kontak antara fase padat dan cair), serta mengurangi biaya operasi ekstraksi (Azwanida, 2015). *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) melibatkan penggunaan gelombang ultrasonik mulai dari 20-120 kHz (Carpentieri *et al.*, 2021). Efek mekanik kavitasi dari ultrasound meningkatkan kontak permukaan antara sampel, pelarut, dan permeabilitas dinding sel sehingga senyawa dapat terekstraksi (Azwanida, 2015).

*Ultrasound* memiliki efek yang dapat mempercepat perpindahan panas dan massa dengan mengganggu dinding sel tanaman, sehingga senyawa target yang dilepaskan semaking banyak (Soquetta *et al.*, 2018). Keuntungan menggunakan *ultrasound* adalah mudah digunakan, fleksibel, dan membutuhkan investasi rendah dibandingkan dengan teknik ekstraksi lainnya. Teknik ini telah digunakan untuk mengesktrak senyawa bioaktif, minyak esensial, protein, pewarna, dan peptida (Tiwari, 2015).

Egüés *et al.* (2021), mengatakan bahwa *Ultrasonic probe* merupakan media tanpa penghalang yang dapat digunakan untuk aplikasi *ultrasound extraction*. *Ultrasonic probe* dapat menghasilkan intensitas ultrasonifikasi 100 kali lebih tinggi daripada *ultrasonic bath*. Hal ini dikarenakan *probe ultrasonic* menghasilkan lebih banyak energi daripada *ultrasound bath* sehingga reaksi kimia lebih cepat dan didapatkan ekstrak komponen yang diinginkan. Pada *ultrasound bath* dibutuhkan air sebagai media transfer supaya gelombang ultrasonik dapat mencapai sampel (Kek *et al.*, 2013). Namun, *probe ultrasonic* hanya dapat digunakan untuk sampel bervolume kecil (Carpentieri *et al.*, 2021).

*Micelle-mediated Extraction* (MME) merupakan metode alternatif lain untuk memperoleh ekstrak yang berkualitas. Dalam proses ekstraksi, larutan surfaktan digunakan sebagai ekstraktan. Dikarenakan nilai *Critical Micelle Concentration* (CMC) rendah maka surfaktan

yang digunakan juga dalam konsentrasi yang sangat rendah, ini merupakan salah satu keunggulan dari MME. Dalam larutan berair, inti misel bersifat hidrofobik dan cangkang misel memiliki gugus polar yang berasal dari senyawa seperti ion karboksilat, sulfonat, sulfat dan amonium atau gugus nonionik hidroksil dan polieter, yang dilarutkan oleh molekul air. Dalam larutan zat hidrofobik, misel terbalik terbentuk (inti misel hidrofilik dan cangkang hidrofobik). Misel ini mampu melarutkan senyawa organik yang terkandung dalam air (Malinowska *et al.*, 2018).

*Ultrasound-assisted micelle-mediated extraction* (UAMME) merupakan pengembangan dari proses *Micelle-mediated Extraction* (MME). Proses ekstraksi bubuk *apple pomace* kering dilakukan dengan UAMME. *Apple pomace* kering diletakkan dalam gelas kimia tertutup dengan pelarut Rokanol B2 1%. Kemudian, diekstraksi dalam *ultrasonic bath* pada suhu 20 °C ( $\pm 1$  °C) selama 30 menit. Suhu pada *ultrasonic bath* diatur dalam keadaan konstan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Malinowska *et al.* (2018), Teknologi UAMME mampu mengesktrak senyawa fenolik 8 kali lebih tinggi dari metode UAE (*Ultrasound Assisted Extraction*) dengan air sebagai pelarut atau 17 kali lebih tinggi jika menggunakan etanol.

