

**PEMANFAATAN PEKTIN KULIT JERUK MANIS (*Citrus sinensis* L. Osbeck  
cv. Pacitan) UNTUK OPTIMASI SINTESIS SURFAKTAN MELALUI  
MODIFIKASI HIDROFILIK DALAM MICROWAVE ASSISTED SYSTEM**

**TESIS**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Magister**

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**



**ADITYA WARDANA  
186100100111005**

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2021**



**PEMANFAATAN PEKTIN KULIT JERUK MANIS (*Citrus sinensis* L. Osbeck  
cv. Pacitan) UNTUK OPTIMASI SINTESIS SURFAKTAN MELALUI  
MODIFIKASI HIDROFILIK DALAM MICROWAVE ASSISTED SYSTEM**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh**

**Gelar Magister Teknologi Pertanian Strata Dua (S2)**



**ADITYA WARDANA  
186100100111005**

**FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2021**


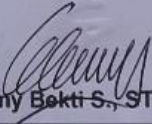
LEMBAR PENGESAHAN

**TESIS**  
**Pemanfaatan Pektin Kulit Jeruk Manis (*Citrus Sinensis* L. Osbeck Cv. Pacitan) Untuk Optimalisasi Sintesis Surfaktan Melalui Modifikasi Hidrofilik Dalam *Microwave Assisted System***

Oleh :  
**Aditya Wardana**

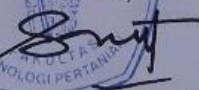
Dipertahankan di depan penguji  
Pada Tanggal **30 April 2021**  
Dan dinyatakan memenuhi syarat

**Komisi Pembimbing,**

|  |   |
|--|---|
| <br><b>Dr. Widya Dwi Rukmi Putri, STP., MP.</b><br>Ketua | <br><b>Wenny Bekti S., STP., M.Food.St., Ph.D.</b><br>Anggota |
|--|---|

\_\_\_\_\_  
Anggota

Malang,  
Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Brawijaya  
Dekan,

  
**Prof. Dr. Ir. Imam Santoso, MP**  
NIP. 19681005 199512 1 001



## PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah TESIS ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah TESIS ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia TESIS ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU No. 20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan pasal 70)

Malang,

Mahasiswa



Nama : ADITYA WARDANA  
NIM : 186100100111005  
PS : TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
PPSFTPUB

## IDENTITAS TIM PENGUJI TESIS

Judul Tesis : Pemanfaatan Pektin Kulit Jeruk Manis Pacitan (*Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Pacitan) Untuk Optimasi Sintesis Surfaktan Melalui Modifikasi Hidrofilik Dalam *Microwave Assisted System*

Nama : Aditya Wardana

NIM : 186100100111005

Program Studi : Teknologi Hasil Pertanian

### KOMISI PEMBIMBING

Ketua : Dr. Widya Dwi Rukmi Putri, STP., MP

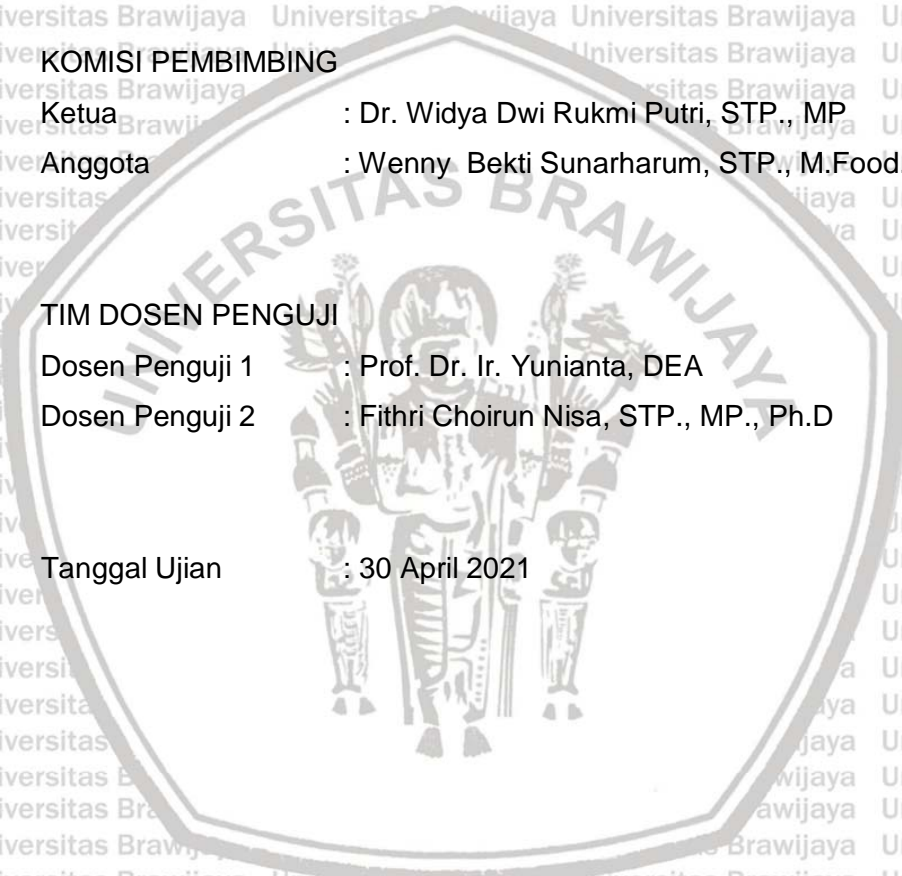
Anggota : Wenny Bekti Sunarharum, STP., M.Food.St., Ph.D

### TIM DOSEN PENGUJI

Dosen Penguji 1 : Prof. Dr. Ir. Yunianta, DEA

Dosen Penguji 2 : Fithri Choirun Nisa, STP., MP., Ph.D

Tanggal Ujian : 30 April 2021



## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Ponorogo pada tanggal 23 November 1987. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara pasangan Bapak R. Bambang Priyanto dan Ibu Rawati. Saat ini penulis beralamat di Desa Tambakmas RT. 42 RW. 04 Kecamatan Kebonsari Kabupaten Madiun.

Penulis memulai pendidikan formal di TK Berdikari pada tahun 1992, melanjutkan ke tingkat sekolah dasar SDN Gebang 01 dan lulus pada tahun 2000, kemudian melanjutkan ke tingkat sekolah menengah pertama di SMPN 7 Jember dan lulus pada tahun 2003 dan menyelesaikan pendidikan sekolah menengah atas di SMAN 4 Jember pada tahun 2006. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan sarjana di Jurusan Manajemen Agribisnis, Program Studi Manajemen Agroindustri, Konsentrasi Pengendalian Mutu Agroindustri, Politeknik Negeri Jember, Jawa Timur. Pada tahun 2018 penulis melanjutkan pendidikan magister pasca sarjana di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur.



Aditya Wardana. 186100100111005. Pemanfaatan Pektin Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Pacitan) untuk Optimasi Sintesis Surfaktan melalui Modifikasi Hidrofilik dalam *Microwave Assisted System*.

Pembimbing : 1. Dr. Widya Dwi Rukmi Putri, STP., MP.

2. Wenny Bekti Sunarharum, STP., M.Food.St., Ph.D

#### RINGKASAN

Kulit jeruk manis pacitan (*Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Pacitan) mengandung pektin. Pektin merupakan senyawa polisakarida larut air (*water soluble*). Struktur pektin terdiri dari sebagian asam D-galakturonat teresterifikasi dengan ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik. Aplikasi pektin digunakan dalam berbagai produk pangan sebagai komponen bahan perekat (*gelling agent*), pengental (*thickening agent*), serta penstabil (*stabilizer*). Metode ekstraksi pektin kulit jeruk manis dilakukan menggunakan *microwave assisted extraction* (MAE). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Box-Behnken Design* dengan faktor rasio bahan : pelarut (1:40–1:60 g/ml), suhu ekstraksi (60-70°C), serta lama waktu ekstraksi (1-11 menit). Respon yang diamati adalah rendemen (%), kadar total pektin (%). Hasil optimasi dengan *Response Surface Methodology* menunjukkan bahwa kondisi optimum adalah rasio bahan : pelarut 1:51 g/ml, suhu 65°C selama 7 menit dengan hasil rendemen sebesar 23,87%  $\pm$  0,34 dan kadar total pektin 21,01%  $\pm$  0,05. Pektin kulit jeruk manis hasil optimasi dan verifikasi kemudian dilakukan karakterisasi sifat fisikokimia serta dibandingkan dengan pektin komersil. Hasil karakteristik fisikokimia dari pektin optimasi tergolong sebagai *High Methoxyl Pectin* dengan nilai kadar air 5,31%  $\pm$  0,22, berat ekuivalen 752,42 g/mol  $\pm$  31,79, kadar metoksil 39,60%  $\pm$  1,24, kadar asam galakturonat 79,63%  $\pm$  1,02, dan derajat esterifikasi 68,39%  $\pm$  0,98.

Pektin kulit jeruk manis hasil optimasi kemudian dilakukan derivatisasi menjadi asam poligalakturonat. Pektin juga dapat berkontribusi dalam pemanfaatan limbah hasil pertanian dari sumber bahan terbarukan (*renewable raw materials*), ramah lingkungan (*biodegradable*) sebagai bahan baku pembuatan surfaktan polimerik berjenis pektin teramidasi. Pektin teramidasi berbasis asam poligalakturonat merupakan senyawa hasil derivatisasi pektin dengan karakteristik sebagai surfaktan yang dapat diaplikasikan dalam sistem emulsi. Sintesis surfaktan dilakukan melalui modifikasi hidrofilik asam poligalakturonat direaksikan dengan senyawa taurin sebagai entitas hidrofilik (metode aminolisis) dalam *microwave assisted system*, sehingga dapat terjadi penambahan rantai hidrofilik pada struktur asam poligalakturonat yang bersifat hidrofobik. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Central Composite Design* dengan faktor suhu reaksi (70-90°C) dan lama waktu reaksi (5-15 menit). Respon yang diamati adalah derajat amidasi (%). Hasil optimasi dengan *Response Surface Methodology* menunjukkan bahwa kondisi optimum adalah suhu 90°C selama 15 menit dengan hasil derajat amidasi sebesar 34,14%  $\pm$  0,01. Surfaktan hasil optimasi dan verifikasi kemudian dilakukan karakterisasi gugus fungsi *Fourier Transform Infra Red* (FT-IR) yang menunjukkan adanya gugus fungsional dari senyawa ester, asam karboksilat, amida, dan gugus C-H alifatik serta pengukuran nilai *hidrofilik-lypofilik balance* (HLB) sebesar 7,19  $\pm$  0,03.

Kata kunci: kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*); pektin; sintesis surfaktan; asam poligalakturonat; *microwave assisted system*

**Aditya Wardana. 186100100111005. Use of Sweet Orange Peel (*Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Pacitan) for Surfactant Synthesis Optimization through Hydrophilic Modification in a Microwave Assisted System.**

**Supervisors : 1. Dr. Widya Dwi Rukmi Putri, STP., MP.**

**2. Wenny Bekti Sunarharum, STP., M.Food.St., Ph.D**

### **SUMMARY**

Pectin was found in sweet orange peel (*Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Pacitan). Pectin is a polysaccharide that dissolves in water. Pectin has a partly esterified D-galacturonic acid structure with -1,4 glycosidic linkages. Pectin was utilized in a variety of food items as an adhesive (gelling agent), thickener (thickening agent), and stabilizer. Microwave-assisted extraction was used to extract pectin from sweet orange peel. The Box-Behnken Design technique was utilized in this work, with a material : solvent ratio of (1:40-1:60 g/ml), extraction temperature of (60-70°C), and extraction period (1-11 minutes). The yield (%) and total pectin content (%) responses were observed. The optimization results with Response Surface Methodology showed that the optimum condition was the ratio of material : solvent 1:51 g/ml, the temperature of 65°C for 7 minutes with a yield of 23.87% ± 0.34 and total pectin content of 21.01% ± 0, 05. The optimization and verification results of sweet orange peel pectin were then characterized for physicochemical properties and compared with commercial pectin. The results of the physicochemical characteristics of the optimized pectin were classified as High Methoxyl Pectin with a moisture content value of 5.31% ± 0.22, the equivalent weight of 752.42 g/mol ± 31.79, methoxyl content 39.60% ± 1.24, galacturonic acid content 79.63% ± 1.02, and the degree of esterification 68.39% ± 0.98.

The optimized sweet orange peel pectin was then derivatized into polygalacturonic acid. Pectin can also contribute to the utilization of agricultural waste from renewable raw materials, which are environmentally friendly (biodegradable) as raw materials for the manufacture of polymeric surfactants, such as pectin-amidated. Polygalacturonic acid-based pectin is a compound derived from pectin with characteristics as a surfactant that can be applied in emulsion systems. Surfactant synthesis is carried out through hydrophilic modification of polygalacturonic acid reacted with taurine as a hydrophilic entity (aminolysis method) in a microwave-assisted system, so that hydrophilic chains can be added to the hydrophobic structure of polygalacturonic acid. The method used in this research is Central Composite Design with reaction temperature factor (70-90°C) and reaction time (5-15 minutes). The response observed was the degree of amidation (%). The results of optimization with Response Surface Methodology showed that the optimum condition was a temperature of 90°C for 15 minutes with the results of the degree of amidation of 34.14% ± 0.01. The surfactant from the optimization and verification was then carried out to characterize the Fourier Transform Infra-Red (FT-IR) functional group which indicated the presence of functional groups from ester compounds, carboxylic acids, amides, and aliphatic C-H groups as well as measuring the hydrophilic-lipophilic balance (HLB) value of 7.19 ± 0.03.

**Keywords:** *sweet orange peel (*Citrus sinensis*); pectin; surfactant synthesis; polygalacturonic acid; microwave assisted system*



## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah S.W.T atas segala rahmat, hidayah, serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis dengan judul "**Pemanfaatan Pektin Kulit Jeruk Manis Pacitan (*Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Pacitan) Untuk Optimasi Sintesis Surfaktan Melalui Modifikasi Hidrofilik Dalam Microwave Assisted System**". Penulis menyadari dalam penyusunan tesis ini

tidak dapat berjalan dengan lancar tanpa dukungan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua, istri, dan segenap keluarga yang telah memberikan dukungan baik secara moril maupun material.
2. Dr. Widya Dwi Rukmi Putri, STP., MP selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, ilmu, dan pengetahuan kepada penulis.
3. Wenny Bakti Sunarharum, STP., M.Food.St., Ph.D selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, ilmu, dan pengetahuan kepada penulis.
4. Prof. Dr. Ir. Yunianta, DEA dan Fithri Choirun Nisa, STP., MP., Ph.D selaku dosen penguji yang telah memberikan saran serta arahan kepada penulis.
5. Dr. Ir. Aji Sutrisno, M.Sc selaku Ketua Program Studi Magister Teknologi Hasil Pertanian.
6. Keluarga besar Universitas Brawijaya, khususnya teman serta sahabat seperjuangan di Pascasarjana Teknologi Hasil Pertanian 2018 atas semua dukungan, semangat serta kerjasamanya.
7. Seluruh civitas akademika Jurusan Teknologi Hasil Pertanian yang telah memberikan dukungan moril kepada penulis.

Penulis menyadari tesis ini tidak luput dari berbagai kekurangan. Penulis mengharapkan saran serta kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya sehingga akhirnya laporan tesis ini dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan di lapangan serta dapat dikembangkan lebih lanjut.

Malang, Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

|   |           |
|---|-----------|
| HALAMAN JUDUL .....   | ii        |
| HALAMAN PENGESAHAN .....  | iii       |
| PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS .....   | iv        |
| RINGKASAN .....   | vii       |
| SUMMARY .....   | viii      |
| KATA PENGANTAR .....  | ix        |
| DAFTAR ISI .....  | x         |
| DAFTAR GAMBAR .....   | xii       |
| DAFTAR TABEL .....  | xiii      |
| DAFTAR LAMPIRAN .....   | xiv       |
| <b>I. PENDAHULUAN .....</b>   | <b>1</b>  |
| 1.1 Latar Belakang .....  | 1         |
| 1.2 Rumusan Masalah .....   | 3         |
| 1.3 Tujuan Penelitian .....   | 4         |
| 1.4 Manfaat Penelitian .....  | 4         |
| <b>II. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>   | <b>5</b>  |
| 2.1 Pektin .....  | 5         |
| 2.2 Ekstraksi Pektin .....  | 8         |
| 2.3 Ekstraksi Metode <i>Microwave Assisted Extraction</i> .....   | 15        |
| 2.4 Jeruk Manis Varietas Pacitan ( <i>Citrus sinensis L. Osbeck</i> ) .....                                     | 20        |
| 2.5 Asam Oksalat .....  | 22        |
| 2.6 Surfaktan .....   | 24        |
| 2.7 <i>Novel Surfactant</i> .....   | 26        |
| 2.8 Mekanisme Sintesis Surfaktan Melalui Modifikasi Hidrofilik .....  | 29        |
| 2.9 Aplikasi Surfaktan pada Pembentukan Emulsi .....  | 30        |
| 2.10 <i>Hydrophile-Lipophile Balance</i> (HLB) .....  | 33        |
| 2.11 Spektrofotometer Infra Merah ( <i>Fourier Transform Infra Red</i> ) .....                                  | 33        |
| 2.12 <i>Response Surface Methodology</i> (RSM) .....  | 36        |
| <b>III. KERANGKA KONSEP PENELITIAN .....</b>  | <b>42</b> |
| 3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....  | 42        |
| 3.2 Kerangka Operasional Penelitian .....   | 47        |
| 3.3 Hipotesis .....   | 48        |
| <b>IV. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>  | <b>49</b> |
| 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....   | 49        |
| 4.2 Bahan dan Alat Penelitian .....   | 49        |
| 4.3 Rancangan Percobaan .....   | 50        |
| 4.3.1 Penelitian Tahap 1 (Optimasi Ekstraksi Pektin menggunakan<br><i>Microwave Assisted Extraction</i> ) ..... | 50        |



|   |     |
|---|-----|
| 4.3.2 Penelitian Tahap 2 (Derivatisasi Pektin dan Optimasi Sintesis Surfaktan melalui Modifikasi Asam Poligalakturonat secara Hidrofilik menggunakan Taurin).....                         | 52  |
| 4.4 Prosedur Pelaksanaan Penelitian .....   | 54  |
| 4.4.1 Optimasi Ekstraksi Pektin menggunakan metode <i>Microwave Assisted Extraction</i> (Modifikasi Kalonika, 2018).....  | 54  |
| 4.4.2 Derivatisasi Pektin menjadi Asam poligalakturonat (Kertez, 1992) dan Optimasi Proses Modifikasi Asam poligalakturonat secara Hidrofilik (Modifikasi Aris <i>et al.</i> , 2016)..... | 57  |
| 4.5 Pengamatan Parameter Penelitian .....   | 61  |
| 4.6 Analisa Data .....  | 61  |
| V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....   | 62  |
| 5.1 Karakteristik Bahan Baku Kulit Jeruk Manis .....  | 62  |
| 5.2 Optimasi Ekstraksi Pektin dari Kulit Jeruk Manis .....  | 64  |
| 5.2.1 Respon Rendemen .....   | 64  |
| 5.2.2 Kenormalan Data .....   | 73  |
| 5.2.3 Respon Total Pektin.....  | 74  |
| 5.2.4 Kenormalan Data .....   | 80  |
| 5.2.5 Solusi Optimasi Ekstraksi Pektin Kulit Jeruk dan Verifikasi Titik Optimal .....   | 81  |
| 5.2.6 Karakterisasi Pektin Hasil Optimasi .....   | 83  |
| 5.3 Optimasi Sintesis Surfaktan melalui Modifikasi Hidrofilik Asam Poligalakturonat dan Taurin .....  | 87  |
| 5.3.1 Respon Derajat Amidasi.....   | 88  |
| 5.3.2 Kenormalan Data .....   | 93  |
| 5.3.3 Solusi Optimasi Sintesis Surfaktan dan Verifikasi Titik Optimal .....   | 93  |
| 5.3.4 Karakterisasi Surfaktan Polimerik Hasil Opbimasi.....   | 95  |
| 5.4 Potensi Pemanfaatan Surfaktan Polimerik berbasis Asam Poligalakturonat .....  | 98  |
| VI. PENUTUP.....  | 101 |
| 6.1 Kesimpulan .....  | 101 |
| 6.2 Saran.....  | 101 |
| DAFTAR PUSTAKA.....   | 102 |
| LAMPIRAN.....   | 118 |

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Representasi Skematik Struktur Dinding Sel Tanaman ..... 5

Gambar 2.2 Struktur Molekul Pektin ..... 6

Gambar 2.3 Struktur Pektin dengan Tulang Punggung Homogalacturonan (HG) dan Rantai Samping Rhamnogalacturonan I (RGI) dan Rhamnogalacturonan II (RGII) ..... 7

Gambar 2.4 Model “Egg-Box” ..... 8

Gambar 2.5 Distribusi Suhu, Perpindahan Panas, dan Perpindahan Massa pada Metode Ekstraksi Konvensional dan Microwave Assisted Extraction ..... 12

Gambar 2.6 Skema Microwave Open Vessel dan Closed Vessel ..... 15

Gambar 2.7 *Sealed Vessel* pada Microwave ..... 17

Gambar 2.8 Anatomi Buah Jeruk ..... 21

Gambar 2.9 Struktur Asam Oksalat *Dihydrate* ..... 24

Gambar 2.10 Molekul Surfaktan dan Formasi Misel ..... 25

Gambar 2.11 Jenis Surfaktan Surfaktan Ionik, Nonionik, dan Zwitterionik ..... 26

Gambar 2.12 Sintesis *Sorbitan Ester (Span)* dan *Polysorbate (Tween)* ..... 27

Gambar 2.13 Skematik Sintesis Surfaktan Polimerik Amphifilik berbasis Asam Poligalakturonat dan Taurin ..... 30

Gambar 2.14 Konsep Emulsi Air-Minyak ..... 31

Gambar 2.15 Fenomena Kerusakan atau Ketidakstabilan Emulsi ..... 32

Gambar 2.16 Komponen Spektrofotometer FTIR ..... 34

Gambar 2.16 Vibrasi Ulur dan Vibrasi Tekuk ..... 35

Gambar 2.17 Visual *Central Composite Design* ..... 38

Gambar 2.18 Visual *Box-Behnken Design* ..... 39

Gambar 3.1 Kerangka Pikir Penelitian ..... 46

Gambar 3.2 Kerangka Operasional Penelitian ..... 47

Gambar 4.1 Diagram Alir Ekstraksi Pektin ..... 56

Gambar 4.2 Diagram Alir Derivatisasi Asam Poligalakturonat ..... 58

Gambar 4.3 Diagram Alir Sintesis Surfaktan ..... 60

Gambar 5.1 Bahan Baku Kulit Jeruk Manis Pacitan ..... 62

Gambar 5.2 Kontur Plot dan Kurva Respon Permukaan (3D) Rendemen ..... 70

Gambar 5.3 Kontur Plot dan Kurva Respon Permukaan (3D) Total Pektin ..... 77

Gambar 5.4 Spektrum FTIR Pektin Komersial (a) dan Pektin Optimasi (b) ..... 86

Gambar 5.5 Kontur Plot dan Kurva Respon Permukaan (3D) Derajat Amidasi ..... 92

Gambar 5.6 Spektrum FTIR Surfaktan Polimerik *PGA-Taurin* Optimasi (a & c) dan Pektin Optimasi (b) ..... 97

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Standar Mutu Pektin Berdasarkan Standar Mutu *International Pectin Producers Association (IPPA)* ..... 10

Tabel 2.2 Hasil Perolehan Yield dari Berbagai Metode Ekstraksi..... 14

Tabel 2.3 Perbedaan antara Microwave *Open Vessel* dan *Closed Vessel*..... 18

Tabel 2.4 Hasil Perolehan Yield Pektin Berbagai Kondisi Ekstraksi menggunakan *Microwave Assisted Extraction Closed Vessel*..... 20

Tabel 2.5 Komposisi Kimia Kulit Jeruk Manis (Persentase Basis Kering)..... 21

Tabel 2.6 Jenis Produk *Sorbitan Ester* dan *Polysorbate*..... 28

Tabel 2.7 Nilai HLB Surfaktan dan Aplikasinya ..... 33

Tabel 4.1 Variabel Terikat, Variabel Bebas dan Level Ekstraksi Pektin ..... 51

Tabel 4.2 Design Aktual, Kode dan Respon Percobaan Ekstraksi Pektin..... 52

Tabel 4.3 Variabel Terikat, Variabel Bebas dan Level Sintesis Surfaktan..... 53

Tabel 4.4 Design Aktual, Kode dan Respon Percobaan Sintesis Surfaktan..... 53

Tabel 5.1 Karakteristik Fisikokimia Bubuk Kulit Jeruk Manis Pacitan ..... 62

Tabel 5.2 Hasil Analisis Respon Ekstraksi Pektin..... 65

Tabel 5.3 Komposisi Kimia Pada Bubuk Kulit Jeruk Manis (Persentase dalam Basis Kering)..... 67

Tabel 5.4 Kriteria Variabel Proses dan Respon ..... 81

Tabel 5.5 Solusi Optimasi Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Total Pektin.... 82

Tabel 5.6 Verifikasi Titik Optimal Ekstraksi Pektin ..... 82

Tabel 5.7 Karakterisasi Fisikokimia Pektin Optimasi dan Pektin Komersil ..... 84

Tabel 5.8 Gugus Fungsional Pektin Optimasi dan Pektin Komersil..... 84

Tabel 5.9 Hasil Analisis Respon Sintesis Surfaktan..... 88

Tabel 5.10 Kriteria Variabel Proses dan Respon ..... 94

Tabel 5.11 Solusi Optimasi Sintesis Surfaktan Polimerik berbasis PGA-Taurin terhadap Derajat Amidasi ..... 94

Tabel 5.12 Verifikasi Titik Optimal Sintesis Surfaktan ..... 95

Tabel 5.13 Karakteristik Nilai *Hydrophylic-Lipophylic Balance (HLB)* ..... 96

Tabel 5.14 Karakteristik Surfaktan Polimerik berbasis Asam Poligalakturonat Optimasi dan Pektin Teramidasi Komersil..... 99



**DAFTAR LAMPIRAN**

**Halaman**

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian.....118

Lampiran 2 Prosedur Analisa Penelitian .....120

Lampiran 3 Hasil Pengujian FTIR Surfaktan Polimerik PGA-Taurin ..... 125

Lampiran 4.1 Rasio Data Respon Rendemen.....126

Lampiran 4.2 Rasio Data Respon Total Pektin.....126

Lampiran 4.3 Rasio Data Respon Derajat Amidasi.....127

Lampiran 5.1 Tabel Model Respon Design Expert Respon Rendemen.....128

Lampiran 5.2 Tabel Model Respon Design Expert Respon Total Pektin ..... 129

Lampiran 5.3 Tabel Model Respon Design Expert Respon Derajat Amidasi...130

Lampiran 6.1 Tabel *Analysis of Varian* (Anova) Respon Rendemen.....131

Lampiran 6.2 Tabel *Analysis of Varian* (Anova) Respon Total Pektin.....131

Lampiran 6.3 Tabel *Analysis of Varian* (Anova) Respon Derajat Amidasi.....132

Lampiran 7.1 Uji Normalitas *Kolomogorov-Smirnov* Rendemen.....133

Lampiran 7.2 Uji Normalitas *Kolomogorov-Smirnov* Total Pektin.....133

Lampiran 7.3 Uji Normalitas *Kolomogorov-Smirnov* Derajat Amidasi.....133

Lampiran 8.1 Hasil Verifikasi *Paired T-Test* Kadar Air.....134

Lampiran 8.2 Hasil Verifikasi *Paired T-Test* Kadar Pektin.....134

Lampiran 9.1 Hasil Verifikasi *Paired T-Test* Data Optimasi Rendemen.....135

Lampiran 9.2 Hasil Verifikasi *Paired T-Test* Data Optimasi Total Pektin.....135

Lampiran 9.3 Hasil Verifikasi *Paired T-Test* Data Optimasi Derajat Amidasi.....135



## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Bahan baku alternatif terutama limbah hasil pertanian merupakan sumber bahan terbarukan yang mengarah pada penyediaan berkelanjutan (*sustainable*) (Wisetkomolmat, Suppakittpaisarn, & Sommano, 2019). Jeruk manis pacitan (*Citrus sinensis L. Osbeck*) merupakan salah satu komoditi buah-buahan lokal yang banyak dibudidayakan di Indonesia khususnya di wilayah Jawa Timur, dan memiliki produktivitas sebesar 40-60 kg/pohon/tahun (Litbangtan, 2014). Pemanfaatan buah jeruk saat ini masih sangat terbatas, yaitu digunakan pada industri pengolahan sari buah yang akan menghasilkan limbah berupa kulit, ampas dan biji. Jumlah limbah kulit jeruk di Indonesia mencapai 309.678 ton tiap tahun dan belum dimanfaatkan secara optimal. Kulit jeruk manis merupakan limbah hasil pengolahan sari jeruk yang memiliki kandungan pektin sekitar 20-30% basis kering (Kute *et al.*, 2020).

Pektin adalah senyawa heteropolisakarida yang bersifat larut air (*water soluble*). Pektin diperoleh melalui ekstraksi, salah satunya metode *microwave assisted extraction* (MAE) yang menghasilkan tingkat pemanasan lebih cepat, efisiensi waktu ekstraksi lebih singkat serta efektivitas perolehan nilai rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional (menggunakan *waterbath*, *hot plate stirer*, *soxhlet*) (Poole, 2020) dan metode *Ultrasoundnically Assisted Extraction* (Bagherian, Ashtiani, Fouladitajar, & Mohtashamy, 2011). Penggunaan pelarut asam oksalat yang memiliki konstanta disosiasi asam tertinggi dibandingkan asam organik lain (asam asetat, asam sitrat, dan asam tartarat) berfungsi dalam meningkatkan konduktivitas ion yang menyebabkan energi microwave dapat diserap secara efisien pada proses hidrolisis pektin (Tsubaki *et al.*, 2017).

Synnytsya *et al.* (2004) mengungkapkan pektin juga dapat dijadikan sebagai sumber bahan baku pembuatan surfaktan. Kemampuan pektin tersebut disebabkan adanya modifikasi atau penambahan gugus fungsi ke dalam struktur polimer pektin melalui reaksi kimia. Pektin dapat disintesis menjadi surfaktan polimerik (golongan *novel surfactant* berbasis polisakarida) melalui modifikasi dengan penambahan rantai alkil pada struktur pektin, sehingga menghasilkan turunan senyawa yang dapat digunakan dalam sistem emulsi. Oleh karena itu, diperlukan upaya pemanfaatan bahan baku alternatif salah satunya dari limbah

kulit jeruk manis pacitan (*Citrus sinensis*) yang berpotensi digunakan sebagai sumber bahan baku pembuatan surfaktan.

Surfaktan (*surface active agent*) merupakan zat yang mampu menurunkan tegangan permukaan cairan pada dua fase berbeda, yakni fase air dan minyak.

Kemampuan surfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan dikarenakan surfaktan memiliki struktur molekul amphifilik yang terdiri dari gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik (Karthick, Roy, & Chattopadhyay, 2019). Surfaktan dapat diaplikasikan sebagai komponen bahan pengemulsi (*emulsifying agent*), bahan pembasah (*wetting agent*), dan sebagai bahan pelarut (*solubilizing agent*) pada produk pangan, kosmetik, farmasi, polimer, deterjen, dan agrokimia (Nguyen *et al.*, 2019).

(Mohd Aris *et al.*, 2017) menyatakan surfaktan dapat disintesis dari polisakarida tidak larut air (*water insoluble*) yaitu asam poligalakturonat melalui modifikasi hidrofilik menggunakan senyawa taurin dalam *microwave assisted system* suhu 70 - 120°C selama 15 - 45 menit, proses tersebut dapat mempersingkat waktu reaksi dibandingkan penggunaan pemanasan konvensional selama 16 jam serta penambahan EDCI) 1-3-etil (3-dimetil amino propil) karbodiimida sebagai zat penghubung (*coupling agent*). Reaksi antara senyawa taurin yang bersifat *non toxic* pada sintesis surfaktan berbasis asam poligalakturonat menggunakan iradiasi gelombang mikro (*microwave assisted system*) secara signifikan dapat mempersingkat waktu reaksi dan pemanasan serta menghilangkan akan adanya kebutuhan zat penghubung (*coupling agent*) (Nagarajan, 2012; Shao & Hathcock, 2008). Taurin (2-amino ethane sulfonic acid) sebagai entitas hidrofilik berperan untuk menggantikan gugus fungsi dari suatu molekul yang selanjutnya disebut sebagai *leaving group* yakni gugus ester pada pektin dan kemudian menghasilkan gugus fungsi baru yaitu gugus amida pada senyawa pektin teramidasi berjenis surfaktan polimerik.

Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk melakukan optimasi proses ekstraksi pektin melalui metode *microwave assisted extraction* menggunakan rancangan *Respon Surface Methodology (RSM)* dengan model *Box Behnken Design (BBD)* untuk memperoleh kemungkinan nilai rendemen dan kadar total pektin yang maksimal. serta melakukan optimasi proses sintesis surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat melalui modifikasi hidrofilik dalam reaktor *microwave assisted system* menggunakan rancangan *Respon Surface*



*Methodology* (RSM) dengan model *Central Composite Design* (CCD) untuk memperoleh kemungkinan nilai derajat amidasi yang maksimal.

Penelitian mengenai optimasi pada ekstraksi pektin kulit jeruk manis varietas pacitan menggunakan metode *microwave assisted extraction* serta sintesis surfaktan polimerik pektin teramidasi berbasis asam poligalakturonat belum pernah dilakukan, sehingga perlu dilakukan upaya optimasi proses dari kulit jeruk manis varietas pacitan dengan mengendalikan faktor rasio bahan: pelarut, suhu, dan waktu ekstraksi serta proses faktor suhu dan waktu reaksi untuk menghasilkan surfaktan polimerik pektin teramidasi berbasis asam poligalakturonat atau *polygalacturonic acid* (PGA).

## 1.2 Rumusan Masalah

Penelitian terhadap sintesis surfaktan dari asam poligalakturonat sudah dilakukan, namun bahan baku asam poligalakturonat (PGA) yang digunakan tidak bersumber dari pektin kulit jeruk. Oleh karena itu dibutuhkan adanya penelitian terapan untuk memanfaatkan pektin menjadi salah satu bahan baku pada sintesis surfaktan nonionik jenis pektin teramidasi yang ramah lingkungan (*biodegradable*) dari limbah kulit jeruk manis varietas pacitan dengan melakukan proses optimasi menggunakan *Respon Surface Methodology* (RSM). Permasalahan pokok yang harus diselesaikan dalam proses optimasi ekstraksi pektin dan sintesis surfaktan adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana kondisi optimum ekstraksi pektin kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) menggunakan metode *microwave assisted extraction* karena pengaruh perbandingan kulit jeruk : pelarut asam oksalat, suhu, dan waktu ekstraksi terhadap yield dan total pektin
2. Bagaimana kondisi optimum pembuatan surfaktan dari asam poligalakturonat melalui modifikasi hidrofilik menggunakan taurin karena pengaruh suhu, dan waktu reaksi dalam *microwave assisted system* terhadap derajat amidasi
3. Bagaimana karakteristik surfaktan dari asam poligalakturonat berjenis pektin teramidasi yang dihasilkan

### 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Menentukan kondisi optimum rasio kulit jeruk manis : pelarut, suhu, dan waktu ekstraksi pada proses ekstraksi berdasarkan yield dan total pektin dari optimasi ekstraksi pektin menggunakan metode *Box Behnken Design*
2. Menentukan suhu, dan waktu reaksi yang optimum pada proses sintesis surfaktan dari asam poligalakturonat pektin kulit jeruk manis melalui modifikasi hidrofilik menggunakan taurin dalam *microwave assisted system*
3. Melakukan karakterisasi surfaktan hasil optimasi sintesis dari asam poligalakturonat pektin kulit jeruk manis sebagai pemanfaatan dan konversi produk limbah dari bahan baku ramah lingkungan (*biodegradable*).

### 1.4 Manfaat Penelitian

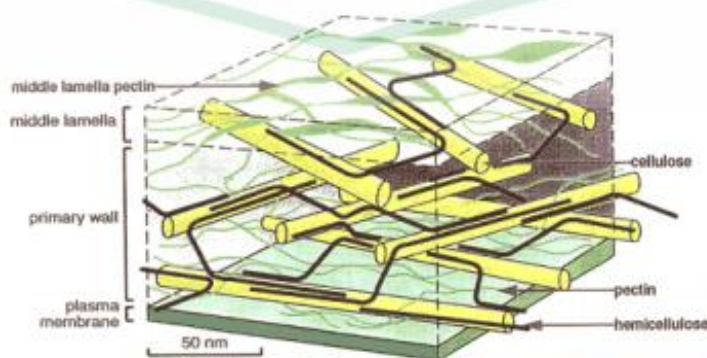
Manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian ini, antara lain :

1. Memberikan informasi mengenai pemanfaatan dan konversi produk limbah kulit jeruk yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan surfaktan yang ramah lingkungan (*biodegradable*).
2. Mengetahui pengaruh dan titik optimum pada rasio bahan : pelarut, suhu, dan lama waktu ekstraksi, untuk menghasilkan pektin dengan rendemen dan total pektin maksimum serta pengaruh dan titik optimum pada nilai suhu, dan lama waktu reaksi untuk menghasilkan surfaktan jenis pektin teramodifikasi dari asam poligalakturonat dengan karakteristik yang mirip dengan surfaktan komersil.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Pektin

Pektin merupakan campuran polisakarida kompleks (heteropolisakarida) yang menyusun dinding sel utama pada tumbuhan terestrial (tumbuhan yang hidup dipermukaan tanah) dan berkontribusi dalam menentukan integritas dan kekakuan jaringan tanaman. Konsentrasi pektin tertinggi ditemukan di bagian lamela tengah dari dinding sel (Voragen *et al.*, 2009). Saat ini, pektin komersial banyak diperoleh dengan cara ekstraksi dari kulit jeruk dan ampas apel, keduanya merupakan produk samping dari pembuatan jus. Ampas apel memiliki kandungan pektin sebesar 10-15% (basis kering), sedangkan kulit jeruk memiliki kandungan pektin sekitar 20-30% basis kering (Kute *et al.*, 2020).

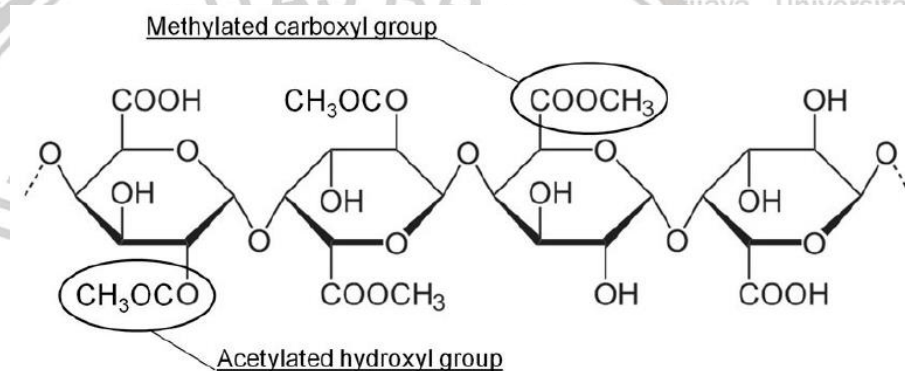


**Gambar 2.1 Struktur Dinding Sel Tanaman**

(Sumber : Goycoolea & Cárdenas, 2003)

Pektin sebagai heteropolisakarida terdiri dari tiga jenis polisakarida, yakni homogalacturonan (HG), rhamnogalacturonan I (RG I), dan rhamnogalacturonan II (RG II). Umumnya, pektin mengandung 50-70 % jenis homogalacturonan (HG) sebagai bentuk penyederhanaan struktur pektin. Homogalacturonan (HG) merupakan rantai lurus yang mengandung asam D-galakturonat dengan ikatan  $\alpha$ -1,4 glikosidik. Asam D-galakturonat pada posisi atom karbon nomor 6 (C-6) memiliki gugus karboksil yang dapat diesterifikasi sebagian dengan metanol, sehingga mengalami metilasi menjadi gugus metoksil dengan karakteristik hidrofobik. Reaksi esterifikasi asam D-galakturonat dengan metanol merupakan reaksi yang akan menentukan karakteristik struktur pektin berdasarkan derajat esterifikasi.

Reaksi esterifikasi asam D-galakturonat dengan metanol merupakan reaksi yang akan menentukan karakteristik struktur pektin berdasarkan derajat esterifikasi. Derajat esterifikasi pektin (*degree of esterification* atau DE) menunjukkan persentase gugus karboksil yang diesterifikasi dengan metanol. Jika lebih dari 50% gugus karboksil mengalami metilasi, maka pektin yang dihasilkan tergolong *high methoxyl pectin* (HMP). Apabila kurang dari 50% gugus karboksil yang dimetilasi, maka disebut *low methoxyl pectin* (LMP) (Schmidt, 2016). Gugus hidroksil pada struktur asam D-galakturonat dengan posisi atom karbon nomor 2 (C-2) atau pada atom karbon nomor 3 (C-3) juga dapat disubstitusi oleh gugus asetil (-OCOCH<sub>3</sub>). Gugus asetil juga akan memberikan karakteristik hidrofobik hanya pada molekul pektin hasil ekstrak dari gula bit (*sugar beet*) dengan menghasilkan derajat asetilasi sebesar 25% (Schmidt, Schmidt, Kurz, Endreß, & Schuchmann, 2015). Struktur molekul pektin dapat dilihat pada Gambar 2.2

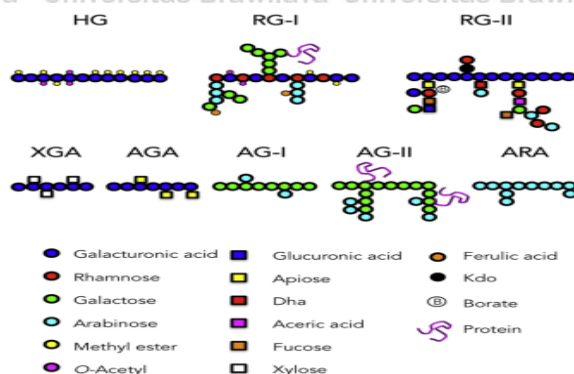


**Gambar 2.2 Struktur Molekul Pektin**

(Sumber : Schmidt, 2016)

Rhamnogalacturonan I (RGI) adalah heteropolimer yang mengandung monomer asam D-galakturonat dan rhamnosa dengan posisi berulang [ $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 2)-asam D-galakturonat- $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)-Rhamnosa]<sub>n</sub>, dimana n dapat lebih besar dari 100 unit. Rhamnosa pada ikatan karbon nomor 4 (C-4) dapat disubstitusi dengan rantai samping dari 1 galaktosa hingga 50 atau lebih arabinosa (arabinan), galaktosa (galactan), atau keduanya (arabinogalactan). Rhamnogalacturonan II (RGII) merupakan polisakarida kompleks dimana mengandung empat rantai samping yang terhubung dengan asam galakturonat. Rantai samping tersebut terdiri dari 12 monosakarida yang berbeda, yaitu: rhamnosa, galaktosa, arabinosa, arabinofuranose, dan banyak gula yang tidak biasa, seperti apiose, asam aseric, glucuronic acid, 3-O-metil-L-fucose, 2-O-metil-D-xilosa, 3-C-karboksi-5-deoksi-L-xilosa, 3-deoxy-D-manno-octulosonic acid dan 3-deoxy-D-lyxo-heptulosaric acid.

Namun, sebagian besar rantai samping tersebut akan terpecah selama proses ekstraksi pektin (Nikolovski, 2009). Komponen struktur tulang punggung HG, RGI, dan RGII pada pektin dapat dilihat pada Gambar 2.3 berikut ini.

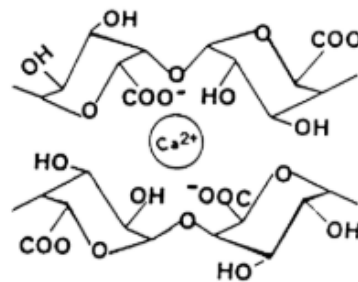


**Gambar 2.3 Struktur Pektin dengan Tulang Punggung Homogalakturonan (HG) dan Rantai samping Rhamnagalakturonan I (RGI) dan Rhamnagalakturonan II (RGII)**

(Sumber : Alba, 2017)

Penggunaan pektin di industri pangan pada umumnya sebagai pembentuk gel (*gelling agent*) dan penstabil (*stabilizer*) (Vanitha *et al.*, 2019). Derajat esterifikasi memiliki pengaruh terhadap mekanisme pembentukan gel (peristiwa gelasi). Pektin bermetoksil tinggi (*high methoxyl pectin* atau HMP) dengan derajat esterifikasi lebih besar dari 50% dapat menghasilkan gel pada kondisi lingkungan yang asam (pH kurang dari 3) dan dengan adanya *co-solute* (biasanya gula) lebih dari 50%. *Co-solute* tersebut akan mengurangi aktivitas air, sedangkan pH yang rendah akan mengurangi terjadinya disosiasi ion. Hal ini menyebabkan terbentuknya zona persimpangan sebagai tempat yang menyatukan molekul-molekul pada polimer pektin ketika direndam dalam medium cairan (larutan). Zona persimpangan dapat distabilkan (disatukan) melalui kombinasi ikatan hidrogen dengan interaksi hidrofobik antar gugus metil ester (gugus  $-CH_3$ ) (Löfgen, Walkenström, & Hermansson, 2002).

Pembentukan gel pada pektin yang memiliki derajat esterifikasi kurang dari 50% atau bermetoksil rendah terjadi akibat adanya ion  $Ca^{2+}$ . Ion  $Ca^{2+}$  akan menghasilkan ikatan ionik dengan gugus karboksil melalui zona persimpangan yang disebut sebagai model “*egg-box*” seperti pada Gambar 2.4. Pembentukan sejumlah model “*egg-box*” yang lebih banyak akan menghasilkan gel yang lebih kuat (Fraeye *et al.*, 2009).



**Gambar 2.4 Model “Egg-Box”**  
(Sumber : Axelos & Thibault, 1991)

Pektin digunakan sebagai stabilizer dalam emulsi minyak dalam air (*oil in water*). Hal ini disebabkan pektin dapat meningkatkan viskositas larutan dengan cara mengurangi pergerakan droplet minyak, sehingga menyebabkan berkurangnya frekuensi tabrakan antar droplet. Dengan demikian, droplet akan terlindungi dari terjadinya peristiwa *coalescence* atau penggabungan droplet (Schmidt et al., 2015).

Ngouémazong *et al.* (2015) menyatakan pektin dapat dijadikan sebagai *emulsifier*. Namun selama emulsifikasi hanya sebagian kecil dari molekul pektin mengalami adsorpsi pada droplet minyak. Adsorpsi tersebut akan membentuk lapisan pelindung yang dapat menyebabkan penurunan tegangan antarmuka minyak-air, sehingga akan mengurangi ukuran droplet dalam sistem emulsi. Adapun kemampuan pektin dalam menurunkan tegangan antarmuka diperoleh dari bagian hidrofobik yang dapat teradsorpsi pada droplet minyak, sedangkan bagian hidrofilik teradsorpsi pada fase air. Karakter hidrofilik pektin yang dominan menyebabkan aktivitas permukaannya sering dikaitkan dengan tingginya hidrofobisitas dari gugus metil ester dan asetil.

## 2.2 Ekstraksi Pektin

Ekstraksi pektin tergolong jenis ekstraksi padat-cair yang merupakan proses pemisahan zat terlarut (*solute*) yang terdapat dalam suatu padatan dengan cara mengontakkan padatan tersebut dengan pelarut cair (*solvent*), sehingga menyebabkan zat terlarut terpisah dari padatan karena larut dalam pelarut. Pada ekstraksi padat-cair menghasilkan dua fase yaitu fase *overflow* (ekstrak) dan fase *underflow* (rafinat atau ampas) (Shekhar Pandharipande, 2012). Tahapan ekstraksi pektin terdiri dari *mixing*, *settling*, dan pemurnian. *Mixing* adalah pencampuran bahan baku dengan pelarut, sehingga terjadi perpindahan massa

melalui difusi pada bidang antar permukaan bahan yang diekstrak dan pelarutnya. Apabila jaringan tanaman yang kaya akan pektin diekstraksi dengan air mendidih yang diasamkan, maka ekstrak air panas tersebut akan mengandung pektin (Prasetyowati dkk, 2009).

Penggunaan asam pada ekstraksi pektin bertujuan dalam proses hidrolisis protopektin menjadi pektin yang larut dalam air serta bertujuan untuk membebaskan pektin dari ikatan senyawa lain, seperti selulosa (Megawati & Ulinuha, 2014) Tingkat keasaman larutan pengekstrak pektin dari limbah buah-buahan umumnya berkisar pada pH antara 1,5-3,0 dengan penggunaan suhu ekstraksi antara 60-100°C (Putra, 2010).

*Settling* adalah pemisahan larutan ekstrak dari rafinat melalui proses pengendapan dan filtrasi. Pada tahap ini terjadi penggumpalan pektin akibat penambahan alkohol berjenis ethanol 95%. Pektin merupakan koloidal hidrofilik bermuatan negatif (diperoleh dari gugus karboksil bebas yang terionisasi) yang distabilkan oleh hidrasi partikelnya melalui ikatan elektrostatis yang terjadi antara muatan negatif pada molekul pektin dengan muatan positif pada molekul air. Alkohol bersifat sebagai pendehidrasi yang mengurangi stabilitas dispersi pektin akibat efek dehidrasi yang mengganggu keseimbangan pektin-air, sehingga pektin akan mengendap (Megawati & Ulinuha, 2014).

Pektin yang telah mengalami pengendapan, selanjutnya disaring dan dimurnikan melalui proses pencucian endapan dengan menggunakan alkohol sampai pH netral yang bertujuan untuk menghilangkan sisa asam serta pengotor lainnya, seperti gula netral yakni galaktosa, arabinosa, dan (Yapo & Koffi, 2013); mineral (Kalapathy & Proctor, 2001); pigmen (Sharma, Gupta, & Kaushal, 2014). Selanjutnya pektin dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama sekitar enam jam hingga kadar airnya mencapai 12% sesuai dengan standar mutu yang dikeluarkan oleh *International Pectin Producers Association* atau IPPA (Perina dkk, 2007) pada Tabel 2.1

**Tabel 2.1 Standar Mutu Pektin Berdasarkan Standar Mutu International Pectin Producers Association (IPPA)**

| Faktor Mutu                  | Kandungan    |
|------------------------------|--------------|
| Kandungan metoksil :         |              |
| • Pektin bermetoksil tinggi  | > 7,12%      |
| • Pektin bermetoksil rendah  | 2,5-7,12%    |
| Kadar asam galakturonat      | Minimal 35%  |
| Derajat esterifikasi untuk : |              |
| • Pektin ester tinggi        | Minimal 50%  |
| • Pektin ester rendah        | Maksimal 50% |
| Kadar air                    | Maksimal 12% |

Sumber : Tarigan dkk (2012)

Ekstraksi pektin pada umumnya dilakukan dengan metode pemanasan konvensional (pemanasan langsung) menggunakan *hot plate stirrer* atau *shaker waterbath* dengan bantuan pelarut yang diasamkan. Akan tetapi, metode ekstraksi tersebut membutuhkan waktu ekstraksi yang lama karena perpindahan panas ke bahan meliputi konduksi, konveksi dan radiasi sehingga menyebabkan energi yang diperlukan untuk pemanasan semakin tinggi (Megawati & Machsunah, 2016). Penelitian yang dilakukan Maneerat & Tangsuphoom (2017) mengenai ekstraksi pektin dari kulit pisang menggunakan *hot plate* dengan bantuan pelarut HCl 0,05 M (rasio bahan:pelarut 1:2 b/v) dengan adanya pengadukan pada suhu 90°C selama 30-120 menit hanya mampu menghasilkan variasi yield pektin dari 4,8% hingga 11% (basis kering). Maskey *et al.* (2018) menyatakan ekstraksi pektin dari kulit buah maja menggunakan *shaker waterbath* dengan bantuan pelarut asam memiliki yield pektin tertinggi sebesar 16,7% pada kondisi ekstraksi yakni rasio bahan:pelarut 1:1,5 g/ml; pH 1,5; dan suhu 120°C.

Ekstraksi pektin secara konvensional menggunakan metode *soxhlet* juga memiliki beberapa kelemahan dalam hal efisiensi waktu ekstraksi yang cukup lama sehingga mengakibatkan konsumsi waktu dan energi panas yang cukup besar. Waktu ekstraksi yang lebih lama akan membatasi jumlah sampel yang dapat diekstraksi sehingga tidak tepat digunakan untuk produksi secara komersil. Selain itu, penggunaan pelarut dalam jumlah besar akan membutuhkan konsumsi energi panas yang besar dan juga membutuhkan langkah ekstra dalam pemulihan kembali (*recovery*) senyawa ekstrak (Mandal, Mohan, & Hemalatha, 2007).