Metode UAMME lebih efektif daripada UAE untuk mendapatkan asam klorogenat, *quercetin* dan turunan *arabinofuranoside*, galaktosida, glukosida dan *arabinopyranoside*. Surfaktan adalah molekul amfifilik yang mengandung rantai panjang hidrofobik dan hidrofilik, serta kepala ionik. Saat surfaktan ditambahkan ke pelarut sifat permukaan larutan berubah. Kemudian, molekul-molekul akan membentuk struktur agregat yang disebut misel. Zat aktif yang diinginkan ditempatkan di dalam misel. Adanya gelombang ultrasonik membuat metode UAMME menjadi salah satu teknologi yang efisien dan ramah lingkungan untuk ekstraksi zat aktif.

*Microwave Assisted Extraction* (MAE) memanfaatkan gelombang mikro elektromagnetik dalam rentang 300 MHz hingga 300 GHz dengan dua medan osilasi tegak lurus, seperti medan listrik dan frekuensi medan magnet yang dapat menembus produk, menghasilkan panas di dalam matriks, dan menyebabkan kerusakan dinding sel (Angiolillo *et al.*, 2015; Chuyen *et al.*, 2018). Matriks yang mengandung air dalam jumlah besar lebih efisien menyerap energi

gelombang mikro, sehingga mengalami kenaikan suhu internal yang cepat dan menyebabkan gangguan sel maka dapat meningkatkan ekstraksi senyawa interseluler (Carpentieri *et al.*, 2021).

Gelombang mikro merupakan sumber panas non-kontak yang dapat mempercepat transfer energi, memberikan pemanasan yang lebih efektif, dan mengurangi gradient termal. Kenaikan panas selama paparan gelombang mikro menginduksi kenaikan suhu dan tekanan uap air di dalam sel, yang menyebabkan pembengkakan dinding sel hingga pecah sehingga senyawa intraseluler terlepas (Carpentieri *et al.*, 2021). Beberapa golongan senyawa, seperti antioksidan, pigmen, perasa, minyak atsiri, dan senyawa organik lainnya secara efisien dapat diekstrak menggunakan metode ini (Li *et al.*, 2013). Menurut Leadbeater (2014), penggunaan *microwave* untuk ekstraksi memungkinkan penggunaan suhu yang lebih tinggi dengan mudah, aman, serta mempercepat waktu reaksi; meningkatkan hasil ekstraksi dan kemurniannya apabila dibandingkan dengan metode pemanasan konvensional. Kelemahan dari teknik ini adalah biaya peralatannya yang cukup tinggi (Carpentieri *et al.*, 2021).

Beberapa hal yang perlu dipertimbangkan saat memilih pelarut untuk MAE adalah interaksi pelarut dengan matriks, karakteristik adsorpsi gelombang mikro oleh pelarut, dan kelarutan analit dalam pelarut. Pelarut harus memiliki konstanta dielektrik yang tinggi dan dapat menyerap sejumlah besar energi gelombang mikro. Pelarut seperti etanol, metanol, dan air merupakan pelarut yang cocok digunakan untuk teknik ini (Carpentieri *et al.*, 2021). Etanol atau kombinasinya dengan air merupakan salah satu pelarut yang paling umum digunakan dalam MAE karena memiliki kapasitas yang baik untuk menyerap energi gelombang mikro dan menunjukkan sifat kelarutan yang baik terhadap senyawa fenolik. Penggunaan pelarut dalam jumlah yang tepat dapat menghindari konsumsi energi dan waktu yang berlebihan selama proses ekstraksi. Teknik ini telah digunakan untuk ekstraksi antioksidan, senyawa pewarna, dan minyak esensial (Panzella *et al.*, 2020).