Malviya & Giraj (2014) melakukan penelitian ekstraksi pektin dari bubuk kulit buah mangga menggunakan metode *soxhlet* dengan rasio bahan:pelarut (asam sitrat pH 2) yaitu 1:8 (b/v) dan suhu 70°C selama 6 jam menghasilkan yield sebesar 25,26%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Hamed *et al.* (2017) dengan membandingkan perolehan yield pektin pada bubuk kulit labu yang diperoleh dari



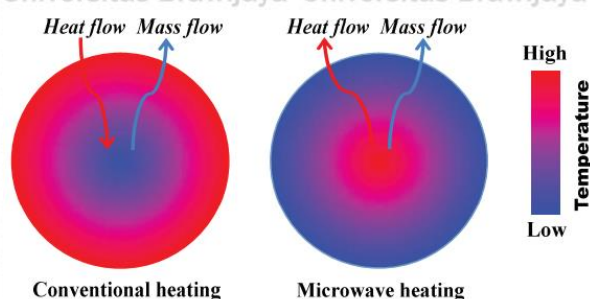
metode *soxhlet* dengan metode *hot plate stirer*, kedua metode tersebut menggunakan rasio bahan: pelarut asam sitrat pH 2 adalah 1:8 b/v, suhu 90°C dan waktu ekstraksi selama 1 jam. Hasil yield tertinggi yakni 6,80% diperoleh dari metode *soxhlet*, sedangkan perolehan yield dari metode *hot plate stirer* sebesar 5,36%. Perbedaan tersebut disebabkan karena terjadi penguapan pelarut pada metode *hot plate stirer* yang akan mengurangi volume pelarut untuk mengekstrak pektin. Penguapan pelarut juga terjadi pada metode *soxhlet*, namun uap tersebut mengalami kondensasi dan dialirkan kembali ke dalam tabung *soxhlet*.

Metode ekstraksi pektin yang dapat digunakan sebagai alternatif adalah metode *microwave assisted extraction* (MAE), metode ini mengkombinasikan energi gelombang mikro dan teknik ekstraksi konvensional (Beoletto, de las Mercedes Oliva, Marioli, Carezzano, & Demo, 2016). Penggunaan ekstraksi dengan gelombang mikro akan menyebabkan laju ekstraksi lebih cepat dengan konsumsi energi yang rendah. Gelombang mikro adalah gelombang elektromagnetik yang memiliki rentang frekuensi dari 0,3 hingga 300 GHz yang sesuai untuk panjang gelombang 1 meter hingga 1 milimeter. Berbeda dengan pemanasan konvensional, panas akan menembus secara perlahan dari luar ke dalam suatu objek, pemanasan metode *microwave assisted extraction* berasal dari inti bahan yang sedang dipanaskan dan akan menyebar ke luar dari inti bahan tersebut.

Pemanasan yang dihasilkan oleh gelombang mikro berdampak langsung pada pelarut polar, yaitu terjadinya mekanisme konduksi ionik dan rotasi dipol secara simultan atau bersama. Konduksi ionik disebabkan oleh migrasi ion di bawah pengaruh medan elektromagnetik yang akan menimbulkan friksi atau gesekan dan dengan demikian akan memanaskan larutan. Selain itu, migrasi ion tersebut dapat meningkatkan penetrasi *solvent* ke dalam matriks bahan sehingga memfasilitasi pelarutan senyawa target. Rotasi dipol merupakan penyusunan kembali (*re-alignment*) molekul polar (memiliki momen dipol) terhadap paparan gelombang mikro, dimana fenomena ini disebut sebagai osilasi. Pada frekuensi 2,45 GHz (2450 MHz), fenomena osilasi terjadi sebanyak  $4,9 \times 10^4$  kali tiap detik yang menyebabkan tabrakan antar molekul, dengan demikian maka akan menghasilkan energi panas ke dalam pelarut (Lopez-Avila, 2000).

Nilai rendemen yang tinggi pada metode *microwave assisted extraction* disebabkan adanya kombinasi antara perpindahan panas dan perpindahan massa (dari senyawa ekstrak ke dalam pelarut) yang bekerja dengan arah yang sama.

Sedangkan, dengan metode konvensional memiliki mekanisme perpindahan panas dan massa yang arahnya berlawanan, sehingga menghambat ekstraksi (Carciochi, Rodriguez, Nolasco, & Dimitrov, 2017), seperti yang terlihat pada Gambar 2.5



**Gambar 2.5 Distribusi Suhu, Perpindahan Panas, dan Perpindahan Massa pada Metode Ekstraksi Konvensional dan *Microwave Assisted Extraction***  
(Sumber : Zhang *et al.*, 2017)

Faktor pendukung penggunaan metode *microwave assisted extraction* pada ekstraksi pektin adalah pemilihan pelarut (*solvent*). Pelarut yang digunakan harus memiliki kemampuan interaksi yang kuat dengan bahan yang akan di ekstrak dan dapat melarutkan analit. Molekul polar dan larutan ionik (khususnya asam) akan menyerap energi gelombang mikro dengan kuat akibat adanya momen dipol yang permanen (Afoakwah *et al.*, 2012). Faktor lain yang mempengaruhi keberhasilan ekstraksi menggunakan metode *microwave assisted extraction* adalah ukuran partikel bahan, semakin kecil ukuran partikel (luas permukaan yang besar), maka akan meningkatkan kecepatan penetrasi energi gelombang mikro ke bahan yang diekstrak (Delazar *et al.*, 2012).

Megawati dan Machsunah (2016) melakukan ekstraksi pektin dari kulit pisang kepok menggunakan metode *microwave assisted extraction* dan konvensional. Ekstraksi pektin secara konvensional dilakukan selama 80 menit, sedangkan dengan menggunakan metode *microwave assisted extraction* berlangsung selama 20 menit. Hasil rendemen pektin yang diperoleh dengan metode *microwave assisted extraction* lebih tinggi yakni sebesar 16,53% (b/b kering), sedangkan dengan metode konvensional diperoleh sebesar 12,8% (b/b kering).

Kute *et al.* (2020) melakukan ekstraksi pektin dari bubuk kulit jeruk manis menggunakan metode *microwave assisted extraction* dan konvensional pada penggunaan rasio bahan:pelarut  $\text{HNO}_3$  1M yaitu 1:20 (b/v). Ekstraksi pektin secara konvensional menggunakan *waterbath* berlangsung selama 10 menit pada suhu

80°C, sedangkan dengan menggunakan metode *microwave assisted extraction* (daya sebesar 540 Watt) hanya berlangsung selama 90 detik. Hasil yield yang diperoleh dari metode *microwave assisted extraction* lebih tinggi yakni sebesar 15,79% dibandingkan dengan metode konvensional sebesar 8,78%.

Bagherian *et al.* (2011) melakukan penelitian terhadap perbandingan perolehan yield pektin dari hasil ekstraksi menggunakan metode ekstraksi secara konvensional (menggunakan *waterbath*), *ultrasound assisted extraction*, *microwave assisted extraction* dan kombinasi metode *ultrasound + microwave assisted extraction* dari bubuk kulit *turkish grapefruit* (dapat disamakan dengan jeruk pamelu merah) dengan kondisi rasio bahan:pelarut HCl 0,1 N 1:30 g/ml dan pH 1,5 menunjukkan bahwa metode *ultrasound assisted extraction* (suhu 75°C; waktu sonikasi 25 menit) menghasilkan yield pektin sebesar 17,92% (basis kering) yang lebih tinggi dari perolehan yield pada metode konvensional (suhu 90°C; waktu 90 menit) yakni sebesar 11,3%.

Penggunaan metode *microwave assisted extraction* (daya microwave 0,9 kW; waktu ekstraksi selama 6 menit) menghasilkan perolehan yield sebesar 27,81% dan kadar asam galakturonat sebesar 74,86% yang nilainya lebih tinggi dari penggunaan metode *ultrasound assisted extraction* (yield 17,92%; kadar asam galakturonat 6,21%), energi konsumsi terkait dengan MAE (0,9 kW dan 6 menit) dan *ultrasound assisted extraction* (200 W dan 25 menit) masing-masing 324 dan 300 kJ yang kurang lebih sama, tetapi frekuensi pada *microwave assisted extraction* lebih besar (2450 MHz) daripada *ultrasound assisted extraction* (0,024 MHz) sehingga mempengaruhi kecepatan pemecahan dinding sel tanaman untuk mengeluarkan ekstrak pektin.

Pada ekstraksi pektin dengan kombinasi metode *ultrasound + microwave assisted extraction* dilakukan dengan menggunakan ultrasound sebagai perlakuan pendahuluan atau *pre-treatment* selama 30 menit dan tanpa penambahan HCl 0,1 N lalu dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan microwave dengan bantuan pelarut HCl 0,1 N pada penggunaan daya microwave sebesar 0,45 kW selama 10 menit. Metode ini menghasilkan yield pektin tertinggi yakni 31,88% serta karakteristik nilai derajat esterifikasi yang juga tinggi sebesar 82,61%. Akan tetapi kelemahan dari metode ini adalah peningkatan waktu ekstraksi yang lebih lama.

Tabel 2.2 Hasil Perolehan Yield Pektin dari Berbagai Metode Ekstraksi

| No.               | Bahan Baku                    | Metode Ekstraksi                                | Kondisi Ekstraksi                                | Yield Pektin (%)           | Pustaka                        |
|-------------------|-------------------------------|---|--|----------------------------|--------------------------------|
| 1.                | Kulit Pisang                  | Konvensional<br>( <i>hot plate</i> )            | 1:2 (b/v); 90°C; 30 menit                        | 4,8                        | Maneerat & Tangsuphoom (2017)  |
|                   |                               |   | 1:2 (b/v); 90°C; 120 menit                       | 11                         |                                |
|                   | Kulit Buah Maja               | Konvensional<br>( <i>waterbath</i> )            | 1:1,5 (b/v); 120°C; 60 menit; pH 1,5             | 16,7                       | Maskey <i>et al.</i> (2018)    |
|                   |                               |   | 1:8 (b/v); 70°C; 6 jam                           | 25,26                      |                                |
| Kulit Labu Mangga | Hot plate stirer<br>Sokletasi | 1:8 (b/v); pH 2; 90°C; 1 jam                    | 6,80   | Hamed <i>et al.</i> (2017) |                                |
|                   |                               | 1:8 (b/v); pH 2; 90°C; 1 jam                    | 5,36   |                            |                                |
| 2.                | Kulit Jeruk Manis             | MAE   | <i>Waterbath</i> 1:20 (b/v); 80°C; 10 menit      | 8,78                       | Kute <i>et al.</i> (2020)      |
|                   |                               |   | 1:20 (b/v); 540 W; 90 detik                      | 15,79                      |                                |
| 3.                | Turkish Gapefruit             | <i>Shaker Waterbath</i>                         | 1:30 (b/v); 90°C; 90 menit                       | 11,3                       | Bagherian <i>et al.</i> (2011) |
|                   |                               |   | UAE 1:30 (b/v); 75°C; 25 menit                   | 17,92                      |                                |
|                   |                               | UAE+MAE   | UAE = 1:30 (b/v); 0,9 kW; 6 menit                | 27,81                      |                                |
|                   |                               |   | MAE = 0,45 kW; 10 menit                          | 31,88                      |                                |
| 4.                | Kulit Jeruk Manis             | <i>Hot Plate Stirer</i><br><i>Ohmic Heating</i> | 1:20 (b/v); pH 2; 90°C; 30 menit                 | 13,53                      | Saberian <i>et al.</i> (2017)  |
|                   |                               |   | 1:20 (b/v); pH 2; 50 Hz; 15 V/cm; 90°C; 30 menit | 14,32                      |                                |

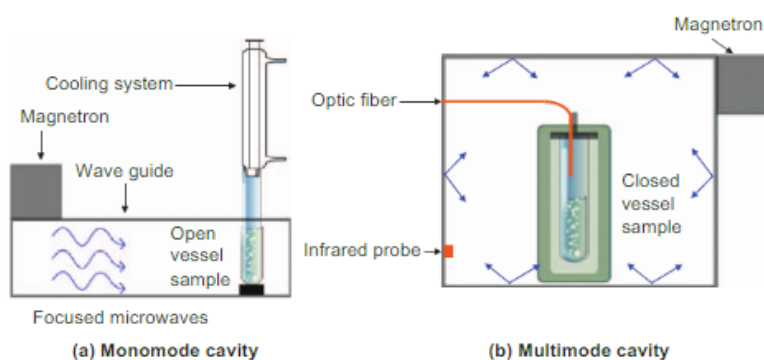
Penggunaan tekanan vakum pada microwave dapat menyebabkan titik didih pelarut lebih rendah dibandingkan pada tekanan udara normal, sehingga ekstraksi dapat dilakukan pada suhu yang lebih rendah. Hal ini dapat mencegah degradasi senyawa yang termosensitif (Chan *et al.*, 2011). Pektin adalah senyawa yang bersifat termolabil, semakin tinggi suhu ekstraksi maka dapat menyebabkan pektin mengalami degradasi (Megawati dan Ulinuha, 2015). Selain itu, karena titik didih pelarut rendah dalam ruang hampa (vakum) maka pelarut mengalami refluks pada suhu yang lebih rendah, sehingga akan meningkatkan mekanisme transfer massa melalui difusi senyawa aktif ke pelarut (Wang *et al.*, 2008).

Microwave dengan sistem *sealed vessel* (*microwave closed vessel*) memiliki kavitas multimode yang mampu menghasilkan frekuensi dengan beberapa mode resonansi untuk memproduksi energi panas. Hal tersebut juga memungkinkan dispersi radiasi gelombang microwave secara acak, sehingga menyebabkan sampel dapat diiradiasi secara merata. Sedangkan, pada *microwave open vessel* hanya memiliki kavitas monomode yang dapat memproduksi satu mode resonansi, dimana sampel ditempatkan pada bidang yang difokuskan untuk menerima gelombang mikro dari *waveguide* (Destandau, Michel, & Elfakir, 2013). Skema bentuk microwave *open* dan *closed vessel* dapat dilihat pada Gambar 2.6

Ekstraksi menggunakan *microwave assisted extraction closed vessel* dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: rasio bahan dan pelarut, suhu, serta waktu ekstraksi. Pelarut yang digunakan hendaknya mempunyai selektivitas tinggi

terhadap analit yang ingin diperoleh. Selain itu, volume pelarut sebaiknya cukup untuk melarutkan bahan selama proses iradiasi gelombang mikro. Karakteristik bahan seperti ukuran partikel dengan luas area permukaan yang besar akan meningkatkan efektivitas penetrasi gelombang mikro.

Suhu berperan dalam menghasilkan efisiensi ekstraksi apabila terjadi peningkatan desorpsi ekstrak dari bahan. Penggunaan suhu lebih tinggi mengakibatkan tegangan permukaan dan viskositas pelarut berkurang, sehingga pelarut memiliki kapasitas yang lebih tinggi untuk melarutkan analit dengan meningkatkan daya pembasahan dan penetrasi pada bahan. Waktu ekstraksi juga berperan dalam peningkatan perolehan jumlah analit, dimana sifat dielektrik pelarut mempengaruhi waktu iradiasi yang dapat membahayakan senyawa termolabil. Sifat dielektrik menunjukkan kemampuan pelarut dalam menyerap gelombang mikro akibat terbentuknya dipol listrik yang sejajar dengan arah gelombang elektromagnetik dari hasil pancaran microwave (Rahmani *et al.*, 2019).



**Gambar 2.6 Skema Microwave Open Vessel dan Closed vessel**  
(Sumber : (Destandau *et al.*, 2013))

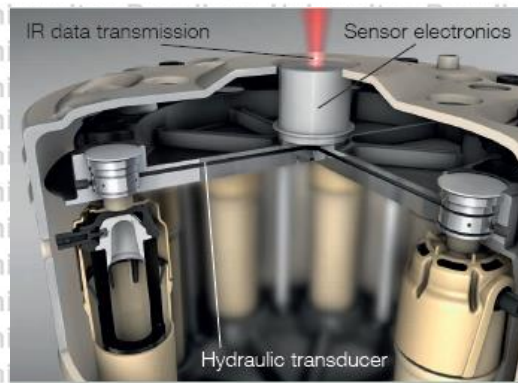
### 2.3 Ekstraksi Metode Microwave Assisted Extraction

*Microwave Assisted Extraction* merupakan instrumen ekstraksi yang memiliki magnetron, *wave guide*, kavitas, dan sirkulator. Magnetron berfungsi untuk menghasilkan gelombang mikro pada frekuensi tetap yaitu 2450 MHz. *Wave guide* berfungsi dalam mentransmisikan gelombang mikro dari magnetron ke dalam kavitas untuk pemanasan gelombang mikro pada bahan. Bahan atau sampel dimasukkan di dalam *vessel* kemudian ditempatkan pada kavitas dan sirkulator digunakan dalam menghomogenkan radiasi gelombang mikro (Destandau *et al.*, 2013).

*Microwave Assisted Extraction* terdiri dari dua jenis sistem gelombang mikro, yakni *closed vessel* dan *open vessel (focussed microwave oven)*. *Microwave assisted extraction open vessel* hanya memiliki sistem kavitas monomode yang mampu menyebabkan satu mode resonansi untuk memancarkan gelombang mikro (Al Mamoori & Al Janabi, 2018). Microwave dengan sistem *sealed vessel (microwave closed vessel)* memiliki kavitas multimode yang mampu menghasilkan beberapa mode resonansi untuk memancarkan gelombang mikro. Gelombang mikro kemudian dipantulkan dari dinding dan didistribusikan secara acak melalui penggunaan *stirrer* atau pengaduk yang menyebabkan sampel memperoleh iradiasi gelombang mikro secara merata. Instrumen microwave jenis *closed vessel* dapat mengakomodasi pemanasan secara elektromagnetik terhadap sejumlah sampel secara simultan.

Ekstraksi menggunakan metode *microwave closed vessel* dilakukan di bawah tekanan atmosfer yang dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan suhu di atas titik didih pelarut, sehingga meningkatkan kecepatan dan efisiensi ekstraksi (Destandau *et al.*, 2013). *Vessel* dilengkapi dengan sebuah sensor inframerah yang terbuat dari *fiber optic*. Sensor terletak di dalam sebuah *vessel* kontrol yang berisi pelarut. Sensor inframerah berfungsi memancarkan energi inframerah untuk mendeteksi suhu bagian dasar dari setiap *vessel* yang mengalami perputaran sebesar  $360^{\circ}$  di dalam ruang kavitas selama ekstraksi. Apabila suhu mengalami peningkatan yang terlalu tinggi, maka akan terjadi pengurangan daya pada microwave, sehingga suhu pada *vessel* tidak melebihi batas yang telah ditetapkan (Lopez-Avila, 2000).

Masing-masing *closed vessel* juga dilengkapi dengan *hydraulic transducer*. *Hydraulic transducer* merupakan bagian dari sensor tekanan yang berfungsi untuk mengkonversi pengukuran tekanan pada tiap *vessel* menjadi sinyal listrik. Jika tekanan terlampaui dari batas yang ditetapkan, maka terjadi juga pengurangan daya microwave dan kemudian mengalami proses pendinginan. Oleh karena itu, *closed vessel* menyediakan sistem dengan kontrol kondisi ekstraksi pada suhu dan tekanan yang terkendali, seperti yang terlihat pada Gambar 2.7.



**Gambar 2.7 Sealed Vessel pada Microwave**

(Sumber : Anton Paar, 2019)

*Microwave open vessel* memiliki sistem kavitas monomode. Kavitas monomode menghasilkan frekuensi yang hanya dapat menjalankan satu mode resonansi untuk memancarkan gelombang mikro pada sebuah vessel dalam suatu waktu, dimana sampel ditempatkan pada bidang yang difokuskan untuk menerima gelombang mikro dari magnetron (Destandau *et al.*, 2013). Metode ekstraksi dengan *microwave open vessel* dilakukan pada tekanan atmosfer sehingga suhu maksimum ekstraksi ditentukan oleh titik didih pelarut pada tekanan tersebut. Metode *microwave assisted extraction open vessel* memiliki sistem pendingin atau kondensor yang berfungsi dalam mencegah evaporasi pelarut melalui mekanisme kondensasi, sehingga mampu mengembalikan pelarut tersebut ke larutan untuk mendesorpsi analit dari sampel. Kondensasi menyebabkan terjadinya pengurangan volume uap menjadi cairan yang menciptakan kondisi vakum di dalam kondensor (Pineiro *et al.*, 2013). Penggunaan tekanan vakum pada microwave dapat menyebabkan titik didih pelarut lebih rendah dibandingkan pada tekanan udara normal, sehingga ekstraksi dapat dilakukan pada suhu yang lebih rendah. Hal ini dapat mencegah terjadinya degradasi senyawa yang bersifat termosensitif (Chan, Yusoff, Ngoh, & Kung, 2011).

Pektin bersifat termolabil, semakin tinggi suhu ekstraksi maka dapat menyebabkan pektin mengalami degradasi (Megawati & Ulinuha, 2014). Selain itu, karena titik didih pelarut rendah dalam ruang hampa (vakum) maka pelarut mengalami refleks pada suhu yang lebih rendah, sehingga akan meningkatkan mekanisme transfer massa melalui difusi senyawa aktif ke pelarut (Wang, Xiao, & Li, 2008). Skema alat microwave *open* dan *closed vessel* dapat dilihat pada Gambar 2.8, sedangkan perbedaan antara microwave *open* dan *closed vessel* ditampilkan pada Tabel 2.3

Tabel 2.3 Perbedaan antara Microwave *Open Vessel* dan *Closed Vessel*

|            | Microwave Open Vessel   | Microwave Closed Vessel  |
|------------|---|--|
| Kelebihan  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dioperasikan pada tekanan atmosfer</li> <li>• Tidak memerlukan pendinginan pada vessel.</li> <li>• Vessel dapat terbuat dari berbagai bahan seperti: <i>glass</i> dan <i>quartz</i> yang mampu menangani sampel dalam jumlah besar.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dioperasikan di bawah tekanan atmosfer</li> <li>• Suhu dan tekanan terkontrol, dimana dapat terjadi peningkatan suhu dan tekanan di dalam vessel yang akibatkan penurunan waktu ekstraksi.</li> <li>• Mampu mengekstraksi beberapa sampel secara simultan.</li> </ul> |
| Kekurangan | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Suhu tidak dapat dikontrol.</li> <li>• Waktu ekstraksi lebih lama.</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vessel perlu didinginkan sebelum dapat dibuka untuk keamanan dan menghindari hilangnya senyawa volatil.</li> </ul>  |

Sumber: Mandal *et al.* (2007)

Ekstraksi menggunakan metode *microwave assisted extraction* dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: rasio bahan dan pelarut, suhu, serta waktu ekstraksi. Pelarut yang digunakan harus memiliki kemampuan interaksi yang kuat dengan bahan dan dapat melarutkan analit. Volume pelarut juga harus cukup untuk melarutkan bahan selama proses iradiasi gelombang mikro. Molekul polar dan larutan ionik (khususnya asam) pada pelarut atau bahan akan menyerap energi gelombang mikro dengan kuat akibat adanya momen dipol permanen (Afoakwah, Owusu, Adomako, & Teye, 2012).

Karakteristik bahan yang akan diekstrak seperti ukuran partikel dengan luas area permukaan yang besar akan meningkatkan efektivitas penetrasi energi gelombang mikro pada bahan yang diekstrak (Delazar, Nahar, Hamedeyazdan, & Sarker, 2012). Suhu mampu menghasilkan efisiensi ekstraksi apabila terjadi peningkatan desorpsi ekstrak dari bahan. Penggunaan suhu tinggi mengakibatkan tegangan permukaan dan viskositas pelarut berkurang, sehingga pelarut diharapkan memiliki kapasitas yang lebih tinggi untuk melarutkan analit dengan cara meningkatkan daya pembasahan dan penetrasi pada bahan.

Peningkatan waktu ekstraksi mampu menghasilkan perolehan yield yang tinggi, tetapi juga dapat membahayakan senyawa termolabil apabila menggunakan pelarut dengan sifat dielektrik yang baik. Sifat dielektrik menunjukkan kemampuan pelarut dalam menyerap gelombang mikro akibat terbentuknya dipol listrik yang sejajar dengan arah gelombang elektromagnetik pada microwave (Rahmani, Khodaiyan, Kazemi, & Sharifan, 2019).



Guolin *et al.* (2012) melakukan optimasi ekstraksi pektin dari kulit lemon menggunakan microwave jenis *closed vessel* dengan batas rasio bahan:pelarut 1:15 (b/v) – 1:25 (b/v), suhu ekstraksi 65°C – 85°C, dan waktu ekstraksi selama 6 - 10 menit. Jenis pelarut ionik yang dipakai adalah 1-butyl-3-methyl imidazolium chloride ([Bmim]Cl) yang mampu melarutkan pektin secara efektif dan efisien untuk menghasilkan yield pektin tertinggi, pada konsentrasi 1 mol/L dengan perolehan yield pektin sebesar 21,6%. Hasil penelitian mengenai optimasi dengan rasio bahan : pelarut yakni 1:25 (b/v), suhu ekstraksi 85°C, dan waktu ekstraksi selama 10 menit menghasilkan yield pektin sebesar 24,45%, sedangkan pada penggunaan rasio bahan:pelarut sebesar 1:15 (b/v), suhu ekstraksi 65°C, dan waktu ekstraksi selama 6 menit menghasilkan yield pektin sebanyak 15,48%. Kondisi optimum diperoleh pada penggunaan rasio bahan:pelarut sebanyak 1:22.7 (b/v), suhu ekstraksi 88°C, dan waktu ekstraksi selama 9,6 menit mampu menghasilkan yield pektin sebesar 24,68%.

Košťálová *et al.* (2016) melakukan optimasi ekstraksi pektin dengan metode *microwave assisted extraction closed vessel*. Bahan yang digunakan adalah labu kuning. Level dan faktor dalam optimasi ekstraksi yaitu rasio bahan:pelarut 1:30 (b/v) – 1:50 (b/v), suhu ekstraksi 80°C – 120°C serta waktu ekstraksi selama 2 - 10 menit. Hasil penelitiannya menyatakan bahwa ekstraksi pektin dari labu kuning dengan menggunakan rasio bahan:pelarut 1:30 (b/v), suhu ekstraksi 80°C serta waktu ekstraksi selama 6 menit mampu menghasilkan yield pektin 3,8%, peningkatan rasio bahan:pelarut sebesar 1:50 (b/v), suhu ekstraksi 80°C, dan waktu ekstraksi selama 6 menit menyebabkan perolehan yield pektin mengalami kenaikan sebesar 5,8%.

Sementara itu, penggunaan rasio bahan:pelarut sebesar 1:40 (b/v), suhu ekstraksi 80°C, dan waktu ekstraksi selama 10 menit hanya menghasilkan yield pektin 4,9%, kondisi optimum diperoleh pada penggunaan rasio bahan:pelarut 1:50 (b/v), suhu ekstraksi 102,2°C, dan waktu ekstraksi selama 10 menit mampu menghasilkan yield pektin sebesar 7,1%. Hasil perolehan yield pektin dari berbagai kondisi ekstraksi menggunakan *microwave assisted extraction closed vessel* dapat dilihat pada Tabel 2.4

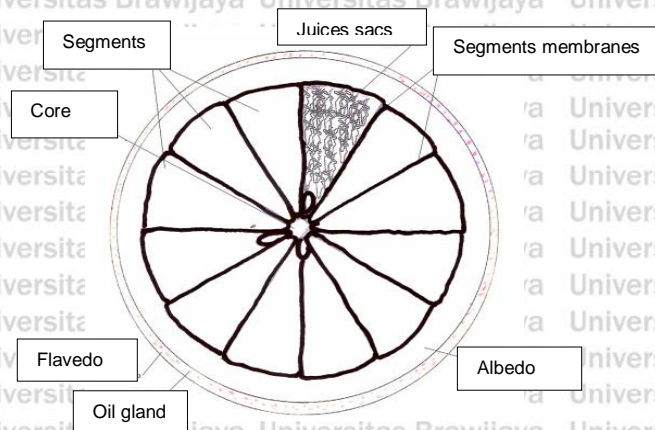
**Tabel 2.4 Hasil Perolehan Yield Pektin dari Berbagai Kondisi Ekstraksi Menggunakan *Microwave Assisted Extraction Closed vessel***

| No | Bahan Baku  | Rasio bahan:pelarut (b/v) | Suhu (°C) | Waktu (menit) | Yield Pektin (%) | Pustaka                        |
|----|-------------|---------------------------|-----------|---------------|------------------|--------------------------------|
|    |             |                           |           |               |                  |                                |
| 1. | Kulit Lemon | 1 : 25                    | 85        | 10            | 24,45            | Guolin <i>et al.</i> , 2012    |
|    |             | 1 : 15                    | 65        | 6             | 15,48            |                                |
| 2. | Labu Kuning | 1 : 30                    | 80        | 6             | 3,8              | Kostalova <i>et al.</i> , 2016 |
|    |             | 1 : 50                    | 80        | 6             | 5,8              |                                |

#### 2.4 Kulit Jeruk Manis Varietas Pacitan (*Citrus sinensis L. Osbeck*)

Kulit jeruk merupakan bagian dari buah jeruk yang berfungsi sebagai pelindung inti buah. Kulit jeruk terdiri atas dua bagian utama yaitu *epicarp* (flavedo) dan *mesocarp* (albedo). *Epicarp* (flavedo) merupakan bagian yang memberikan zat warna (pigmen) pada kulit jeruk, identik dengan adanya zat warna hijau (klorofil), kuning atau orange (karotenoid). Pada bagian flavedo terdapat kelenjar minyak (*oil gland*) yang mengandung senyawa D-limonene, dengan persentase sebesar 95% dari total kandungan kelenjar minyak dalam buah jeruk matang (Rodríguez *et al.*, 2018). *Mesocarp* (albedo) merupakan jaringan seperti spon berwarna putih yang kaya akan kandungan pektin yaitu sebesar 73% dari berat kering. Pada bagian flavedo juga memiliki kandungan pektin sebesar 27% dari berat kering (Liu, Shi, & Langish, 2006).

Albedo tidak memiliki kloroplas ataupun kromoplas, sehingga bagian ini berwarna putih. Albedo mempunyai fungsi dalam mensuplai air dan nutrisi dari pohon untuk pertumbuhan dan perkembangan buah. Pada buah jeruk terdapat bagian utama yang disebut sebagai *endocarp*. *Endocarp* terbagi secara radial menjadi beberapa segmen yang dibatasi tiap segmennya oleh membran. Segmen berada di sekitar inti (*core*) dan diisi dengan sejumlah vesikel atau "jus sel" yang masing-masing terkandung dalam "kantong jus" (*juice sac*) (Berk, 2016). Anatomi buah jeruk dapat dilihat pada Gambar 2.8



**Gambar 2.8 Anatomi Buah Jeruk**  
(Sumber : Berk, 2016)

Produktivitas jeruk manis pacitan sebesar 40-60 kg/pohon/tahun (Kementan, 2019). Umumnya produksi jeruk manis ditujukan untuk industri pembuatan sari buah atau jus jeruk yang menyebabkan timbulnya limbah kulit buah dengan karakteristik ketebalan kulit sebesar 6,20 mm – 7,75 mm (Balitjestro, 2019). persentase limbah kulit buah jeruk yang dihasilkan berkisar antara 40-45% dari berat buah (Kute *et al.*, 2020). Komposisi kandungan senyawa kimia dalam kulit jeruk manis disajikan pada Tabel 2.5 yang menjadikannya sebagai sumber pektin.

**Tabel 2.5 Komposisi Kulit Jeruk Manis (Persentase dalam Basis Kering)**

| Komposisi                                 | Kadar (%) |
|---|-----------|
| Gula larut (sukrosa, glukosa, fruktosa)   | 16,9      |
| Pati                                      | 3,75      |
| Serat                                     |           |
| Selulosa                                  | 9,21      |
| Hemiselulosa                              | 10,5      |
| Lignin                                    | 0,84      |
| Pektin                                    | 42,5      |
| Abu                                       | 3,50      |
| Lemak                                     | 1,95      |
| Protein                                   | 6,50      |
| Senyawa lain (asam organik dan vitamin C) | 4,35      |

Sumber : (Rivas *et al.*, 2008)

Kalonika (2018) melakukan penelitian mengenai optimasi ekstraksi pektin pada kulit jeruk manis pacitan dengan metode *microwave assisted extraction open vessel* yang dilengkapi dengan kondensor dan pompa vakum. Kondensor berfungsi untuk mengkondensasikan uap menjadi cairan, sehingga menyebabkan terjadinya pengurangan volume uap dan menciptakan kondisi vakum, sedangkan

pompa vakum berfungsi dalam membantu pengeluaran uap yang tidak terkondensasi untuk meningkatkan efektivitas kondensasi.

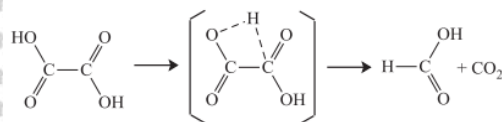
Penelitian tersebut menggunakan variabel konsentrasi asam oksalat (0,10%; 0,20%; 0,30% v/v) dan waktu ekstraksi (5 menit; 15 menit; 25 menit). Variabel digunakan untuk menghasilkan respon total pektin dan tingkat kecerahan pektin yang optimal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa solusi untuk kondisi optimum ekstraksi yang disarankan oleh *software Design Expert* sebagai prediksi terhadap total pektin dan tingkat kecerahan pektin yakni pada penggunaan konsentrasi asam oksalat sebesar 0,21% v/v dan waktu ekstraksi selama 12,52 menit yang menghasilkan nilai *desirability* sebesar 0,786.

## 2.5 Asam Oksalat

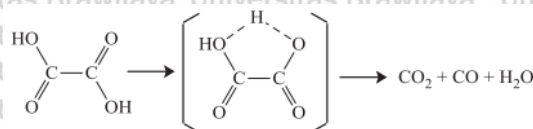
Penggunaan asam oksalat pada ekstraksi pektin berfungsi sebagai pelarut untuk ekstraksi pektin yang memfasilitasi hidrolisis pektin, dimana ion  $H^+$  dari larutan asam dapat melepaskan ikatan protopektin dengan senyawa lain (hemiselulosa, lignin, dan selulosa) dalam dinding sel tanaman sehingga terbentuk pektin yang larut dalam air (Banerjee, Ranganathan, Arora, Macfarlane, & Patti, 2016). Substansi penyusun pektin terbagi atas 3 jenis, yakni protopektin, asam pektinat, dan asam pektat. Protopektin ditemukan dalam buah-buahan yang belum matang dan merupakan polimer asam galakturonat yang dimetilasi. Senyawa ini tidak mampu membentuk gel dan tidak larut di dalam air, tetapi dapat dikonversi menjadi pektin yang dapat larut dalam air melalui pemanasan.

Asam pektinat atau sering disebut pektin adalah bentuk metilasi asam galakturonat yang berasal dari hidrolisis enzimatis protopektin pada buah yang matang oleh *protopectinase*. Asam pektinat dapat terdispersi di dalam air dan dapat membentuk gel. Asam pektat merupakan hasil depolimerisasi dan demetilasi asam pektinat oleh enzim *polygalacturonase* dan *pectinesterase*. Senyawa ini tidak mampu membentuk gel dan umumnya terdapat pada buah yang terlalu matang (Vaclavik & Christian, 2003).

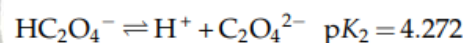
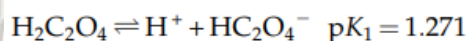
Asam oksalat adalah senyawa organik yang memiliki rumus kimia  $C_2H_2O_4$ . Asam oksalat merupakan turunan asam karboksilat yang berbentuk padatan kristal putih dan tidak berwarna dalam air. Pemanasan terhadap larutan asam oksalat pada suhu  $50^\circ C$  akan menghasilkan pembentukan asam format dan karbon dioksida (Strassburger & Torgesen, 1963) dengan mekanisme reaksi sebagai berikut :



Setelah pemanasan lebih lanjut, asam format terurai menjadi karbon monoksida dan air (Moldoveanu, 2019) yang ditunjukkan melalui mekanisme berikut :

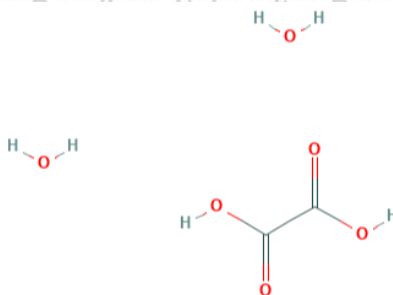


Kekuatan asam oksalat pada larutan lebih besar dibandingkan dengan asam asetat, asam sitrat, dan asam tartarat. Hal ini dikarenakan asam oksalat memiliki derajat kelarutan (disosiasi) asam yakni sebesar 1,271 dan 4,272 yang terdapat pada masing-masing dua atom hidrogen asam, sehingga disebut sebagai asam lemah diprotik (Qi, 2018). Dalam larutan air, keseimbangan disosiasi asam oksalat dapat dinyatakan sebagai berikut :



Asam oksalat juga merupakan agen pengkelat logam yang dapat bergabung dengan ion logam  $\text{Ca}^{2+}$  dalam asam pektat untuk mengubah pektin yang tidak larut dalam air menjadi pektin terlarut. Penggunaan konsentrasi asam oksalat yang tinggi menyebabkan penurunan pH larutan untuk menghidrolisis pektin yang juga dapat mendegradasi rantai homogalacturonan non-dimetilasi serta rantai samping rhamnogalacturonan I (RGI) yakni arabinosa, galaktosa, dan rhamnosa, sehingga berpengaruh pada penurunan perolehan yield pektin (Kaya, Sousa, Crépeau, Sørensen, & Ralet, 2014).

Turakhozhaev (1994) dan Peng *et al.* (2020) mengungkapkan efektivitas ekstraksi pektin dapat dicapai pada penggunaan konsentrasi larutan asam organik sebesar 0,2%-2%. asam oksalat di pasaran tersedia dalam bentuk dihidrat ( $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) dengan berat molekul 126,07 g/mol dan densitas sebesar 1,653 g/cm<sup>3</sup> pada suhu 17°C. Struktur asam oksalat *dihydrate* dapat dilihat pada Gambar 2.9 berikut ini.



**Gambar 2.9 Struktur Asam Oksalat Dihydrate**  
(Sumber : PubChem, 2005)

## 2.6 Surfaktan

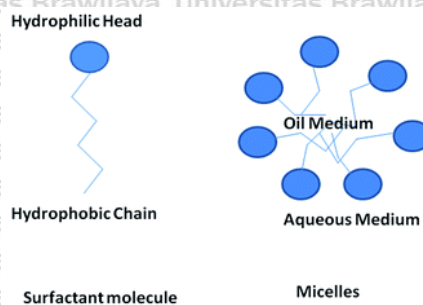
Surfaktan adalah molekul yang memiliki struktur unik yang terdiri dari gugus hidrofilik (*water-loving*) dan gugus hidrofobik (*water-fearing*). Bagian hidrofilik biasanya disebut sebagai "kepala" yang lebih suka mengelilingi molekul polar, sedangkan bagian hidrofobik biasanya disebut sebagai "ekor" yang cenderung berorientasi pada molekul cairan ataupun gas yang bersifat non-polar. Bagian ekor biasanya terdiri dari rantai hidrokarbon, sedangkan bagian kepala terdiri dari gugus hidroksil yang dapat bersifat ionik, non-ionik, atau zwitterionik (Mulqueen, 2001).

Ikatan kovalen antara bagian kepala dan ekor menjadikan molekul yang berbeda afinitas ini tetap bersama (molekul amphifilik), sehingga mengarah pada perilaku unik dan menarik yang ditunjukkan oleh surfaktan di dalam larutan air. Ketika surfaktan ditempatkan dalam air yang bersentuhan dengan udara, maka mereka akan bermigrasi ke permukaan air udara dengan ekor hidrofobik yang cenderung ke udara dan kepala hidrofilik terbenam di dalam air.

Demikian pula ketika surfaktan ditempatkan dalam sistem yang mengandung air dan hidrokarbon, surfaktan akan berkumpul pada permukaan air atau hidrokarbon, dimana ekor hidrofobik mereka yang sekarang berada di fase hidrokarbon. Oleh karena itu, dengan adanya penambahan surfaktan dalam larutan akan menyebabkan turunnya tegangan permukaan atau antarmuka pada larutan. Setelah mencapai konsentrasi tertentu, tegangan permukaan akan mengalami konstan meskipun konsentrasi surfaktan ditingkatkan.

Apabila surfaktan ditambahkan melebihi konsentrasi, maka surfaktan akan mengagregasi serta membentuk misel. Konsentrasi terbentuknya misel disebut dengan *Critical Micelle Concentration* (CMC). Tegangan permukaan akan menurun hingga CMC tercapai. Setelah CMC tercapai, tegangan permukaan akan konstan yang menunjukkan bahwa antarmuka menjadi jenuh dan terbentuk misel

yang berada dalam keseimbangan dinamis dengan monomer surfaktan. Di atas kondisi CMC, semua surfaktan berlebih berada dalam bentuk misel (Moorkanikkara, 2007) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.10



**Gambar 2.10 Molekul Surfaktan dan Formasi Misel**

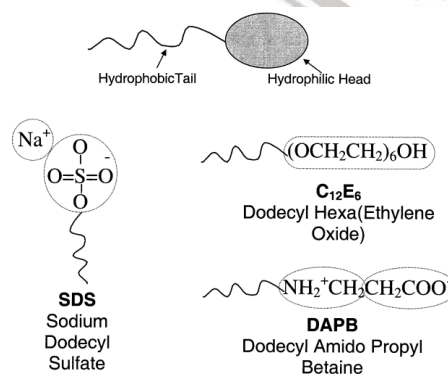
(Sumber : Dutt *et al.*, 2017)

Berdasarkan jenis muatan pada gugus hidrofilik, surfaktan diklasifikasikan menjadi surfaktan ionik (anion dan kation), non-ionik, dan zwitterionik (Myers, 2006) yang dapat dilihat pada Gambar 2.11

- Surfaktan anionik, merupakan surfaktan yang gugus hidrofiliknya bermuatan negatif dan umumnya terikat dengan ion natrium ( $\text{Na}^+$ ), contohnya: *linear alkyl benzene sulphonate* dan *alkyl ethoxylated sulfate* (*sodium lauryl sulfate* atau *sodium dodecyl sulfate*; *sodium laureth sulfate* atau *sodium lauryl ether sulfate*). Aplikasi surfaktan anionik di dunia yakni sebesar 39% (Wolowicz, Staszak, & Hubicki, 2019) yang digunakan sebagai bahan pembusa (*foaming agent*) pada produk pembersih rumah tangga (deterjen) serta produk perawatan diri atau *personal care product* (sabun, *shampoo*, pasta gigi).
- Surfaktan kationik, merupakan surfaktan yang gugus hidrofiliknya bermuatan positif dan umumnya terikat dengan ion klorin ( $\text{Cl}^-$ ), contohnya: *dimethyl dioctadecyl ammonium chloride* atau *distearyl dimethyl ammonium chloride*; *cetyl trimethyl ammonium bromide*; dan *triethylamine hydrochloride*. Penggunaan surfaktan kationik di dunia yaitu sebesar 14% yang dijadikan sebagai bahan pelembut pada pakaian (*fabric softener*) dan produk perawatan rambut (*conditioner*); sebagai agen bakterisida yang mampu menarik muatan negatif pada biomembran sel prokariotik; sebagai bahan penghambat korosi; dan sebagai bahan antiseptik.
- Surfaktan non-ionik, merupakan surfaktan yang gugus hidrofiliknya tidak bermuatan, sehingga tidak akan mengalami ionisasi dalam larutan. Jenis gugus hidrofilik dapat berupa alkohol, phenol, eter, ester, atau amida (Shah, Niraula,

Bhattacharai, & Chatterjee, 2012). Contoh surfaktan non-ionik adalah *alcohol ethoxylates*; *alkyl phenol ethoxylates*; *poly oxyethylene glycol fatty acid ether*; *sorbitan ester ethoxylates* (*polysorbate* atau *tween*); dan *diethanolamide*. aplikasi surfaktan non-ionik di dunia yakni sebesar 37% yang digunakan sebagai bahan pembersih pada deterjen; sebagai *emulsifier* pada perlengkapan medis (salep), pada produk pangan (es krim dan *whipped cream*); dan pada kosmetik (krim wajah dan *body lotion*).

- Surfaktan zwitterionik atau amfoterik, merupakan surfaktan yang gugus hidrofiliknya terdiri dari muatan positif dan negatif, dimana mengandung senyawa N-alkyl betain, contohnya *cocamido propyl betaine*. Aplikasi surfaktan zwitterionik di dunia yaitu sebesar 10% yang digunakan sebagai bahan pembersih pada shampoo dan sabun khusus bayi.



**Gambar 2.11 Jenis Surfaktan Ionik, Non-ionik, dan Zwitterionik**

(Sumber : Moore, 2002)

## 2.7 Novel Surfactant

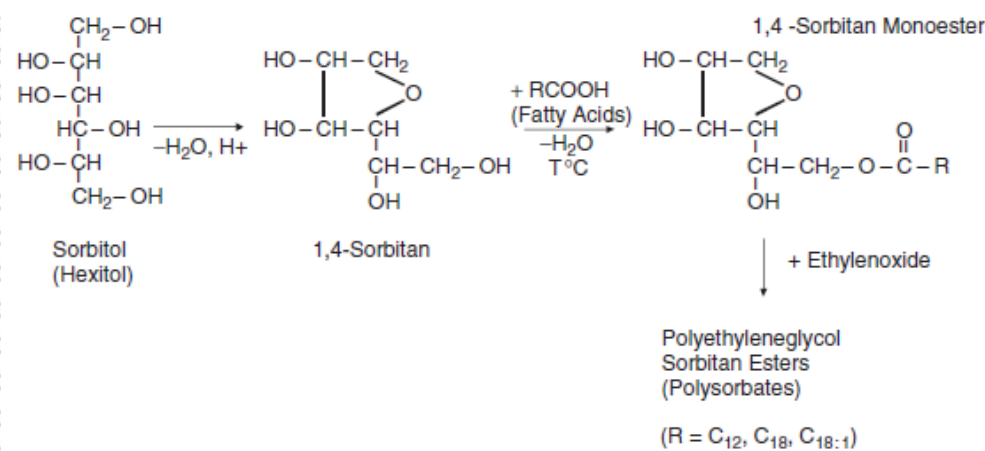
Tantangan utama bagi produsen surfaktan adalah memformulasikan bahan baku produk yang ramah lingkungan, tidak beracun dan tidak mudah terbakar untuk meningkatkan keselamatan pekerja serta meminimalkan biaya pembuangan limbah (Sivaramakrishnan, 2013). Hal ini dapat dilakukan dengan menciptakan formulasi produk surfaktan terbaru (*novel surfactant*) yang berasal dari bahan baku terbarukan (*renewable resource*) dan ramah lingkungan (*biodegradable*).

Umumnya, surfaktan jenis ini diperoleh dari bahan baku terbarukan pada salah satu bagian sisi hidrofilik maupun hidrofobik molekulnya (Lukic, Pantelic, & Savic, 2016).



Surfaktan berbasis karbohidrat merupakan jenis produk surfaktan dengan konsep penggunaan sumber daya alam dan terbarukan yakni polisakarida sebagai penyusun bagian hidrofilik pada molekul surfaktan. Surfaktan jenis ini banyak digunakan pada industri pangan yaitu *sorbitan ester* dan produk turunan etoksilatnya (*polysorbate*). *Sorbitan ester* dengan nama komersial *Span* dan produk turunan etoksilatnya (nama komersial *Tween*) tergolong jenis surfaktan non-ionik. *Sorbitan ester* diproduksi dengan cara mendehidrasi sorbitol menggunakan bantuan asam *sodium dihydrogen phosphite* ( $\text{NaH}_2\text{PO}_3$ ) untuk membentuk 1,4-sorbitan yang kemudian dilanjutkan dengan esterifikasi menggunakan asam lemak pada temperatur tinggi ( $200^\circ\text{C}$ - $250^\circ\text{C}$ ) dengan bantuan katalis pottasium karbonat ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ).

Sorbitol diproduksi dari glukosa melalui proses hidrogenasi katalitik menggunakan katalis nikel raney pada temperatur  $120^\circ\text{C}$ - $150^\circ\text{C}$ . Jika satu mol asam lemak direaksikan dengan satu mol sorbitol, maka akan menghasilkan sorbitan mono-ester. Gugus -OH bebas dalam molekul sorbitan dapat diesterifikasi dan menghasilkan di- dan tri-ester. Berdasarkan jenis dan jumlah asam lemak yang digunakan, maka akan menghasilkan komposisi campuran ester mono-, di-, atau tri-sorbitan (misalnya laurat, oleat atau stearat) dengan nilai keseimbangan hidrofilik-lipofilik (*hydrophilic-lipophilic balance* atau HLB) berkisar antara 1-8. Untuk memodifikasi jenis surfaktan yang relatif hidrofobik ini, maka dilakukan derivatisasi *sorbitan ester* melalui reaksi dengan etilen oksida pada gugus hidroksil yang tersisa untuk menghasilkan *sorbitan ester* teretoksilasi (*polysorbate* atau *Tween*), sehingga memiliki kisaran nilai HLB sebesar 10-17 (Hill, 2010). Reaksi pada sintesis *span* dan *tween* ditunjukkan oleh Gambar 2.12



**Gambar 2.12 Sintesis Sorbitan Ester (*Span*) dan Polysorbate (*Tween*)**

(Sumber : Hill, 2010)

Aplikasi *sorbitan ester* (*Span*) dan *polysorbate* (*Tween*) pada industri pangan yakni digunakan sebagai pengemulsi (*emulsifier*). *Sorbitan ester* memiliki nilai HLB yang rendah, sehingga biasanya digunakan sebagai pengemulsi pada sistem emulsi air dalam minyak (*water-in-oil*). Sedangkan, pengemulsi jenis *polysorbate* memiliki nilai HLB yang relatif tinggi yang digunakan dalam sistem emulsi minyak dalam air (*oil-in-water*). Nilai HLB produk *sorbitan ester* (*span*) dan *polysorbate* (*tween*) dapat dilihat pada Tabel 2.6

**Tabel 2.6 Jenis Produk Sorbitan Ester dan Polysorbate**

| Jenis Surfaktan | Nama Kimiawi                                  | Nama Komersial | Nilai HLB |
|-----------------|---|----------------|-----------|
| Sorbitan Ester  | <i>Sorbitan monolaurate</i>                   | Span 20        | 8,6       |
|                 | <i>Sorbitan monopalmitate</i>                 | Span 40        | 6,7       |
|                 | <i>Sorbitan monostearate</i>                  | Span 60        | 4,7       |
|                 | <i>Sorbitan tristearate</i>                   | Span 65        | 2,1       |
|                 | <i>Sorbitan monooleate</i>                    | Span 80        | 4,3       |
|                 | <i>Sorbitan trioleate</i>                     | Span 85        | 1,8       |
|                 | <i>Polyoxyethylene sorbitan monolaurate</i>   | Tween 20       | 16,7      |
| Polysorbate     | <i>Polyoxyethylene sorbitan monopalmitate</i> | Tween 40       | 15,6      |
|                 | <i>Polyoxyethylene sorbitan monostearate</i>  | Tween 60       | 14,9      |
|                 | <i>Polyoxyethylene sorbitan tristearate</i>   | Tween 65       | 10,5      |
|                 | <i>Polyoxyethylene sorbitan monooleate</i>    | Tween 80       | 15,0      |

Sumber : (Tadros, 2005)

Modifikasi suatu produk polimer alami bertujuan untuk meningkatkan karakteristik hidrofobik atau hidrofilik, sehingga memiliki struktur amphifilik yang disebut sebagai surfaktan polimerik tergolong dalam jenis *novel surfactant*.

Umumnya, polimer yang digunakan merupakan polimer larut air (polisakarida, seperti *carboxymethyl cellulose*, dextran, inulin, dan pektin) yang kemudian dimodifikasi secara hidrofobik dengan cara menambahkan gugus hidrofobik.

Adanya bagian hidrofobik dalam struktur polimer yang larut air tersebut akan mempengaruhi karakteristik sifat antarmuka, dimana dapat menurunkan tegangan antarmuka pada sistem emulsi air-minyak (Raffa *et al.*, 2015; Raffa *et al.*, 2016)

Walstra (2003) mengelompokkan surfaktan ke dalam 2 jenis, yaitu:

- Molekul amphifilik (sering juga disebut sebagai surfaktan) merupakan jenis surfaktan yang memiliki berat molekul rendah yakni umumnya kurang dari 1 KDa. Sifat amphifilik pada surfaktan disebabkan adanya gugus polar dan non-polar yang mampu mengurangi tegangan permukaan dan antarmuka ketika surfaktan terakumulasi pada konsentrasi yang rendah dalam sistem udara-air dan sistem minyak-air. Oleh karena itu, molekul amphifilik berperan penting

sebagai *emulsifier* (pengemulsi), *wetting agent* (agen pembasah), dan *foaming agent* (agen pembusa) pada beberapa aplikasi produk pangan, kosmetik, obat-obatan, serta produk pembersih rumah tangga.