Dari segi keamanan pangan, proses pengolahan seperti penumbukan, penghancuran, penggilingan, perendaman, fermentasi, perebusan, dan pengeringan dapat mengurangi kandungan sianida pada biji apel. Proses pengolahan memungkinkan kontak antara glikosida sianogenik dan enzim endogen yang menyebabkan pemecahan hidrolitik glikosida sianogenik menjadi hidrogen sianida. Hal ini dikarenakan titik didih hidrogen sianida adalah 26 °C sehingga mudah menguap selama pemrosesan makanan. Kandungan *amygdalin* pada jus apel

dapat berkurang sebanyak 7% dalam 10 menit dan 18-19% dalam 20 menit melalui proses pasteurisasi. Pasteurisasi dapat mengurangi aktivitas enzim  $\beta$ -glukosidase endogen dalam apel, karena enzim ini tidak terlalu aktif setelah pasteurisasi (Bolanrinwa *et al.*, 2015). Selain itu, aplikasi pemupukan pada lahan sebelum penanaman apel, dapat menurunkan kadar glikosida sianogenik (Bolanrinwa *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil ekstraksi yang dilakukan oleh Montañés *et al.* (2018), kandungan *amygdalin* dan prunasin pada *apple seed oil* tergolong rendah yaitu 3,247  $\mu\text{g/g}$  dan 0,536  $\mu\text{g/g}$ . Senyawa *amygdalin* dikatakan beracun jika dalam konsentrasi tinggi. *Australia New Zealand Food Standards Code* menetapkan bahwa toksisitas sianida akut bagi manusia dilaporkan antara 0,5 dan 3,5 mg/kg berat badan. Selain itu, menurut *Australia New Zealand Food*, belum ada regulasi mengenai batas aman untuk diet glikosida sianogenik. Namun, batas maksimal kandungan sianida pada minuman beralkohol ditetapkan 1 mg/kg per 1% kandungan alkohol (Montañés *et al.*, 2018). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan *amygdalin* dalam *apple seed oil* tidak menimbulkan masalah kesehatan bagi konsumen apabila dikonsumsi tidak melebihi batas yang sudah ditentukan.

#### **4.6. Tren dan Implikasi**

Zaman ini, konsumsi makanan berbahan dasar alami mulai berkembang. Limbah apel merupakan salah satu bahan yang dapat dimanfaatkan untuk membuat produk makanan alami bernilai tinggi. Limbah buah apel terdiri dari biji, kulit, dan *apple pomace* yang mempunyai banyak senyawa berharga seperti senyawa fenolik, asam organik, dan asam lemak tidak jenuh yang berperan sebagai pencegah penyakit kronis, antikanker, dan antiinflamasi. Senyawa-senyawa ini dapat diambil melalui metode ekstraksi. Limbah apel mengandung senyawa antioksidan tinggi yang dapat ditambahkan ke dalam minyak goreng untuk mengurangi resiko terjadinya oksidasi, sehingga cita rasa makanan yang digoreng dapat ditingkatkan. Penelitian lain juga menyatakan bahwa antioksidan dapat ditambahkan ke daging untuk memperpanjang umur simpan. *Edible film* yang terbuat dari limbah apel juga dikatakan memiliki efek yang baik untuk produk makanan. Beberapa produk yang dibuat dari limbah apel memiliki tanggapan dan karakteristik sensori yang baik karena dapat meningkatkan penampilan dan cita rasa produk.

Senyawa-senyawa berharga dalam limbah apel dapat diambil dengan metode ekstraksi. Metode ekstraksi dibagi menjadi 2 yaitu konvensional dan non konvensional. Umumnya, metode

konvensional lebih sering digunakan daripada non konvensional karena lebih murah dan mudah dilakukan. Namun, ekstraksi konvensional memiliki kelemahan yaitu tidak ramah lingkungan karena menggunakan pelarut organik dalam jumlah banyak dan bersifat toksik. Oleh karena itu, perlu diterapkan ekstraksi non konvensional yaitu *green extraction*. *Green extraction* meliputi MAE, UAE, dan SFE. Metode ini didasarkan pada pemanfaatan teknologi ekstraksi yang dapat menghemat energi dan menghasilkan produk yang aman dan berkualitas. Penggunaan *green solvent* juga didukung dalam *green extraction* sehingga bersifat ramah lingkungan. Oleh karena itu, banyak peneliti yang menggunakan metode ekstraksi non konvensional untuk menggantikan ekstraksi konvensional. Chemat *et al.* (2012) juga mengatakan bahwa SFE sudah diaplikasikan dalam industri pangan.