- Polimer amphifilik (sering juga disebut sebagai surfaktan polimerik) merupakan makromolekul surfaktan yang memiliki berat molekul besar yakni umumnya lebih besar dari 10 KDa. Surfaktan polimerik mampu menurunkan tegangan permukaan antara air-minyak dan meningkatkan viskositas emulsi yang dapat menyebabkan pergerakan fase terdispersi (droplet) menjadi terbatas, sehingga terjadi kestabilan emulsi. Hal ini dikarenakan oleh adanya bagian polimer pada struktur surfaktan.

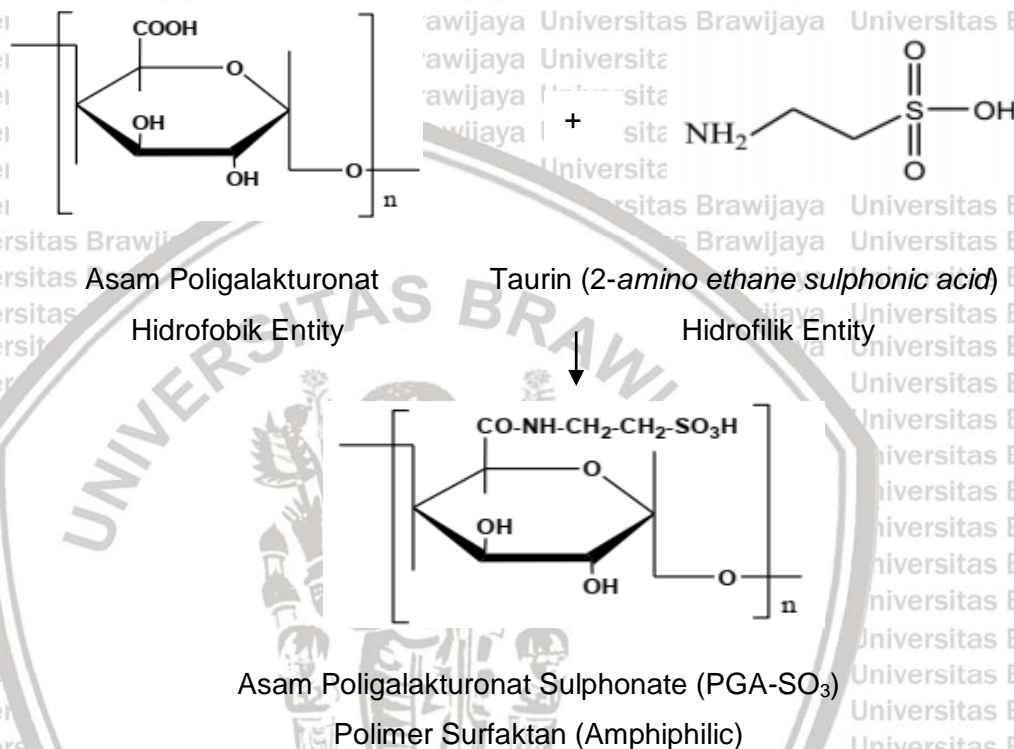
## 2.8 Mekanisme Sintesis Surfaktan Melalui Modifikasi Hidrofilik

Surfaktan polimerik adalah polimer yang memiliki karakteristik surfaktan dengan adanya bagian hidrofilik dan hidrofobik dalam struktur molekulnya. Pektin merupakan polimer karbohidrat yang dapat disintesis menjadi surfaktan polimerik melalui modifikasi secara hidrofobik pada struktur molekul pektin yang hidrofilik (memiliki sejumlah gugus hidroksil atau -OH) (Zouambia, Moulai-Mostefa, & Krea, 2009). Metode ini diawali dengan penyediaan polisakrida yang memiliki struktur tulang punggung terdiri dari sejumlah unit monomer, setiap unit monomer memiliki gugus karboksilat dan gugus hidroksil kemudian mereaksikan dengan entitas hidrofilik agar dapat menggantikan gugus karboksilat dari polisakarida.

*Taurin* (2-amino ethane sulfonic acid) merupakan bahan yang bersifat *non toxic* dan dapat digunakan untuk modifikasi atau melampirkan entitas hidrofilik pada polisakarida yang tidak larut dalam air (Nagarajan, 2012; Shao & Hathcock, 2008). Modifikasi dilakukan dengan menggunakan zat penghubung (*coupling agent*) atau menggunakan iradiasi gelombang mikro tanpa penambahan zat penghubung (*coupling agent*). Iradiasi gelombang mikro diharapkan secara signifikan dapat mempersingkat waktu reaksi dan menghilangkan kebutuhan zat penghubung dalam sintesis surfaktan nonionik. Penggunaan *microwave assisted* dalam sintesis surfaktan pada suhu 70 - 120°C selama 15 - 45 menit diperoleh yield sebesar 80% dan derajat amidasi 10,82% (Mohd Aris et al., 2017).

Gugus amina dari taurin memungkinkan untuk berikatan dengan gugus asam karboksilat dari asam poligalakturonat (PGA), hal ini menyebabkan terbentuknya gugus amida yang stabil. Reaksi dilakukan pada suhu kamar dalam media larutan, sehingga meminimalkan penggunaan pelarut organik yang kuat.

Asam poligalakturonat (PGA) bersifat tidak larut dalam air (*water insoluble*), disebabkan adanya ikatan hidrogen rantai antarmolekul yang kuat, pengikatan gugus asam sulfonat yang terikat secara kovalen dengan polisakarida menjadikan polisakarida yang dimodifikasi, lebih larut dalam berbagai kondisi pH. Selain itu, surfaktan berbasis amida memiliki ketahanan yang sangat baik terhadap hidrolisis oleh asam atau basa (Stjerdahl & Holmberg, 2005; Fernández-Pérez & Otero, 2001).



**Gambar 2.13 Skematik Sintesis Surfaktan Polimerik Amphifilik berbasis Asam Poligalakturonat dan Taurin dalam *Microwave Assisted System***

(Sumber : Nagarajan, 2019)

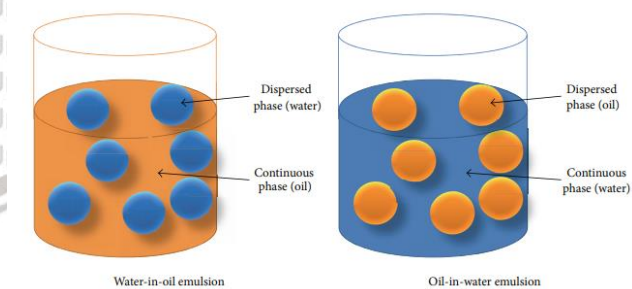
## 2.9 Aplikasi Surfaktan pada Pembentukan Emulsi

Emulsi merupakan sistem dispersi yang terdiri dari dua cairan yang secara alami tidak saling melarutkan, dimana droplet cairan (fase terdispersi) tersebar di dalam media cairan pendispersi (fase kontinyu). Emulsi dibedakan menjadi dua, yakni: *oil-in-water* (o/w), dimana emulsi ini memiliki fase terdispersi berupa minyak yang terdistribusi dalam bentuk butiran-butiran kecil (droplet) di dalam fase kontinyu yang berupa air; dan *water-in-oil* (w/o), dimana emulsi ini mengandung air yang merupakan fase terdispersinya dan minyak sebagai fase pendispersinya.

Kedua konsep emulsi tersebut disajikan pada Gambar 2.13

Untuk mendispersikan secara merata pada dua cairan yang tidak saling bercampur, maka diperlukan komponen ketiga yakni pengemulsi atau *emulsifier*.

*Emulsifier* disebut juga sebagai surfaktan yang khusus digunakan dalam bidang pangan. Hal ini disebabkan oleh adanya sifat aktif permukaan pada molekul surfaktan yang mengandung gugus hidrofilik (tertarik pada fase air) dan hidrofobik (tertarik pada fase minyak), sehingga mampu menurunkan tegangan antarmuka pada kedua fase (Tadros, 2005).



**Gambar 2.14 Konsep Emulsi Air-Minyak**

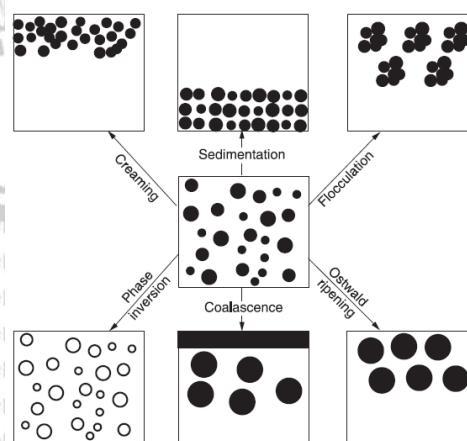
(Sumber : Yahaya Khan *et al.*, 2014)

Selama penyimpanan, emulsi dapat mengalami beberapa proses kerusakan yang bergantung pada distribusi ukuran partikel dan perbedaan densitas antara droplet dan medium pendispersi, seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 2.15

- *Creaming* dan sedimentasi, merupakan proses yang terjadi karena ketidakseimbangan densitas zat terdispersi. Jika zat terdispersi dalam bentuk droplet memiliki densitas yang lebih kecil dibandingkan dengan zat pendispersinya, maka akan menghasilkan *creaming*. Sedangkan, sedimentasi akan terbentuk ketika zat terdispersinya memiliki densitas yang lebih besar dibandingkan zat pendispersinya. Kerusakan ini bersifat reversibel dan dapat diatasi dengan melakukan pengocokan serta mengurangi ukuran droplet melalui pembentukan nanoemulsi.
- Flokulasi, merupakan kerusakan yang terjadi akibat lemahnya gaya tolak menolak (zeta potensial) antara droplet-droplet, sehingga mengakibatkan droplet tersebut saling berdekatan. Hal ini dapat diatasi dengan dua cara, yaitu stabilisasi elektrostatik menggunakan surfaktan ionik dan stabilisasi sterik menggunakan surfaktan polimerik yang menghasilkan lapisan tebal pada antarmuka minyak-air.
- *Ostwald Ripening*, merupakan suatu jalan untuk menuju ke sebuah kondisi *coalescence* (penggabungan droplet), yaitu droplet yang berukuran kecil akan

berdifusi ke dalam larutan dan membentuk droplet berukuran besar. Untuk mengurangi terjadinya *Ostwald ripening* dapat dilakukan modifikasi lapisan antarmuka dengan menggunakan surfaktan polimerik yang teradsorpsi lebih kuat pada antarmuka sistem emulsi. Selain itu, cara lain yang dapat dilakukan yakni dengan menambahkan sebuah komponen pada fase terdispersi yang tidak larut dalam medium pendispersi, seperti squalene.

- *Coalescence*, merupakan suatu bentuk kerusakan yang diakibatkan oleh adanya penipisan lapisan pelindung pada permukaan droplet, sehingga menyebabkan droplet tersebut akan bergabung membentuk suatu droplet yang berdiameter lebih besar. Kerusakan ini bersifat irreversibel dan akan menyebabkan terjadinya pemisahan fase (*cracking*). Hal ini dapat dicegah melalui stabilisasi secara elektrostatis dan sterik.
- Inversi fase, merupakan fenomena dinamik dimana fase terdispersi berubah menjadi fase pendispersi atau sebaliknya, sehingga mengakibatkan perubahan tipe dari emulsi o/w menjadi w/o dan sebaliknya. Fenomena ini kadang diinginkan dan tidak diinginkan tergantung dari fungsi penggunaan akhirnya, misalnya dalam pembuatan mentega (sistem emulsi w/o) yang membutuhkan adanya inversi fase, sedangkan dalam proses pembuatan mayonnaise (sistem emulsi o/w) tidak menginginkan fenomena ini terjadi (Thakur, Villette, Aubry, & Delaplace, 2008). Untuk menghindari inversi fase tersebut, maka dilakukan penambahan fase terdispersi (minyak) secara perlahan (Widerström & Öhman, 2017)



**Gambar 2.15 Fenomena Kerusakan dan Ketidakstabilan Emulsi**

(Sumber : Tadros, 2005)

## 2.10 Hydrophile-Lipophile Balance (HLB)

*Hydrophile-Lipophile Balance* (HLB) merupakan suatu ukuran untuk menunjukkan keseimbangan antara gugus hidrofilik dan lipofilik pada surfaktan. Nilai HLB mempunyai kisaran skala dari 1-20. Semakin tinggi nilai HLB menunjukkan surfaktan semakin bersifat hidrofilik, sehingga lebih mudah larut dalam air dan pada umumnya digunakan sebagai bahan pelarut (*solubilizing agent*) yang baik, deterjen, serta penstabil untuk emulsi minyak dalam air atau *oil in water* (Mollet & Gubenmann, 2001). Apabila nilai *Hydrophile-Lipophile Balance* (HLB) semakin rendah menunjukkan kelarutan dalam air yang rendah sehingga sering digunakan sebagai penstabil emulsi air dalam minyak atau *water in oil* (Myers, 2006). Aplikasi surfaktan berdasarkan nilai HLB dapat dilihat pada Tabel 2.7

Konsentrasi surfaktan memainkan peran penting dalam keseimbangan hidrofilik-lipofilik yang mempengaruhi kekuatan mengikat berbagai komposisi cairan yang terdapat pada sistem emulsi, dan akan menghasilkan antarmuka yang memiliki tegangan permukaan yang rendah serta viskositas yang cukup untuk mencegah *creaming* serta meningkatkan stabilitas emulsi. Adanya ketidakseimbangan hidrofilik-lipofilik akan menyebabkan butiran-butiran (droplet) emulsi menjadi tidak terdispersi secara sempurna yang berakibat pada terganggunya stabilitas emulsi (Sjblom, 2006).

**Tabel 2.7 Nilai HLB Surfaktan dan Aplikasinya**

|                              | Nilai HLB | Aplikasi         |
|------------------------------|-----------|------------------|
| Lipofilik<br>↓<br>Hidrofilik | 0-3       | Antibusa         |
|                              | 3-8       | Pengemulsi(w/o)  |
|                              | 7-9       | Zat Pembasah     |
|                              | 8-18      | Pengemulsi (o/w) |
|                              | 11-15     | Deterjen         |
|                              | 15-18     | Pelarut          |

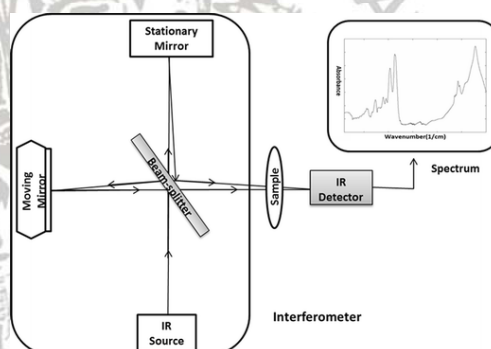
Sumber : (Mollet & Gubenmann, 2001)

## 2.11 Spektrofotometer Infra Merah (Fourier Transform Infra Red)

Spektrofotometer FTIR adalah alat yang digunakan dalam teknik analisis kimia untuk mendeteksi gugus fungsional suatu senyawa organik dan anorganik berdasarkan intensitas penyerapan gugus fungsi tersebut pada daerah radiasi infra merah dengan kisaran bilangan gelombang antara  $4000\text{ cm}^{-1}$  -  $400\text{ cm}^{-1}$ . Prinsip kerja spektrofotometer FTIR yakni adanya interaksi antara sampel dengan radiasi elektromagnetik di wilayah infra merah yang menyebabkan terjadinya

absorpsi energi infra merah oleh gugus fungsi suatu senyawa organik pada sampel. Absorpsi energi tersebut akan menyebabkan eksitasi pada molekul. Hasil eksitasi menghasilkan vibrasi (getaran) dengan pola absorpsi yang berbeda untuk setiap molekul pada daerah bilangan gelombang tertentu, sehingga disebut sebagai daerah sidik jari (*fingerprint*) untuk mengenali identitas suatu senyawa.

Mekanisme kerja FTIR yaitu radiasi yang dipancarkan dari sumber cahaya inframerah akan melewati interferometer yang terdiri dari *beam splitter*, *fixed mirror*, dan *moving mirror*. Interferometer berfungsi untuk mengukur panjang gelombang cahaya yang dipancarkan melalui pola interferensi yang membantu meningkatkan akurasi. Spektrum inframerah diperoleh dengan menerapkan radiasi inframerah ke sampel dan mengukur intensitas radiasi yang melewati sampel tersebut pada bilangan gelombang tertentu. Oleh karena itu, radiasi inframerah pada gugus molekul tertentu dapat dideteksi pada bilangan gelombang yang berbeda dan dapat dilihat pada grafik hubungan antara bilangan gelombang (sebagai sumbu x) dengan transmitansi atau absorbansi (sebagai sumbu y).



**Gambar 2.16 Komponen Spektrofotometer FTIR**

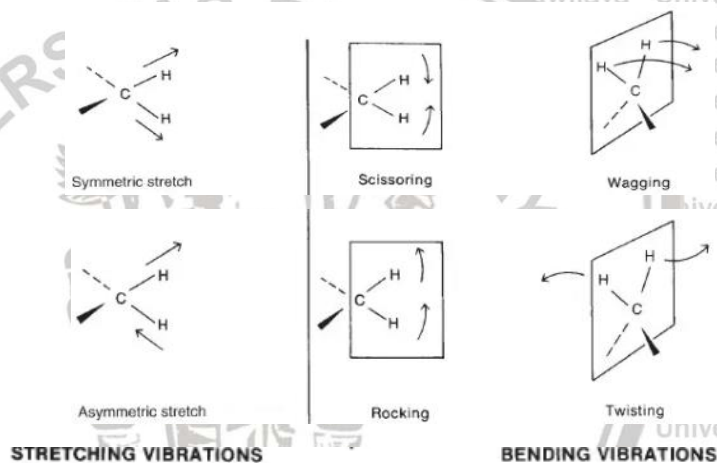
(Sumber : Faghihzadeh *et al.*, 2016)

Vibrasi molekul terdiri atas dua jenis, yakni vibrasi ulur atau renggangan (*stretching*) dan vibrasi tekuk atau bengkokan (*bending*). Vibrasi ulur adalah vibrasi yang menyebabkan adanya perubahan panjang ikatan pada suatu molekul yang setidaknya memiliki dua atom. Vibrasi ulur terbagi atas dua macam, yaitu vibrasi ulur simetris dan vibrasi ulur asimetris. Vibrasi ulur simetris terjadi ketika ikatan molekul mengalami vibrasi secara bersamaan dan searah dalam satu bidang datar. Vibrasi asimetris terjadi ketika ikatan molekul juga mengalami vibrasi secara bersamaan dalam satu bidang datar, namun tidak searah. Hal tersebut



menyebabkan adanya panjang ikatan molekul yang semakin pendek dan pada saat yang sama juga memiliki ikatan molekul lain yang semakin panjang.

Vibrasi tekuk adalah vibrasi yang menyebabkan adanya perubahan sudut ikatan pada suatu molekul yang setidaknya memiliki tiga atom. Vibrasi tekuk terbagi atas empat macam, yakni vibrasi gunting (*scissoring*), vibrasi goyang (*rocking*), vibrasi kibasan (*wagging*), dan vibrasi pelintir (*twisting*). Vibrasi gunting mengalami pergerakan mengayun secara simetris dan masih dalam satu bidang datar, vibrasi goyang mengalami pergerakan mengayun secara asimetris dan masih dalam satu bidang datar, vibrasi kibasan mengalami pergerakan mengibas ke luar dari bidang datar, dan vibrasi pelintir mengalami perputaran ke luar bidang datar dalam mengelilingi molekul induk (Pavia *et al.*, 2013). Jenis-jenis vibrasi molekul pada spektrofotometer FTIR dapat dilihat pada Gambar 2.17



**Gambar 2.17 Vibrasi Ulur dan Vibrasi Tekuk**

(Sumber : Pavia *et al.*, 2013)

Syntsa *et al.* (2003) melakukan penelitian mengenai analisa gugus fungsional pektin dari kulit jeruk dengan menggunakan spektrofotometer FTIR.

Hasil penelitiannya menyatakan bahwa pada daerah bilangan gelombang antara  $1600\text{ cm}^{-1}$  –  $1750\text{ cm}^{-1}$  merupakan spektra dari komponen gugus karboksil bebas dan gugus karboksil yang teresterifikasi. gugus C-OH dan C-O-C sebagai indikator ikatan glikosidik mengalami vibrasi stretching pada kisaran bilangan gelombang antara  $1000\text{ cm}^{-1}$  –  $1140\text{ cm}^{-1}$ . Sedangkan, karakteristik ikatan O-H terdeteksi pada kisaran bilangan gelombang antara  $2400\text{ cm}^{-1}$  –  $3600\text{ cm}^{-1}$  yang ditunjukkan melalui vibrasi stretching.

Synnytsya *et al.* (2004) membuktikan bahwa metode spektroskopi FTIR dapat berfungsi untuk mengkarakterisasi struktur pektin termodifikasi dalam bentuk amida serta menentukan perolehan derajat amidasi. Hasil analisis dengan menggunakan spektrofotometer FTIR pada pektin teramidasi memiliki dua daerah gugus amida, yaitu amida I, amida II, dan amide III yang terdeteksi pada masing-masing bilangan gelombang  $1656\text{ cm}^{-1}$ ,  $1544\text{ cm}^{-1}$ , dan  $1395\text{ cm}^{-1}$ . Barth (2007) menyatakan bahwa vibrasi *stretching* gugus C=O dengan kisaran bilangan gelombang antara  $1700\text{ cm}^{-1}$  –  $1600\text{ cm}^{-1}$  berada di daerah amida I, sedangkan daerah amida II berisi gugus N-H (vibrasi *bending*) dan gugus C-N (vibrasi *stretching*) yang terletak pada kisaran bilangan gelombang antara  $1600\text{ cm}^{-1}$  –  $1500\text{ cm}^{-1}$ , dan daerah amida III berisi gugus C-N (vibrasi *stretching*) yang berada pada kisaran bilangan gelombang antara  $1400\text{ cm}^{-1}$  –  $1300\text{ cm}^{-1}$ .

Penentuan derajat amidasi dilakukan secara kuantitatif melalui metode spektroskopi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) yang didasarkan pada informasi mengenai karakteristik penyerapan (absorpsi) dari spektrum FTIR pada suatu material/sampel. Kuantifikasi memerlukan absorbansi yang dapat dievaluasi dari luas area puncak dalam suatu spektrum. Luas area puncak sebanding dengan konsentrasi suatu analit. Konsentrasi mempengaruhi absorbansi, dimana jika konsentrasi analit tinggi berarti banyak molekul dari analit yang terkena radiasi sinar infra merah lalu diserap pada bilangan gelombang dan intensitas penyerapan (absorbansi) tertentu dan berdampak pada peningkatan nilai absorbansi (Smith, 2011; Stuart, 2004).

Derajat amidasi (DA) dihitung berdasarkan rasio luas area pada daerah gugus amida (berada pada kisaran bilangan gelombang  $1600 - 1300\text{ cm}^{-1}$  yang berisi kombinasi gugus N-H atau vibrasi *bending* dan gugus C-N atau vibrasi *stretching*) terhadap luas area pada daerah gugus karbonil (C=O yang mengalami vibrasi *stretching* pada kisaran bilangan gelombang  $1700 - 1600\text{ cm}^{-1}$ ).

## 2.12 Response Surface Methodology (RSM)

Metodologi permukaan respon merupakan teknik statistik yang berfungsi untuk mengembangkan, meningkatkan, serta mengoptimalkan suatu parameter proses dengan memanfaatkan data eksperimen (Oliveira *et al.*, 2019). Aplikasi metodologi tersebut dilakukan dengan menentukan variabel independen yang berpotensi mempengaruhi kinerja atau karakteristik dari proses sebagai respon. Variabel independen harus dikendalikan oleh peneliti agar sesuai dengan respon

yang diinginkan. Metodologi permukaan respon terdiri dari tiga tahap, yakni: strategi eksperimental untuk mendesain variabel independen pada suatu proses, pemodelan statistik untuk mengembangkan hubungan pendekatan yang tepat antara respon dan variabel independen proses, serta metode optimasi untuk menemukan nilai-nilai variabel proses yang mampu menghasilkan nilai respon yang diinginkan (Carley *et al.*, 2004).

Analisa data respon dan prediksi model statistik dilakukan melalui *Analysis of Variance* (ANOVA). Hal ini bertujuan untuk menentukan signifikansi variabel input yang diuji serta dapat mengetahui model statistik yang disarankan oleh program *design expert* berdasarkan jumlah urutan model (*Sequential Model Sum of Squares*) dan ringkasan model statistik (*Summary of Statistics*). Pemilihan model statistik tersebut merupakan model yang dinyatakan signifikan serta memiliki nilai *lack of fit test* yang tidak signifikan. Signifikansi model diperoleh melalui uji F pada tingkat probabilitas ( $p \leq 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa secara numerik nilai komponen variabel independen berpengaruh nyata (signifikan) terhadap respon, sedangkan nilai *lack of fit test* pada tingkat probabilitas ( $p \geq 0,05$ ) menunjukkan adanya kesesuaian data respon dengan model. Selain itu, program *design expert* juga memberikan fasilitas plot kenormalan residual (*normal plot of residual*) yang mengindikasikan residual (selisih antara respon aktual dengan respon prediksi) mengikuti atau tidak mengikuti garis kenormalan (garis lurus), dimana titik-titik data yang semakin mendekati garis kenormalan maka menunjukkan data tersebar secara normal dan berarti bahwa hasil aktual akan mendekati hasil yang diprediksi oleh program *design expert* tersebut (Ramadhani dkk, 2017).

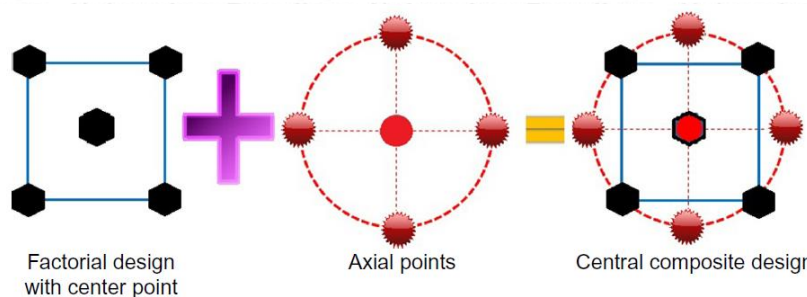
Hasil luaran atau *output* dari tahap optimasi merupakan rekomendasi terhadap kondisi optimal yang sesuai dan disarankan oleh program *design expert*, optimasi dilakukan dengan menentukan batasan (*goal*) pada kriteria respon yang diinginkan berdasarkan kisaran (*range*) yang memungkinkan dicapai pada pemilihan kondisi optimum berdasarkan nilai *desirability* yang maksimum. Nilai *desirability* memiliki kisaran dari angka 0-1 yang menunjukkan kemampuan model statistik pada program *design expert* untuk mengoptimalkan respon. Setelah diperoleh kondisi yang optimal, dilanjutkan ke tahapan verifikasi di laboratorium dengan dua kali pengulangan. Hasil verifikasi kemudian dibandingkan dengan nilai prediksi respon oleh program *design expert* melalui uji perbandingan berpasangan (*paired t-test*) (Anihouvi, F, GS, Sakyi-Dawson E, & JD, 2011).

Umumnya, desain eksperimental yang paling banyak digunakan dalam pemodelan RSM adalah *Central Composite Design* (CCD) dan *Box-Behnken Design* (BBD) (Das & Dewanjee, 2018). *Central Composite Design* merupakan desain faktorial yang dapat menghasilkan model kuadratik pada variabel respon dengan penambahan titik pusat dan titik aksial. Dalam *Central Composite Design* terdapat tiga titik, yakni: titik faktorial (*factorial*), pusat (*center*), dan aksial (*axial*) yang ditunjukkan seperti pada Gambar 2.18. Titik faktorial berasal dari desain faktorial penuh, dimana level faktor dikodekan sebagai -1 dan +1. Titik pusat yang dikodekan sebagai 0 adalah titik yang berada di pusat ruang desain dan berfungsi dalam menstabilkan varians pada respon prediksi. Titik aksial menunjukkan kondisi ekstrim pada level terendah dan tertinggi untuk setiap faktor dalam desain yang terletak di sepanjang sumbu sistem koordinat yang secara simetris berhubungan dengan titik pusat pada jarak  $\alpha$  (aksial). Nilai  $\alpha$  ditentukan oleh jumlah faktor dalam desain dan jenis yang digunakan (Montgomery, 2012).

Sahoo & Barman (2012), menyatakan jenis utama *Central Composite Design* yakni *face-centered CCD* dan *rotatable*. *Face-centered Central Composite Design* adalah desain yang memberikan kualitas prediksi yang relatif tinggi di seluruh ruang desain dan tidak memerlukan penggunaan titik di luar rentang faktor, akan tetapi hal ini menghasilkan presisi yang buruk dalam memprediksi koefisien model kuadratik. *Rotatable Central Composite Design* adalah desain eksperimental yang paling banyak digunakan untuk menghasilkan model kuadratik yang memiliki keseragaman prediksi yang konstan di semua titik yang berjarak sama dari pusat ruang desain, dimana keseragaman prediksi tersebut dapat dicapai melalui pemilihan nilai  $\alpha$  yang tepat. Rumus  $\alpha$  dihitung sebagai berikut :

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

keterangan:  $nf$  = desain faktorial  $2^k$ , dengan  $k$  adalah jumlah faktor yang digunakan dalam eksperimen.

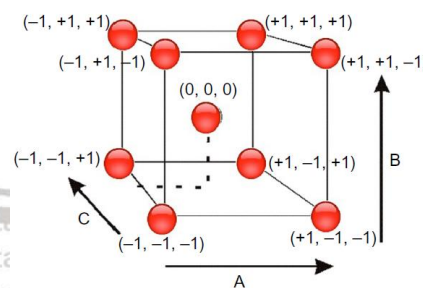


**Gambar 2.18 Visual Central Composite Design**

(Sumber : Das & Dewanjee, 2018)

*Box-Behnken Design* merupakan desain yang mampu menghasilkan model kuadratik melalui kombinasi perlakuan pada titik pusat dan di bagian tepi ruang desain, dimana dalam desainnya membutuhkan lebih dari dua faktor. Perbedaan *Box-Behnken Design* dan *Central Composite Design* dalam rancangan tiga faktorial yakni pada *Box-Behnken Design* tidak ada penambahan titik aksial pada rancangannya, sehingga lebih efisien dalam menurunkan durasi dan biaya analisis karena melibatkan lebih sedikit unit percobaan. *Box-Behnken Design* yang tidak memiliki titik aksial menunjukkan bahwa tidak terdapat kombinasi faktor pada level tertinggi atau terendah, sehingga desain ini berguna untuk menghindari eksperimen yang dilakukan di bawah kondisi ekstrim, dimana hasil eksperimennya mungkin tidak memuaskan. Sebaliknya, desain ini tidak disarankan untuk situasi dimana peneliti ingin mengetahui respon pada kondisi ekstrim (Ferreira *et al.*, 2007).

*Box-Behnken Design* tidak digunakan dalam penelitian *sequential*, sedangkan *Central Composite Design* cocok digunakan dalam penelitian *sequential*. Penelitian *sequential* adalah desain yang menghasilkan akumulasi data penelitian untuk dipilih dalam bereksperimen lebih lanjut atau tidak. Jika penelitian dilanjutkan maka peneliti dapat memutuskan percobaan faktorial yang akan dilakukan selanjutnya berdasarkan perolehan data variabel yang signifikan, sedangkan jika peneliti memutuskan untuk berhenti bereksperimen maka ia harus membuat hipotesis (Yang, 2008; Chernoff, 1992). Visualisasi desain BBD dapat dilihat pada Gambar 2.19



**Gambar 2.19 Visual *Box-Behnken Design***

(Sumber : Das & Dewanjee, 2018)

Perancangan eksperimen statistika merupakan suatu proses perencanaan eksperimen untuk memperoleh data yang tepat sehingga dapat dianalisa dengan metode statistik serta kesimpulan yang diperoleh dapat bersifat obyektif dan valid.

Salah satu metode perancangan eksperimen yang digunakan untuk mengetahui

kondisi optimal adalah *Response Surface Methodology* (RSM) (Khuri, 2017). Montgomery, (2000) menyatakan *Respon Surface Methodology* (RSM) merupakan kumpulan dari teknik matematika dan statistika yang berguna untuk memudahkan dan menganalisa data, dimana beberapa variabel mempengaruhi sebuah respon. Metode ini juga dapat memprediksikan model yang sesuai seperti linier, quadratic dan interaksi antar variabel respon (Khare et al., 2015).

Metode *Respon Surface Methodology* dipilih untuk optimasi karena memiliki keunggulan dibandingkan dengan metode konvensional, diantaranya jumlah perlakuan yang lebih sedikit dengan akurasi yang lebih tinggi sehingga lebih efisien dari segi waktu dan biaya. Metode ini mampu mengeksplorasi korelasi antar banyak faktor untuk mendapatkan kondisi produksi optimal dalam suatu proses serta memprediksi suatu respon (Khuri, 2017; Montgomery, 2000). Hal ini dikarenakan pada *Respon Surface Methodology* (RSM) saat proses replikasi hanya dilakukan pada titik pusat (*center point*) yang menyebabkan jumlah percobaan yang dilakukan sedikit (Ongkowijoyo, 2016).

Keberhasilan penerapan metode permukaan respon bergantung pada pemilihan yang tepat dari titik samping ruang *design* yakni *design experiment*. Secara teoritis, semua faktor yang dapat mempengaruhi respon harus dimasukkan dalam *design experiment*. Metode *Box Behnken Design* merupakan design tingkat yang efektif berdasarkan pada pembangunan design blok lengkap seimbang, metode *Box Behnken Design* ini hanya membutuhkan tiga tingkat untuk setiap faktor (Kun-Nan et al., 1983).

Langkah awal dari metode permukaan respon adalah menemukan hubungan antara respon  $y$  dengan variabel independen  $x_i$  melalui persamaan polinomial orde satu. Fungsi *linear* dari variabel-variabel independen  $x_i$  pada orde satu adalah:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \epsilon$$

Keterangan:

$y$  : variable dependen (respon)

$x_i$  : faktor-faktor yang berpengaruh terhadap variable respon,  $i = 1, 2, \dots, k$

$\epsilon$  : komponen residual (error yang bersifat acak)

Tahap selanjutnya dilakukan analisa dengan regresi bertingkat untuk

masuk ke dalam model polinomial orde kedua sebagai berikut:

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_i \sum_j \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

Nilai  $\beta_0$ ;  $\beta_i$ ;  $\beta_{ii}$  dan  $\beta_{i,j}$  merupakan koefisien regresi dalam intersept, linier, kuadratik, dan interaksi variabel.  $X_i$ ;  $X_{ii}$  dan  $X_{i,j}$  adalah variabel bebas dan  $Y$  adalah respon serta  $\varepsilon$  merupakan komponen eror yang bersifat acak. Penentuan variabel bebas dilakukan pada awal proses, kemudian dimasukkan kedalam *software Design Expert* untuk mendapatkan beberapa kombinasi perlakuan atau daerah percobaan. Daerah percobaan yang sudah terancang akan menghasilkan respon berbeda-beda, model respon dengan ketepatan lebih tinggi dapat digunakan untuk mendapatkan nilai variabel sebenarnya yang akan menghasilkan respon optimum (Montgomery, 2000). Respon optimum yang dihasilkan dapat berupa maksimum, minimum, atau in range sesuai dengan tujuan dan keinginan awal dari peneliti. Metode ini dapat diterapkan untuk bidang rancangan dan pengembangan produk baru (misalnya formulasi), serta peningkatan rancangan produk yang sudah ada (Yolmeh and Jafari, 2017).

Model yang akan terpilih memiliki beberapa kriteria yang harus dipenuhi, diantaranya adalah signifikansi model, signifikansi *lack of fit*, *adjusted R-square*, dan *predicted R-square*. Pemilihan model dilihat berdasarkan nilai probabilitas tiap kriteria pada analisis ragam atau ANOVA. Probabilitas merupakan peluang yang tarafnya diatur sesuai dengan kebutuhan penelitian dan secara umum diluar bidang kedokteran menggunakan probabilitas 5% ( $\alpha=0,05$ ). Nilai probabilitas pada suatu model kurang dari nilai 5%, maka dapat dikatakan bahwa model tersebut memiliki kecocokan dengan rancangan variabel dan respon terkait pada taraf signifikansi 95%. Kriteria *lack of fit* menunjukkan sebuah ketidaksesuaian model dengan data. Nilai *lack of fit* kurang dari nilai 5% atau signifikan, maka model tidak sesuai dengan data karena ketidaksesuaian model bernilai nyata. Nilai *lack of fit* yang tidak signifikan ( $>5\%$ ) merupakan syarat untuk model yang baik, karena menunjukkan adanya kesesuaian data respon dengan model (Keshani, et al., 2010). *Adjusted R-square* merupakan *R-square* hitung berdasarkan data yang diperoleh dan *Predicted R-square* merupakan prediksi dari nilai *R-square*.

### III. KERANGKA KONSEP PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Jeruk manis varietas pacitan (*Citrus sinensis*) merupakan salah satu komoditi buah-buahan lokal yang banyak dibudidayakan di Indonesia khususnya di wilayah Jawa Timur, dan memiliki produktivitas sebesar 40-60 kg/pohon/tahun (Litbangtan, 2014). Jenis jeruk ini memiliki rasa manis, kulit buahnya yang memiliki ketebalan berkisar antara 6,20 mm - 7,75 mm. Jenis jeruk tersebut lebih tepat digunakan sebagai bahan baku pada pembuatan sari jeruk. Namun dalam praktiknya dilapangan pemanfaatan buah jeruk pada proses pengolahan sari buah jeruk maupun jus jeruk menyebabkan timbulnya masalah baru khususnya masalah lingkungan sebagai akibat dari limbah kulit jeruk yang tidak dimanfaatkan, sehingga terjadi akumulasi limbah yang buruk.

Limbah kulit jeruk sangat rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme pembusuk yang dapat menghasilkan bau tidak sedap akibat tingginya kandungan gula (glukosa, fruktosa, dan sukrosa) yakni sekitar 30-36% basis kering (Mahato *et al.*, 2019; Torre *et al.*, 2019). Kandungan senyawa D-limonene yang terdapat pada kulit jeruk dan bersifat sebagai antimikroba menjadikan kulit jeruk manis sulit untuk didegradasi secara anaerobik (Aboagye, Banadda, Kiggundu, & Kabenge, 2016; Anjum, Khalid, Qadeer, & Miandad, 2017; Koppar & Pullammanappallil, 2013; Mantzouridou, Paraskevopoulou, & Lalou, 2015).

Untuk mengatasi masalah limbah kulit jeruk tersebut dapat dilakukan dengan cara menderivatisasinya menjadi produk bernilai guna sehingga melindungi kelestarian lingkungan maupun peningkatan nilai ekonomi. Limbah kulit jeruk yang dihasilkan memiliki kisaran persentase sebesar 40-45% dari berat buah dan mengandung pektin sekitar 20-30% basis kering (Kute *et al.*, 2020) bahkan dapat mencapai 42,5% (Rivas *et al.*, 2008).

Pektin dapat diperoleh melalui ekstraksi menggunakan metode *microwave assisted extraction* (MAE) yang memiliki kelebihan dalam hal efisiensi waktu ekstraksi dan efektivitas perolehan nilai yield pektin dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional (menggunakan *waterbath*, *hot plate stirer*, sokletasi) (Poole, 2020) dan metode *Ultrasonically Assisted Extraction* UAE (Bagherian *et al.*, 2011).



Metode ekstraksi pektin menggunakan *microwave assisted extraction* (MAE) perlu memperhatikan faktor rasio bahan:pelarut, suhu, serta waktu ekstraksi.

Volume pelarut harus cukup untuk melarutkan bahan selama proses iradiasi oleh gelombang mikro. Umumnya, jenis pelarut yang digunakan adalah air yang diasamkan dengan bantuan asam organik, seperti asam oksalat yang dapat meningkatkan konduktivitas atau perpindahan ion sehingga energi microwave diserap secara efisien. Penggunaan larutan asam oksalat yang memiliki konstanta disosiasi asam tertinggi dari asam organik lainnya (asam asetat, asam sitrat, dan asam tartarat) berfungsi dalam meningkatkan konduktivitas ion yang menyebabkan energi microwave dapat diserap secara efisien untuk proses hidrolisis pektin (Tsubaki *et al.*, 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Kalonika (2018) menyatakan optimasi hasil ekstraksi pektin dari kulit jeruk manis pacitan menggunakan metode *microwave assisted extraction* (MAE) jenis *open vessel* selama 15 menit dengan pelarut asam oksalat 0,21% v/v (campuran akuades dan asam oksalat pada pH 1,8) menghasilkan rendemen dan total pektin pektin masing-masing sebesar 32,6% dan 27,9%. Faktor suhu ekstraksi berhubungan dengan efisiensi desorpsi ekstrak dari bahan, sedangkan waktu ekstraksi berhubungan dengan lamanya paparan gelombang mikro yang dapat membahayakan senyawa termolabil (Rahmani *et al.*, 2019).

Guolin *et al.* (2012) melakukan ekstraksi pektin dari kulit lemon menggunakan *microwave assisted extraction* (MAE) dengan rasio bahan:pelarut 1:25 (b/v), suhu ekstraksi 85°C, waktu ekstraksi selama 10 menit menghasilkan perolehan yield pektin sebesar 24,45%, sedangkan pada penggunaan rasio bahan:pelarut sebesar 1:15 (b/v), suhu ekstraksi 65°C, dan waktu ekstraksi selama 6 menit hanya menghasilkan rendemen sebanyak 15,48%. Penelitian lain mengenai ekstraksi pektin dari labu kuning menggunakan metode *microwave assisted extraction* (MAE) menyebutkan pada kondisi rasio bahan:pelarut 1:30 (b/v), suhu ekstraksi 80°C serta waktu ekstraksi selama 6 menit mampu menghasilkan yield pektin sebanyak 3,8%, sedangkan ketika rasio bahan:pelarut sebesar 1:50 (b/v), suhu ekstraksi 80°C, dan waktu ekstraksi selama 6 menit menyebabkan perolehan nilai yield sebanyak 5,8%. Košťálová *et al.* (2016)

Parameter penelitian tahap pertama mengenai ekstraksi pektin menggunakan metode *microwave assisted extraction* (MAE) didasarkan pada penelitian pendahuluan untuk menentukan titik minimum dan maksimum pada tiga

faktor (variabel bebas) yakni rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ), suhu ( $X_2$ ), serta lama waktu ekstraksi ( $X_3$ ). Ketiga faktor tersebut digunakan sebagai untuk mengetahui hasil optimasi ekstraksi pektin menggunakan metode *microwave assisted extraction* (MAE) yang maksimal.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah *Response Surface Methodology* (RSM) dengan model *Box-Behnken Design* (BBD) berdasarkan pada tiga faktor (variabel bebas) yaitu rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ) pada kisaran penggunaan faktor rasio bubuk kulit jeruk manis:pelarut asam oksalat 0,21% (b/v) yakni 1:40 g/ml – 1:60 g/ml, suhu ( $X_2$ ) pada kisaran penggunaan faktor suhu 60°C – 70°C, serta lama waktu ekstraksi ( $X_3$ ) pada kisaran penggunaan faktor waktu ekstraksi selama 1 - 11 menit. Respon yang digunakan dalam penelitian adalah rendemen pektin ( $Y_1$ ) dan total pektin ( $Y_2$ ). Rendemen pektin menunjukkan persentase perolehan pektin yang berhubungan dengan efisiensi ekstraksi metode *microwave assisted extraction* (MAE) *closed vessel*, sedangkan total pektin merupakan persentase kandungan substansi pektin pada kulit jeruk. Hasil optimasi ekstrak pektin terbaik selanjutnya dilakukan karakterisasi secara fisikokimia, meliputi: analisa kadar air, berat ekuivalen, kadar metoksil, kadar asam galakturonat, derajat esterifikasi, dan gugus fungsi pektin menggunakan metode spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

Bahan baku alternatif terutama limbah industri hasil pertanian merupakan sumber bahan terbarukan yang mengarah pada praktik berkelanjutan (*sustainable*) (Wisetkomolmat et al., 2019). Adanya sejumlah gugus hidroksil (-OH) pada struktur molekul pektin akan menyebabkan tingginya afinitas pektin untuk mengikat molekul air atau bersifat hidrofilik (Pi, Liu, Guo, Guo, & Meng, 2019). Oleh karena itu, penggunaan pektin dari limbah kulit jeruk berpotensi dijadikan sebagai pengganti gugus hidrofilik pada surfaktan polimerik berjenis nonionik sehingga dapat berkontribusi dalam menghemat penggunaan bahan baku minyak bumi untuk mengurangi emisi karbondioksida ( $CO_2$ ). Synytsya *et al.* (2004) menyatakan pektin adalah satu satu polisakarida yang dapat dijadikan sumber bahan baku pembuatan surfaktan.

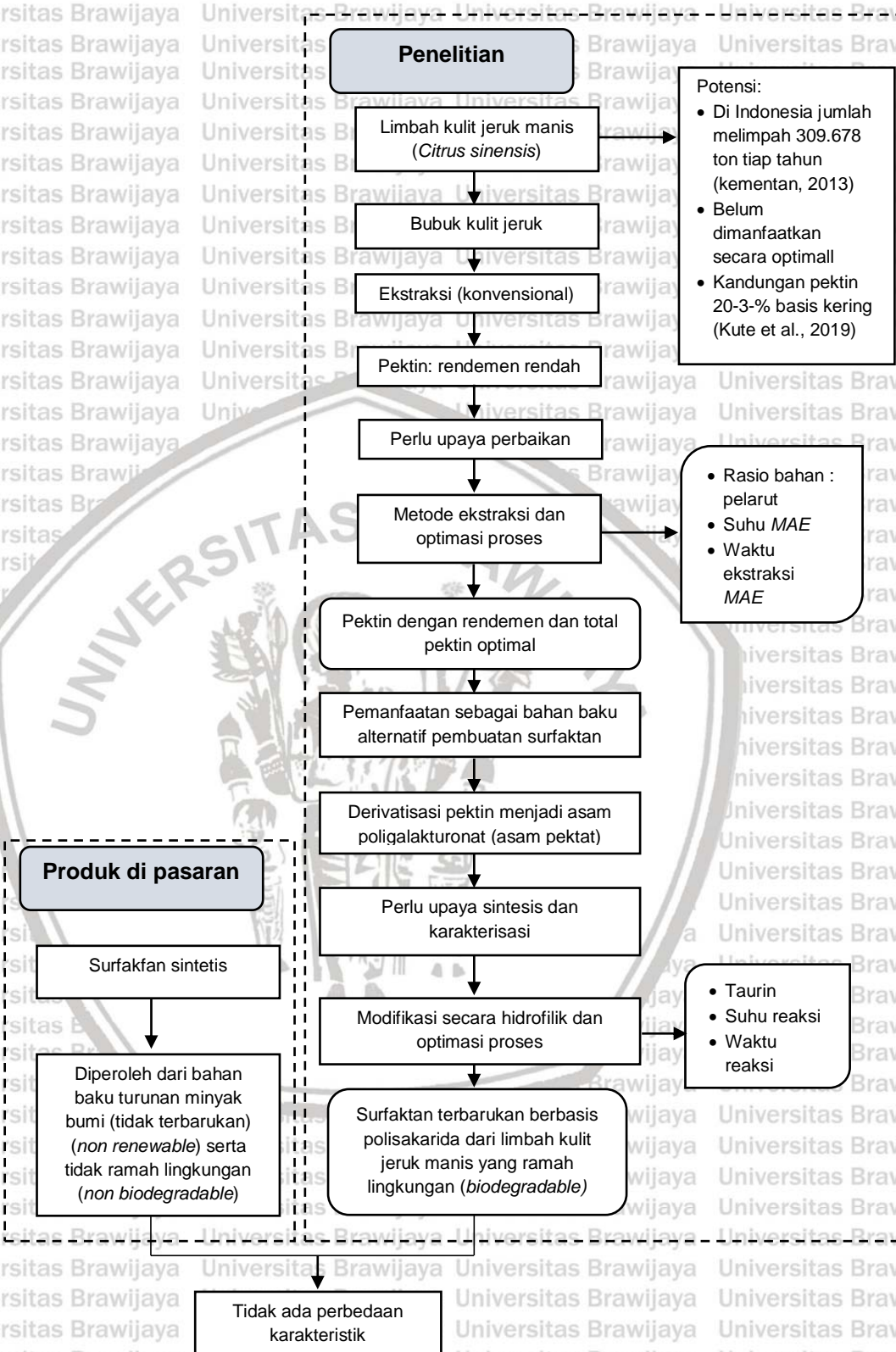
Merujuk pada pemanfaatan bahan baku limbah sebagai sumber bahan terbarukan (*renewable raw materials*), dan ramah lingkungan (*biodegradable*) maka pada penelitian tahap kedua dilakukan upaya sintesis surfaktan. Pembuatan surfaktan polimerik berbasis polisakarida diawali dengan menderivatisasi pektin kulit jeruk manis varietas pacitan menjadi asam poligalakturonat (asam pektat).

Asam poligalakturonat (PGA) atau asam pektat diperoleh dari degradasi maupun demethoxylation pektin dan terdiri dari rantai linear  $\alpha$ -1,4- asam galakturonat, bersifat tidak larut dalam air (*water insoluble*), berat molekulnya tinggi, memiliki aktivitas permukaan yang rendah serta tidak aktif di permukaan dalam kondisi normal (Mohnen, 2008; Thakur, Singh, & Handa, 1997). Hal ini disebabkan karena ikatan hidrogen antar molekul yang kuat (Stoddart, Spires, dan Tipton, 1969).

Sintesis surfaktan dari asam poligalakturonat dengan cara modifikasi menggunakan (EDCI) 1-3-etil (3-dimetil amino propil) karbodiimida sebagai zat penghubung (*coupling agent*) serta pemanasan konvensional memerlukan waktu selama 16 jam. Sintesis surfaktan menggunakan *microwave assisted system* pada suhu 70 - 120°C selama 15 - 45 menit dapat mempersingkat waktu reaksi dibandingkan pada pemanasan konvensional dengan perolehan yield sebesar 80% dan derajat amidasi 10,82% (Mohd Aris et al., 2017). Reaksi yang terjadi dalam *microwave assisted system* menggunakan iradiasi gelombang mikro pada sintesis surfaktan diharapkan secara signifikan dapat mempersingkat waktu reaksi dan pemanasan serta menghilangkan akan adanya kebutuhan zat penghubung (*coupling agent*) (Nagarajan, 2012; Shao & Hathcock, 2008).

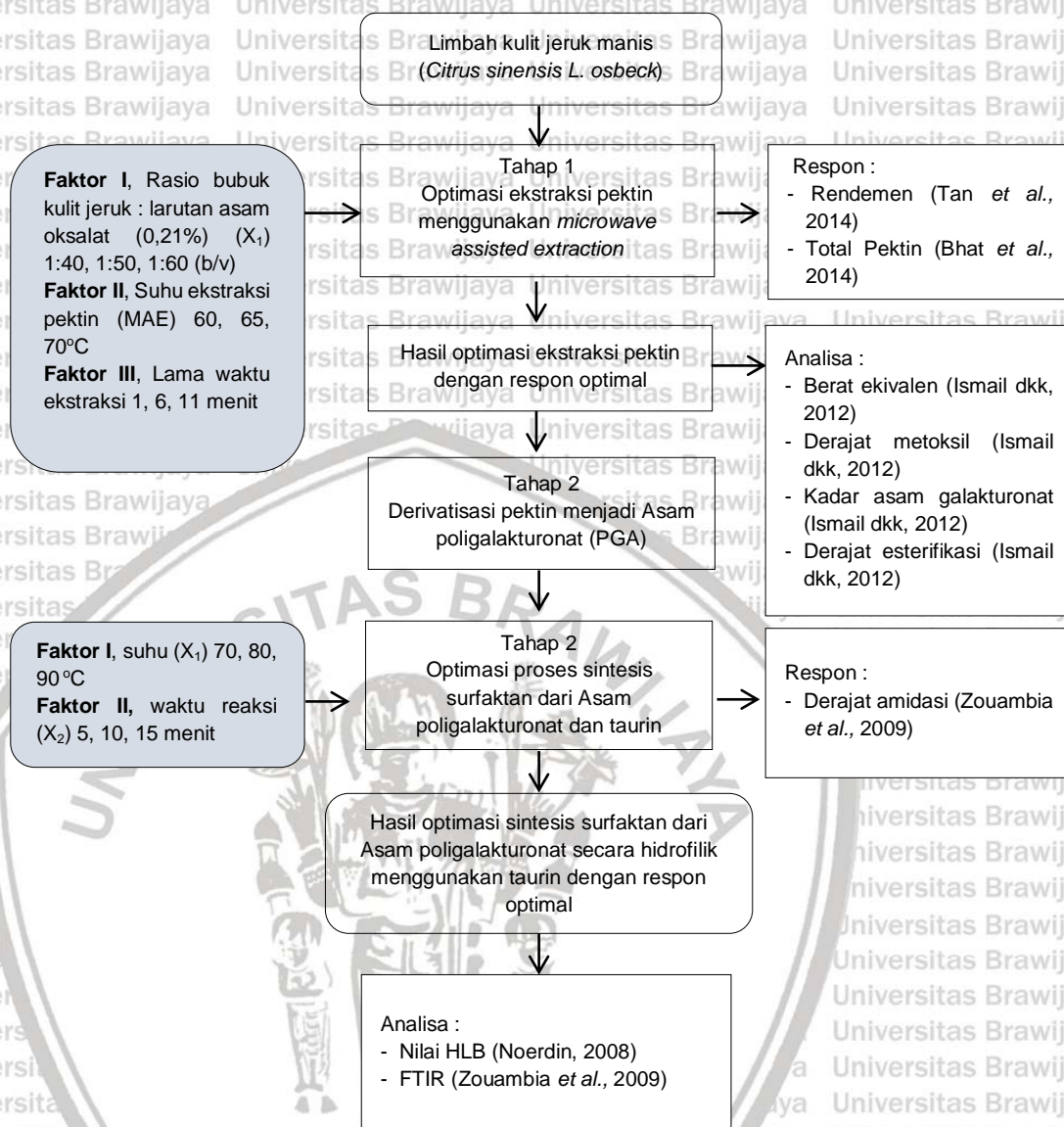
Penelitian utama tahap kedua dilaksanakan menggunakan rancangan percobaan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan model *Central Composite Design* (CCD) yang bertujuan untuk mengetahui hasil optimasi sintesis surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat (PGA) melalui modifikasi hidrofilik menggunakan taurin dalam *microwave assisted system* berdasarkan pada dua faktor (variabel bebas) yakni penggunaan suhu ( $X_1$ ) pada kisaran penggunaan suhu 70°C – 90°C, serta waktu reaksi ( $X_2$ ) pada kisaran penggunaan waktu reaksi selama 5 - 15 menit. Respon (variabel terikat) yang digunakan dalam penelitian adalah derajat amidasi ( $Y_1$ ). Derajat amidasi menunjukkan persentase gugus karbonil dari senyawa metil ester pada pektin yang mengalami amidasi sehingga menghasilkan gugus amida yang berfungsi dalam penentuan sifat fisikokimia surfaktan polimerik.

Karakterisasi fisikokimia surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat dilakukan pada perolehan hasil optimasi terbaik. Karakterisasi meliputi analisa nilai keseimbangan hidrofilik-lipofilik (*Hydrophile-Lipophile Balance*) atau HLB serta analisa gugus fungsi amida pada senyawa pektin teramidasi menggunakan metode spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). Skema kerangka konsep pemikiran dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.1



**Gambar 3.1 Kerangka Pikir Penelitian**

### 3.2 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 3.2 Kerangka Operasional Penelitian

### 3.3 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Modifikasi rasio perbandingan bahan:pelarut, suhu dan waktu ekstraksi dengan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) diduga memberikan hasil optimal dalam ekstraksi pektin kulit jeruk manis terhadap rendemen dan total pektin
2. Modifikasi secara hidrofilik pada asam poligalakturonat dari pektin kulit jeruk manis, menggunakan taurin, suhu dan waktu reaksi dalam *Microwave Assisted System* diduga dapat memberikan hasil optimal terhadap derajat amidasi pada pembuatan surfaktan



## IV. METODOLOGI PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada beberapa laboratorium. Proses pembuatan bubuk kulit jeruk manis meliputi pengecilan ukuran dan pengeringan dilakukan di Laboratorium Teknologi Pengolahan dan Rekayasa Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Proses pengecilan ukuran dan pengayakan dilakukan di Pilot Plant, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Proses ekstraksi pektin kulit jeruk manis menggunakan *Microwave Assisted Extraction* dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu Hayati, Universitas Brawijaya, Malang. Proses derivatisasi pektin menjadi asam poligalakturonat (asam pektat) serta sintesis surfaktan melalui modifikasi hidrofilik asam poligalakturonat dan pengujian analisa total pektin, analisa derajat metoksil, kadar asam galakturonat, analisa berat ekuivalen, analisa derajat esterifikasi, analisa kadar air, analisa *hydrophylic lypophylic balance* (HLB) dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya. Pengujian Gugus Fungsi spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) dilakukan di Laboratorium Sentral dan Material Maju, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang. Keseluruhan penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2019 hingga bulan November 2020.

### 4.2 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan terbagi menjadi dua yaitu bahan baku, dan bahan analisis. Bahan baku yang digunakan yaitu jeruk manis dengan kulit berwarna hijau kekuningan dengan umur panen 8-9 bulan setelah berbunga yang diperoleh dari Kebun Percobaan Banaran Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Subtropika (Balijestro), Batu, Jawa Timur-Indonesia. Bahanyang digunakan untuk analisis yaitu Taurin USA (T0625-100G) Sigma-Aldrich Singapura diperoleh dari CV. Chemical Indonesia Multi Sentosa Surabaya, Ethanol PA 99% (Smartlab CAT No: A1035) diperoleh dari CV. Makmur Sejati. Bahan-bahan kimia teknis yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari CV. Makmur Sejati, CV Pratama Mandiri, dan Kridatama Kimia yakni alkohol teknis 96%, Tween 80, Span 20, aquades, NaOH, HCl, larutan AgNO<sub>3</sub>, pyridine, indikator phenolphthalein, indikator

methyl red, kertas saring kasar, pektin komersial, tabung falcon sentrifuse ukuran 50 ml, botol kaca ukuran 300 ml.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *microwave assisted extraction system* (Anton Paar), *vessel*, sentrifuse (Thermo Fisher), hot plate stirrer (Heidolph), *plate stirrer*, *magnetic stirrer* (Stuart Scientific), spektrofotometer FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*) (Shimadzu, Type: IR Prestige 21), oven listrik (Memmert), timbangan analitik (Ohaus), *shaker waterbath* (Memmert), shaker (*Orbital Genie*), pH-meter (Thermo Scientific), cabinet dryer (local), disk mill, ayakan 80 mesh, *glassware*, tabung falcon sentrifuse (50 ml), spatula kaca dan besi, buret dan statif, alumunium foil, kantong plastik (jenis PE), kain saring, kertas saring halus, kertas saring kasar mortar dan *refrigerator* (Sharp SJ-P571NLV).

### 4.3 Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan secara dua tahap, pada tahap pertama dipilih menggunakan Metode Permukaan Respon (*Response Surface Methodology*) rancangan *Box Behnken* (*Box-Behnken Design*) karena rancangan tersebut mampu menghasilkan model kuadratik melalui kombinasi perlakuan pada titik pusat dan di bagian tepi ruang desain, dimana dalam desainnya membutuhkan lebih dari dua faktor dan bertujuan untuk mendapatkan proses optimum ekstraksi pektin kulit jeruk manis. Pada penelitian tahap kedua dipilih menggunakan Metode Permukaan Respon (*Response Surface Methodology*) rancangan *Central Composite* (*Central Composite Design*) karena rancangan tersebut merupakan desain faktorial yang dapat menghasilkan model kuadratik pada variabel respon dengan penambahan titik pusat dan titik aksial dan bertujuan untuk mendapatkan proses optimum sintesis surfaktan berbasis asam poligalakturonat melalui modifikasi hidrofilik menggunakan taurin dalam *microwave assisted system*.

#### 4.3.1 Penelitian Tahap 1 (Optimasi Ekstraksi Pektin menggunakan *Microwave Assisted Extraction*)

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi pektin dari kulit jeruk manis varietas pacitan menggunakan metode *microwave assisted extraction*, sehingga mendapatkan hasil ekstrak pektin yang optimal berdasarkan perolehan rendemen dan total pektin. Optimasi dilakukan dengan menggunakan rancangan *Response Surface Methodology* (RSM) dan model *Box-Behnken Design* (BBD).



Variabel bebas pada penelitian tahap pertama ini adalah  $X_1$  = rasio bahan bubuk kulit jeruk : pelarut asam oksalat (0.21%) dengan batas bawah 1:40 (-1) dan batas atas 1:60 (+1),  $X_2$  = suhu ekstraksi pektin dengan batas bawah 60°C (-1) dan batas atas 70 °C (+1), serta  $X_3$  = lama waktu dengan batas bawah 1 menit (-1) dan batas atas 11 menit (+1). Respon yang diamati adalah rendemen (%) ( $Y_1$ ) dan total pektin (%) ( $Y_2$ ). Rancangan *Box Behnken* pada proses ekstraksi pektin kulit jeruk manis varietas pacitan dapat dilihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Variabel Terikat, Variabel Bebas dan Level Pada Rancangan BBD**

| Variabel         | Simbol   | Level |      |      |      |
|------------------|--|-------|------|------|------|
|                  |  | -1    | 0    | +1   |      |
| Variabel Bebas   | Rasio Bahan Bubuk Kulit Jeruk : Pelarut As. Oksalat (0.21%) (g/ml) | $X_1$ | 1:40 | 1:50 | 1:60 |
|                  | Suhu (°C)  | $X_2$ | 60   | 65   | 70   |
|                  | Waktu (menit)  | $X_3$ | 1    | 6    | 11   |
| Variabel Terikat | Rendemen (%)   | $Y_1$ |      |      |      |
|                  | Total Pektin (%)   | $Y_2$ |      |      |      |

Hasil optimasi proses ekstraksi pektin yang didapatkan kemudian dimasukkan dalam software *design expert 7.1.5* dan diolah untuk mendapatkan hasil optimum respon yang telah ditentukan, selanjutnya dilakukan tahap validasi perlakuan paling optimum. Metode analisis validasi merupakan suatu tindakan penilaian terhadap metode tertentu untuk membuktikan bahwa metode tersebut merupakan perlakuan paling optimum. Validasi dilakukan dengan cara membandingkan hasil yang diperoleh di laboratorium dengan nilai hasil perhitungan *Design Expert* pada nilai validasi diatas 5% (tidak berbeda nyata).

Proses validasi ini dilakukan dengan 3 kali ulangan. Hasil optimum yang optimal dan telah divalidasi selanjutnya dikarakterisasi meliputi analisa derajat metoksil, kadar asam galakturonat, analisa berat ekuivalen, analisa derajat esterifikasi, gugus fungsi menggunakan spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR).

**Tabel 4.2 Design Aktual, Kode dan Respon Percobaan dengan Metode Box Behnken Design.**

| Std | Run | Variabel Kode  |                |                | Variabel Aktual                                       |           |               | Respon       |
|-----|-----|----------------|----------------|----------------|---|-----------|---------------|--------------|
|     |     | X <sub>1</sub> | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> | Rasio Bubuk Kulit Jeruk : Pelarut Asam Oksalat (g/ml) | Suhu (°C) | Waktu (menit) | Rendemen (%) |
| 1   | 6   | -1             | -1             | 0              | 1:40  | 60        | 6             | 11           |
| 2   | 16  | 1              | -1             | 0              | 1:60  | 60        | 6             | 11           |
| 3   | 11  | -1             | 1              | 0              | 1:40  | 70        | 6             | 11           |
| 4   | 5   | 1              | 1              | 0              | 1:60  | 70        | 6             | 11           |
| 5   | 3   | -1             | 0              | -1             | 1:40  | 65        | 1             | 11           |
| 6   | 7   | 1              | 0              | -1             | 1:60  | 65        | 1             | 11           |
| 7   | 15  | -1             | 0              | 1              | 1:40  | 65        | 11            | 6            |
| 8   | 13  | 1              | 0              | 1              | 1:60  | 65        | 11            | 6            |
| 9   | 17  | 0              | -1             | -1             | 1:50  | 60        | 1             | 11           |
| 10  | 1   | 0              | 1              | -1             | 1:50  | 70        | 1             | 11           |
| 11  | 12  | 0              | -1             | 1              | 1:50  | 60        | 11            | 6            |
| 12  | 14  | 0              | 1              | 1              | 1:50  | 70        | 11            | 6            |
| 13  | 9   | 0              | 0              | 0              | 1:50  | 65        | 6             | 11           |
| 14  | 2   | 0              | 0              | 0              | 1:50  | 65        | 6             | 11           |
| 15  | 4   | 0              | 0              | 0              | 1:50  | 65        | 6             | 11           |
| 16  | 10  | 0              | 0              | 0              | 1:50  | 65        | 6             | 11           |
| 17  | 8   | 0              | 0              | 0              | 1:50  | 65        | 6             | 11           |

#### 4.3.2 Penelitian Tahap 2 (Derivatisasi Pektin menjadi Asam poligalakturonat dan Optimasi Sintesis Surfaktan berbasis Asam Poligalakturonat melalui Modifikasi Hidrofilik menggunakan Taurin)

Penelitian pada tahap ini dilakukan dengan tujuan memperoleh *derivate* pektin yaitu asam poligalakturonat dan mengoptimalkan proses sintesis surfaktan melalui modifikasi asam poligalakturonat secara hidrofilik menggunakan taurin dalam *microwave assisted system*, sehingga dapat diperoleh surfaktan nonionik jenis pektin teramidasi yang optimal berdasarkan respon perolehan derajat amidasi. Optimasi dilakukan dengan rancangan *Response Surface Methodology* (RSM) model *Central Composite Design* (CCD).

Variabel bebas dalam penelitian tahap kedua ini adalah X<sub>1</sub> = suhu *microwave assisted system* dengan batas bawah 70°C (-1) dan batas atas 90°C (+1), serta X<sub>2</sub> = waktu reaksi dengan batas bawah 5 menit (-1) dan batas atas 15 menit (+1).

Respon yang diamati adalah derajat amidasi (Y<sub>1</sub>). Rancangan *Central Composite Design* pada proses sintesis surfaktan dari asam poligalakturonat dengan modifikasi hidrofilik menggunakan taurin dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.3 Variabel Terikat, Variabel Bebas dan Level pada Rancangan CCD**

| Variabel         | Simbol              | Level          |    |    |    |
|------------------|---------------------|----------------|----|----|----|
|                  |                     | -1             | 0  | +1 |    |
| Variabel Bebas   | Suhu (°C)           | X <sub>1</sub> | 70 | 80 | 90 |
|                  | Waktu (menit)       | X <sub>2</sub> | 5  | 10 | 15 |
| Variabel Terikat | Derajat Amidasi (%) | Y <sub>1</sub> |    |    |    |

Hasil optimasi sintesis surfaktan pektin teramidasi yang didapatkan kemudian dimasukkan dalam *design expert 7.1.5* dan diolah untuk mendapatkan hasil optimum respon yang telah ditentukan, selanjutnya dilakukan tahap validasi perlakuan optimum. Metode analisis validasi merupakan suatu tindakan penilaian terhadap metode tertentu untuk membuktikan bahwa metode tersebut merupakan perlakuan optimum. Validasi dilakukan dengan membandingkan hasil yang diperoleh di laboratorium dengan nilai hasil perhitungan *Design Expert* dengan nilai validasi diatas 5% (tidak berbeda nyata). Proses validasi ini dilakukan dengan 3 kali ulangan. Hasil yang optimal dan telah divalidasi selanjutnya dikarakterisasi dengan analisa gugus fungsi pektin teramidasi menggunakan spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red (FTIR)*, analisa *hydrophylic lypophylic balance (HLB)* dan analisa stabilitas emulsi.

**Tabel 4.4 Design Aktual, Kode dan Respon Percobaan dengan Metode Central Composite Design.**

| Std | Run | Variabel Kode  |                | Variabel Aktual |               | Respon              |
|-----|-----|----------------|----------------|-----------------|---------------|---------------------|
|     |     | X <sub>1</sub> | X <sub>2</sub> | Suhu (°C)       | Waktu (menit) | Derajat Amidasi (%) |
| 1   | 5   | -1             | -1             | 70              | 5             |                     |
| 2   | 9   | 1              | -1             | 90              | 5             |                     |
| 3   | 12  | -1             | 1              | 70              | 15            |                     |
| 4   | 11  | 1              | 1              | 90              | 15            |                     |
| 5   | 10  | -1             | 0              | 65,86           | 10            |                     |
| 6   | 1   | 1              | 0              | 94,14           | 10            |                     |
| 7   | 6   | 0              | -1             | 80              | 2,93          |                     |
| 8   | 3   | 0              | 1              | 80              | 17,07         |                     |
| 9   | 13  | 0              | 0              | 80              | 10            |                     |
| 10  | 7   | 0              | 0              | 80              | 10            |                     |
| 11  | 8   | 0              | 0              | 80              | 10            |                     |
| 12  | 4   | 0              | 0              | 80              | 10            |                     |
| 13  | 2   | 0              | 0              | 80              | 10            |                     |

#### 4.4 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

Penelitian mengenai sintesis surfaktan dengan cara modifikasi asam poligalakturonat dari pektin kulit jeruk manis secara hidrofilik meliputi beberapa langkah yaitu: optimasi kondisi ekstraksi pektin menggunakan metode *microwave assisted extraction* dan karakterisasi pektin hasil optimasi, derivatisasi pektin menjadi asam poligalakturonat, dan optimasi proses modifikasi hidrofilik asam poligalakturonat serta karakterisasi surfaktan polimerik pektin teramodifikasi yang dihasilkan dari proses sintesis.

##### 4.4.1 Optimasi Ekstraksi Pektin menggunakan metode *Microwave Assisted Extraction* (Modifikasi Kalonika, 2018)

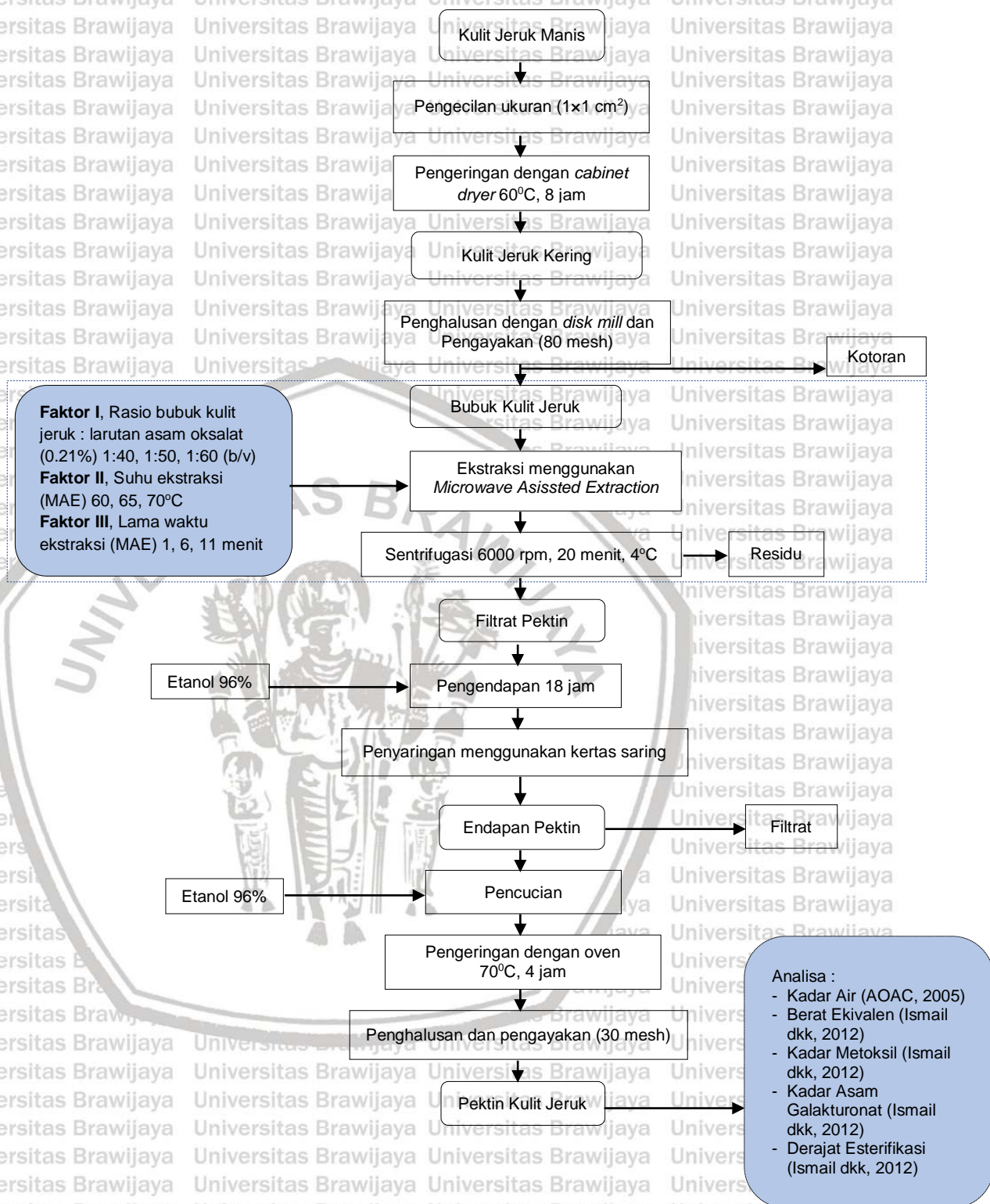
Optimasi pada ekstraksi pektin dari kulit jeruk manis pacitan melalui metode *microwave assisted extraction closed vessel* menggunakan rancangan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan model *Box-Behnken Design* merupakan penelitian tahap 1 yang memiliki prosedur sebagai berikut :

1. Buah jeruk manis disortasi berdasarkan tingkat kematangan dan warna kulit.
2. Kulit jeruk manis dipisahkan dengan daging buahnya.
3. Kulit jeruk manis dipotong dengan ukuran 1x1 cm<sup>2</sup> menggunakan pisau.
4. Dilakukan proses pengeringan dengan *cabinet dryer* pada suhu 60°C selama 8 jam.
5. Kulit jeruk manis yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan *disk mill*.
6. Bubuk kulit jeruk diayak dengan menggunakan ayakan 80 mesh. Selanjutnya siap untuk diekstraksi.
7. Bubuk kulit jeruk manis dan larutan asam oksalat 0,21% ditimbang dan dilarutkan sesuai dengan rasio berat dan volume (b/v) yang telah ditentukan oleh metode *Response Surface Methodology* (RSM) dalam wadah vessel, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirer*.
8. Dilakukan proses ekstraksi menggunakan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) pada suhu dan waktu ekstraksi sesuai yang telah ditentukan oleh metode *Response Surface Methodology* (RSM).
9. Disaring menggunakan kain saring 2 lapis, padatnya (residu) dibuang. Penggunaan kain saring 2 lapis bertujuan untuk memastikan bahwa penyaringan antara padatan dan filtrat berjalan efektif.
10. Disentrifuse pada kecepatan 6000 rpm selama 20 menit dan suhu 4°C
11. Filtrat ditambahkan dengan ethanol 96% dengan perbandingan 1:2.

12. Diaduk menggunakan *shaker* pada kecepatan 150 rpm selama 10 menit.
13. Dilakukan proses pengendapan selama 18 jam untuk mengendapkan pektin.
14. Disaring menggunakan kertas saring kasar, filtratnya dibuang.
15. Endapan pektin dicuci menggunakan ethanol 96% sebanyak 250 ml untuk melarutkan sisa komponen karbohidrat dan asam.
16. Diaduk dan didiamkan selama 15 menit, hal ini dilakukan sebanyak 2 kali.
17. Dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 4 jam. Tray dilapisi dengan aluminium foil agar pektin basah tidak menempel.
18. Pektin kering dihaluskan menggunakan blender.
19. Pektin diayak menggunakan ayakan 30 mesh.
20. Pektin ditimbang menggunakan timbangan digital.
21. Pektin dikarakterisasi berdasarkan analisa total pektin, berat ekuivalen, kadar metoksil, kadar asam galakturonat, dan derajat esterifikasi.

Diagram alir preparasi dan karakterisasi bahan baku pektin dari kulit jeruk manis varietas pacitan dapat dilihat pada Gambar 4.1 berikut ini:





**Gambar 4.1** Diagram Alir Proses Ekstraksi Pektin Kulit Jeruk Manis varietas Pacitan (Modifikasi Kalonika, 2018)

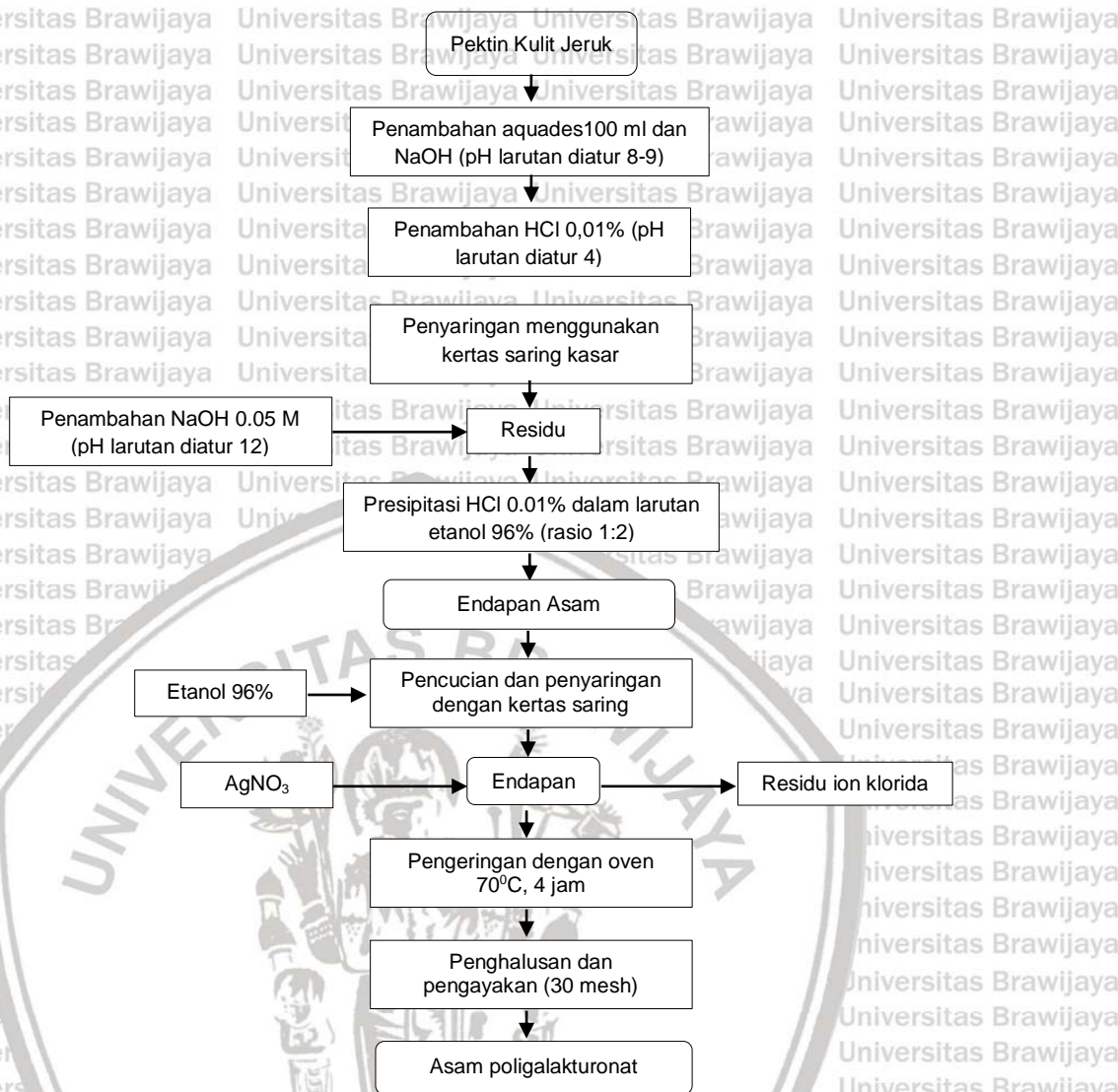
#### 4.4.2 Derivatisasi Pektin (Kertez, 1992) dan Optimasi Proses Modifikasi Asam poligalakturonat secara Hidrofilik (Modifikasi Aris et al., 2016)

Optimasi pada proses modifikasi pektin secara hidrofilik menggunakan rancangan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan model *Box Benhken Design*

merupakan penelitian tahap 2 yang diawali dengan tahap derivatisasi pektin menjadi asam Asam poligalakturonat (PGA) memiliki prosedur sebagai berikut :

1. Bubuk pektin ditimbang sebanyak 1 gam dan dilarutkan dalam 100 ml aquades kemudian ditambahkan 1-4 butir NaOH (larutan di atur pH 8,5) sampai tidak ada perubahan selama 15 menit.
2. Ditambahkan 3 ml HCl 0,01% (larutan di atur pH 4).
3. Larutan disaring menggunakan kertas saring kasar.
4. Residu endapan yang berwarna putih dicuci menggunakan aquades panas.
5. Ditambahkan NaOH 0,05 M 30 ml ( larutan di atur pH 12).
6. Dilakukan presipitasi menggunakan larutan HCl 0,01% dalam etanol 96% (PA) dengan rasio endapan : larutan HCl 0,01% dalam etanol 96% (PA) sebesar 1 : 2
7. Endapan putih dari hasil presipitasi disaring dan dicuci dengan etanol 99% (PA) selama beberapa kali hingga bebas dari residu ion klorida yang ditunjukkan melalui reaksi klorida dengan perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) pada larutan etanol bekas pencucian menjadi negatif (tidak terbentuk endapan bewarna putih),
8. Endapan dikeringkan menggunakan oven pada suhu  $60^\circ\text{C}$  selama 6 jam untuk menghasilkan Asam poligalakturonat.
9. Asam poligalakturonat (PGA) hasil derivatisasi pektin kemudian ditimbang.

Diagam alir derivatisasi pektin menjadi asam poligalakturonat (PGA) disajikan pada Gambar 4.2 berikut ini :



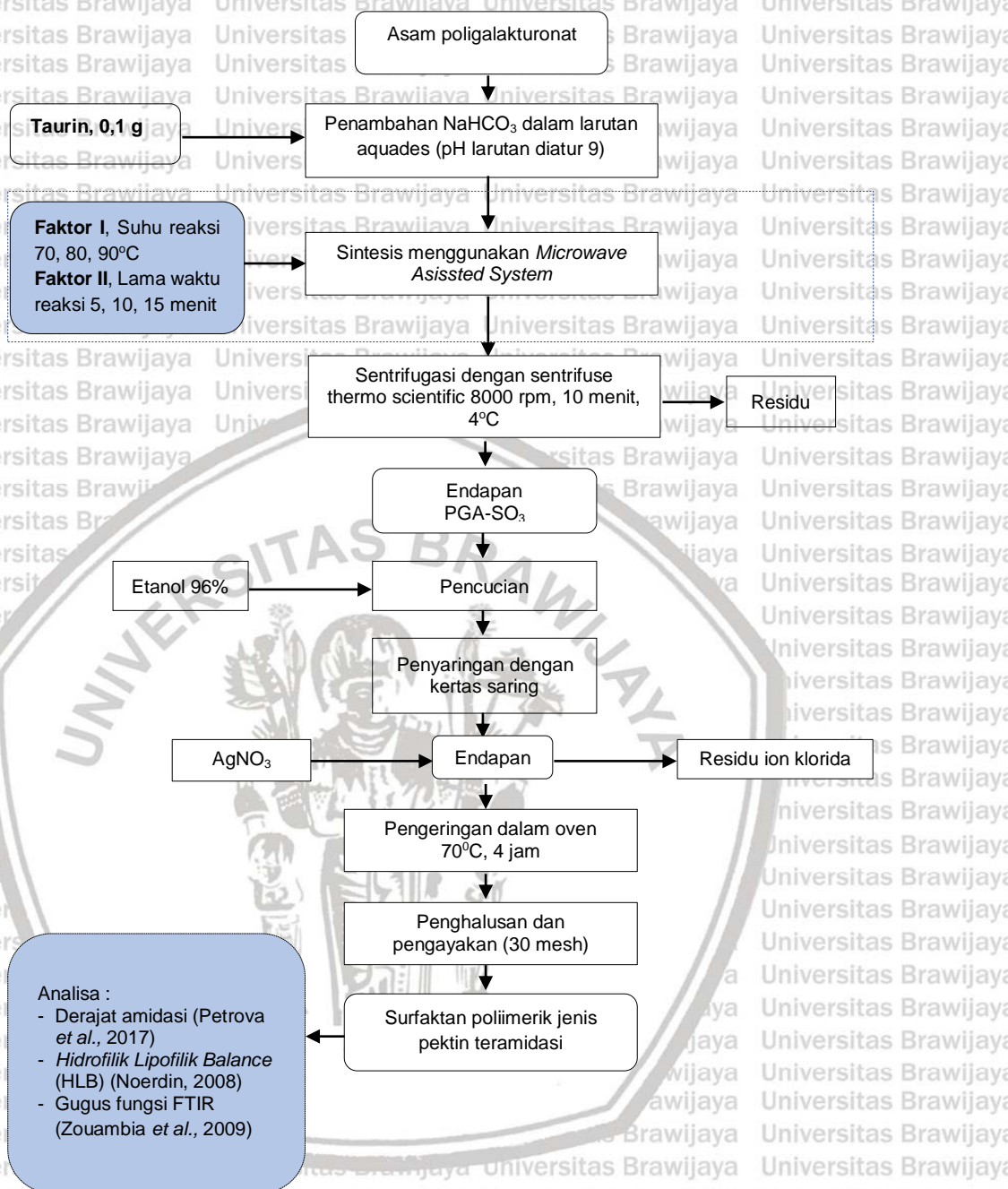
**Gambar 4.2** Diagram Alir Proses Derivatisasi Pektin menjadi Asam Poligalakturonat (Metode Kertez, 1991)



Optimasi proses modifikasi Asam poligalakturonat secara hidrofilik memiliki prosedur sebagai berikut :

1. Bubuk asam poligalakturonat (PGA) ditimbang sebanyak 0,2 gam dan dilarutkan dalam 50 ml aquades.
2. Ditambahkan  $\text{NaHCO}_3$  (larutan di atur pH 9-10) kemudian larutan diaduk dan didiamkan selama 15 menit.
3. *Taurin* ditimbang sesuai dengan rasio (b/b) yang telah ditentukan sebesar 0,1 g kemudian ditambahkan dalam asam poligalakturonat dan larutan  $\text{NaHCO}_3$
4. Dilakukan proses ekstraksi menggunakan *Microwave Assisted System* pada suhu  $70^\circ\text{C}$  -  $90^\circ\text{C}$  dan waktu ekstraksi selama 5 – 15 menit sesuai yang ditentukan metode *Response Surface Methodology* (RSM).
5. Hasil ekstraksi disentrifuse menggunakan sentrifuse Thermo Scientific dengan kecepatan 8000 rpm, suhu  $4^\circ\text{C}$  selama 15 menit.
6. Endapan yang diperoleh dari proses sentrifuse disaring menggunakan kertas saring kasar.
7. Endapan dicuci menggunakan etanol 96% dan disaring hingga bebas dari residu ion klorida yang ditunjukkan melalui reaksi klorida dengan perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) pada larutan etanol bekas pencucian menjadi negatif (tidak terbentuk endapan berwarna putih).
8. Endapan dikeringkan menggunakan oven pada suhu  $60^\circ\text{C}$  selama 6 jam untuk menghasilkan surfaktan polimerik
9. Surfaktan dianalisa derajat amidasi dari masing-masing perlakuan.
10. Setelah diperoleh hasil optimasi lalu dilakukan validasi atau verifikasi berdasarkan prediksi (*suggestion*) dari hasil olah data menggunakan *software Design Expert 7.1.5*. Hasil dari validasi tersebut kemudian dibandingkan dengan prediksi menggunakan uji beda dua sampel berpasangan (*paired t-test*) untuk melihat adanya perbedaan yang signifikan atau tidak signifikan dengan data prediksi.

Diagram alir optimasi proses sintesis surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat melalui modifikasi hidrofilik dalam *microwave assisted system* disajikan pada Gambar 4.3 berikut ini :



**Gambar 4.3** Diagram Alir Sintesis Surfaktan Polimerik berbasis Asam Poligalakturonat (PGA) melalui Modifikasi Hidrofilik (Modifikasi Aris *et al.*, 2016)

#### 4.5 Pengamatan Parameter Penelitian

Pengamatan parameter pada hasil penelitian tahap 1 dari masing-masing perlakuan pada optimasi kondisi ekstraksi pektin menggunakan *microwave assisted extraction*, meliputi: rendemen (Tan *et al.*, 2014) dan total pektin (Rengguna, 1997). Karakterisasi dilakukan pada pektin dengan hasil optimum secara kimia, meliputi; berat ekivalen (Ismail dkk, 2012); kadar asam galakturonat (Ismail dkk, 2012) ; derajat esterifikasi (Ismail dkk, 2012) ; dan analisa gugus fungsi pektin (Wang *et al.*, 2014). derajat metoksil (Ismail dkk, 2012)

Pengamatan parameter penelitian tahap 2 dari masing-masing perlakuan pada optimasi kondisi proses modifikasi pektin secara hidrofilik, meliputi: derajat amidasi (Zouambia *et al.*, 2009). Selanjutnya, karakterisasi fisikokimia terhadap surfaktan jenis pektin teramidasi meliputi: pengujian gugus fungsi amida menggunakan spektrofotometer infra red (FTIR) (Zouambia *et al.*, 2009); analisa *Hydrophile-Lipophile Balance* HLB (Noerdin, 2008). Prosedur analisa penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

#### 4.6 Analisa Data

Analisa data penelitian tahap 1 dan 2 menggunakan software Design Expert 7.1.5 dengan metode *Respon Surface Methodology* rancangan *Box-Behnken Design* (BBD) dan *Central Composite Design* (CCD). Selanjutnya, data hasil optimasi divalidasi atau diverifikasi menggunakan software Minitab 17.1.0 dengan metode *uji paired t-test* antara data prediksi dari software dengan data aktual dari pengujian di laboratorium.

## V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Karakteristik Bahan Baku Kulit Jeruk Manis

Kulit jeruk yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari buah jeruk manis pacitan usia panen sekitar 8 bulan dari pembungaan, dengan berat rata-rata per buah 164,9 – 187,4 g dan diameter buah 6,8 – 7,1 cm, warna kulit hijau kekuningan dengan dominan warna hijau serta ketebalan kulit buah berkisar 3,1 - 3,5 mm (ditampilkan pada Gambar 5.1). Karakteristik fisikokimia bubuk kulit jeruk manis pacitan (*Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Pacitan) disajikan pada Tabel 5.1



**Gambar 5.1 Bahan Baku Kulit Jeruk Manis Pacitan**

(Sumber : Balijestro 2019)

**Tabel 5.1 Karakteristik Fisikokimia Bubuk Kulit Jeruk Manis Pacitan**

| Parameter        | Hasil Analisis | Literatur         |
|------------------|----------------|-------------------|
| Kadar Air (%)    | 8,98±0,08      | 8,33 <sup>a</sup> |
| Total Pektin (%) | 2,05±0,02      | 3,08 <sup>b</sup> |

Keterangan: Setiap data hasil analisis adalah hasil rata-rata dari tiga kali ulangan ± Standar deviasi

<sup>a</sup> Kute *et al.* (2020)

<sup>b</sup> Simpson *et al.* (1984)

Berdasarkan Tabel 5.1 menyatakan kadar air yang terkandung dalam bubuk kulit jeruk manis pacitan (*Citrus sinensis*) sebesar 8,98%. Hasil analisis tidak berbeda dengan batas kadar air yang ditetapkan pada bubuk kulit jeruk yaitu sekitar 8-10% (Shan, 2016; Zema *et al.*, 2018) dan dari hasil penelitian oleh Kute *et al.* (2020) yang memperoleh kadar air sebesar 8,33%. Akan tetapi, hasil uji T-*test* (Lampiran 9.1) menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $P = 0,005 < 0,05$ ) pada perolehan kadar air hasil analisis dengan literatur. Hal tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan bahan baku varietas jeruk manis yang digunakan,

kondisi penggunaan suhu dan alat pengeringan serta penyimpanan bahan sebelum dianalisa.

Pembuatan bubuk kulit jeruk manis pacitan bertujuan untuk menghambat reaksi deterioratif secara mikrobiologis yaitu pertumbuhan mikroorganisme yang akan memperpanjang umur simpan bahan serta meningkatkan luas kontak pada permukaan bahan sehingga memudahkan ekstraksi pektin. Pengeringan pada kulit jeruk merupakan tahap yang paling krusial dalam proses pembuatan bubuk kulit jeruk. Penggunaan suhu pengeringan pada *cabinet dryer* dibatasi oleh sensitivitas bahan yang dapat mempengaruhi kualitas produk akhir.

Menurut Garau *et al.* (2007) penerapan batas aman suhu pengeringan pada kulit jeruk manis (*Citrus aurantium* v. *canoneta*) yaitu berkisar antara 40-70°C. Hasil penelitiannya mendeteksi terjadi penurunan perolehan asam uronat pada penggunaan suhu 80-90°C, sedangkan pada suhu 30°C memerlukan waktu pengeringan yang lebih lama dan menghasilkan perolehan asam uronat yang lebih rendah. Oleh karena itu, konsumsi energi adalah faktor penting lainnya dalam pemilihan suhu pengeringan dengan mempertimbangkan harga bahan bakar, sehingga pada penelitian ini menggunakan suhu sebesar 60°C pada *cabinet dryer*.

Total pektin dinyatakan sebagai persentase kandungan substansi pektin yang terdapat pada kulit jeruk (Müller-Maatsch *et al.*, 2016). Umumnya, pektin dihasilkan dari kulit buah yang telah dihancurkan menjadi bubuk halus. Hal ini menyebabkan terjadinya pengecilan ukuran partikel (*particle size*) serta mempengaruhi sifat fungsionalnya dalam hal peningkatan kapasitas daya ikat air (*water holding capacity*) serta kemampuan suspensi dalam air (Oreopoulou & Russ, 2007) yang dapat mengakibatkan efektivitas permeasi pelarut selama ekstraksi menggunakan metode *microwave assisted extraction* (Kratchanova, Pavlova, & Panchev, 2004). *Microwave assisted extraction* adalah proses ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro untuk memanaskan pelarut yang kontak dengan sampel, sehingga terjadi partisi analit dari sampel ke dalam pelarut (Eskillson & Erland 2000; Rodriguez Seoane *et al.*, 2017).

Hasil analisis total pektin pada bubuk kulit jeruk manis pacitan sebesar 2,05%. Berdasarkan literatur dari penelitian Simpson *et al.* (1984) menghasilkan total pektin pada kulit jeruk manis (*orange peel*) sebesar 3,08%, sehingga hasil uji T (Lampiran 9.2) menunjukkan perbedaan yang nyata ( $P = 0,000 < 0,05$ ) pada perolehan total pektin hasil analisis dengan literatur. Hal ini dapat disebabkan

adanya perbedaan varietas bahan baku, jaringan sel, dan tingkat kematangan yang berbeda (Begum, Yusof, Aziz, & Uddin, 2017).

Total pektin yang terkandung pada kulit jeruk manis pacitan terbilang cukup rendah. Akan tetapi, kandungan pektin pada bubuk kulit jeruk manis masih dapat ditingkatkan melalui ekstraksi menggunakan metode *microwave assisted extraction closed vessel*. Metode tersebut memiliki efisiensi dari segi waktu ekstraksi yang singkat dengan menghasilkan perolehan yield pektin yang tinggi serta memiliki efektivitas untuk menangani sampel dalam jumlah besar dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional (menggunakan *waterbath*, *hot plate stirer*, dan *soxhlet*) dan *ultrasonically assisted extraction* (Bagherian *et al.*, 2011; Rahmani *et al.*, 2019). Oleh karena itu, kulit jeruk manis varietas pacitan berpotensi dijadikan sebagai sumber bahan baku dalam ekstraksi pektin yang selanjutnya pektin tersebut dapat diderivatisasi menjadi asam poligalakturonat atau *polygalacturonic acid* (PGA) sebagai bahan pembuatan surfaktan polimerik.

## 5.2 Optimasi Ekstraksi Pektin dari Kulit Jeruk Manis

### 5.2.1 Respon Rendemen

Data rendemen dan total pektin yang diperoleh berdasarkan kombinasi perlakuan *design expert* ditampilkan pada Tabel 5.2 sebagai berikut:



Tabel 5.2 Data Respon Rendemen dan Total Pektin dari Rancangan BBD

| No | Variabel Kode  |                |                | Variabel Aktual               |              |                  | Respon          |                     |
|----|----------------|----------------|----------------|-------------------------------|--------------|------------------|-----------------|---------------------|
|    | X <sub>1</sub> | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> | Rasio bahan:<br>pelarut (b/v) | Suhu<br>(°C) | Waktu<br>(menit) | Rendemen<br>(%) | Total Pektin<br>(%) |
| 1  | -1             | -1             | 0              | 1:40                          | 60           | 6                | 13,52 ± 0,06    | 11,92 ± 0,09        |
| 2  | 1              | -1             | 0              | 1:60                          | 60           | 6                | 16,76 ± 0,12    | 13,97 ± 0,34        |
| 3  | -1             | 1              | 0              | 1:40                          | 70           | 6                | 12,54 ± 0,45    | 10,24 ± 0,08        |
| 4  | 1              | 1              | 0              | 1:60                          | 70           | 6                | 16,45 ± 1,53    | 13,64 ± 0,11        |
| 5  | -1             | 0              | -1             | 1:40                          | 65           | 1                | 14,63 ± 0,45    | 11,01 ± 0,21        |
| 6  | 1              | 0              | -1             | 1:60                          | 65           | 1                | 15,91 ± 1,19    | 12,91 ± 0,21        |
| 7  | -1             | 0              | 1              | 1:40                          | 65           | 11               | 15,02 ± 0,47    | 12,17 ± 0,24        |
| 8  | 1              | 0              | 1              | 1:60                          | 65           | 11               | 17,71 ± 0,13    | 14,96 ± 0,28        |
| 9  | 0              | -1             | -1             | 1:50                          | 60           | 11               | 20,52 ± 0,01    | 17,92 ± 0,11        |
| 10 | 0              | 1              | -1             | 1:50                          | 70           | 1                | 21,67 ± 0,90    | 18,86 ± 0,07        |
| 11 | 0              | -1             | 1              | 1:50                          | 60           | 11               | 21,82 ± 2,62    | 17,16 ± 0,35        |
| 12 | 0              | 1              | 1              | 1:50                          | 70           | 11               | 21,37 ± 0,89    | 18,03 ± 0,09        |
| 13 | 0              | 0              | 0              | 1:50                          | 65           | 6                | 24,34 ± 2,01    | 21,27 ± 0,11        |
| 14 | 0              | 0              | 0              | 1:50                          | 65           | 6                | 25,76 ± 2,23    | 21,46 ± 0,05        |
| 15 | 0              | 0              | 0              | 1:50                          | 65           | 6                | 20,84 ± 2,92    | 21,03 ± 0,12        |
| 16 | 0              | 0              | 0              | 1:50                          | 65           | 6                | 24,55 ± 3,44    | 20,15 ± 0,43        |
| 17 | 0              | 0              | 0              | 1:50                          | 65           | 6                | 20,63 ± 3,78    | 20,31 ± 0,06        |

Keterangan: X<sub>1</sub> = variabel kode untuk rasio kulit jeruk:larutan asam oksalat,  
 X<sub>2</sub> = variabel kode untuk suhu, X<sub>3</sub> = variabel kode untuk waktu  
 Setiap data hasil analisis adalah hasil rata-rata dari dua kali ulangan  
 ± Standar Deviasi

Tabel 5.2 menunjukkan hasil respon rendemen yang diperoleh memiliki nilai rendemen berkisar antara 12,54% hingga 25,76% sehingga rasio dari nilai maksimum ke nilai minimum adalah 2,05 (Lampiran 5), rasio dari data respon rendemen kurang dari 10 sehingga tidak diperlukan transformasi data. Model yang dipilih adalah model dengan nilai *p-value* kurang dari 0,05 dengan nilai *lack of fit* lebih dari 0,05 karena menjadi model yang paling sesuai untuk digunakan dalam penelitian.

Montgomery, (2017); Varnalis et al., (2004) menyatakan *lack of fit test* menunjukkan kegagalan model untuk merepresentasikan data dalam percobaan.

Model menjadi tidak tepat apabila berpengaruh nyata terhadap design percobaan pada *p-value* <0.05. Berdasarkan sistem komputerisasi *Design Expert* disarankan model *quadratic*. Model ini memiliki nilai *p-value* 0,0006 dan nilai *lack of fit* 0,9448.

Data-data tersebut ditampilkan pada tabel model jumlah kuadrat dari urutan model (*Sequential Model Sum of Squares*) (Lampiran 5) pengujian ketidaktepatan model (*Lack of Fit Tests*) (Lampiran 5), dan ringkasan model statistic (*Model Summary Statistics*) (Lampiran 5).

Berdasarkan hasil analisis dari perlakuan dalam desain eksperimental diperoleh nilai respon rendemen cenderung rendah pada perlakuan ekstraksi dengan penggunaan rasio bahan:pelarut 1:40 (g/ml), suhu 70°C, waktu ekstraksi selama 6 menit sebesar 12,54%. Nilai respon rendemen pektin cenderung tinggi pada ekstraksi dengan penggunaan rasio bahan:pelarut 1:50 (g/ml), suhu 65°C, serta waktu ekstraksi selama 6 menit sebesar 25,76%. Secara umum, rasio bahan:pelarut yang lebih tinggi akan meningkatkan permukaan kontak diantara keduanya dan memfasilitasi difusi komponen yang terekstrak ke dalam pelarut dengan mempercepat pelarutan zat terlarut atau ekstrak (Maran, Sivakumar, Thirugnanasambandham, & Sridhar, 2014).

Berdasarkan tabel ragam *Analysis of Variance* respon rendemen (Lampiran 6) dapat diketahui bahwa hanya faktor rasio bahan:pelarut kuadrat ( $X_1$ )<sup>2</sup> memiliki *p-value* sebesar 0,0001 (*p-value* < 0,05) dan memberikan pengaruh nyata (signifikan) terhadap respon rendemen. Faktor rasio bahan:pelarut berkaitan dengan fenomena transfer massa yang akan menyebabkan terjadinya penetrasi pelarut ke dalam struktur bahan dan diikuti dengan pelarutan zat terlarut atau ekstrak ke dalam larutan. Pelarut polar yang memiliki konstanta dielektrik yang tinggi (seperti air) mampu menyerap energi gelombang mikro lebih kuat, sehingga menyebabkan terjadinya pemanasan pada pelarut untuk mengekstrak senyawa yang diinginkan (Destandau *et al.*, 2013).

Perolehan rendemen pektin dari setiap perlakuan ekstraksi menghasilkan nilai yang rendah dibandingkan dengan literatur oleh Kute *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa pada kulit jeruk manis (basis kering) mengandung pektin sekitar 20--30%. Hal ini mengindikasikan masih adanya komponen senyawa non-pektin yang terdapat pada tiap sampel hasil ekstraksi. Hasil penelitian Marin *et al.* (2007) mengenai komposisi kimia yang terdapat pada bubuk kulit jeruk manis (basis kering) ditunjukkan pada Tabel 5.3.



**Tabel 5.3 Komposisi Kimia Pada Bubuk Kulit Jeruk Manis (Persentase dalam Basis Kering)**

| Komponen                          | Hasil Analisis (%) |
|-----------------------------------|--------------------|
| Serat                             |                    |
| Selulosa                          | 37,08 ± 3,10       |
| Hemiselulosa                      | 11,04 ± 1,05       |
| Lignin                            | 7,52 ± 0,59        |
| Pektin                            | 23,02 ± 2,12       |
| Gula (sukrosa, glukosa, fruktosa) | 9,57 ± 0,22        |
| Flavonoid                         | 4,50 ± 0,15        |
| Abu                               | 2,56 ± 0,10        |
| Lemak                             | 4,00 ± 0,15        |
| Kadar air                         | 7                  |

Sumber : Marin *et al.* (2007)

Keterangan: Setiap data hasil analisis adalah hasil rata-rata dari 7 kali ulangan ± Standar deviasi.

Ekstraksi pektin menggunakan metode *microwave assisted extraction closed vessel* memiliki mode resonansi untuk memproduksi energi panas melalui pancaran radiasi gelombang mikro, sehingga mampu menghasilkan efisiensi waktu ekstraksi dan efektivitas perolehan rendemen pektin (Al Mamoori & Al Janabi, 2018). Energi gelombang mikro juga mampu menginaktivasi enzim pendegradasi pektin (*pectinesterase*) yang terkandung di dalam kulit jeruk. Enzim *pectinesterase* dapat berinteraksi dengan pektin serta dapat menyebabkan penurunan kelarutan pektin akibat degradasi pektin menjadi asam pektat. Dengan adanya radiasi gelombang mikro, maka inaktivasi enzim *pectinesterase* akan meningkatkan kelarutan pektin dari hasil disintegrasi sel yang berpengaruh pada karakteristik pori-pori bahan serta memastikan permeasi pelarut (difusi molekul pelarut melalui pori bahan) berlangsung dengan baik dan cepat (Kratchanova *et al.*, 2004; Zhongdong, Guohua, Yunchang, & Kennedy, 2006). Progam *design expert* juga menghasilkan persamaan polinomial model ordo kedua dalam bentuk variabel kode yakni:

$$Y = 23,22 + 1,39X_1 - 0,074X_2 + 0,40X_3 + 0,17X_1X_2 + 0,35X_1X_3 - 0,40X_2X_3 - 6,97X_1^2 - 1,44X_2^2 - 0,44X_3^2$$

Keterangan:  $X_1$  : rasio bahan:pelarut (g/ml)

$X_2$  : suhu ekstraksi pektin kulit jeruk (°C)

$X_3$  : waktu ekstraksi pektin kulit jeruk (menit)

Koefisien Y (respon) menunjukkan besarnya kenaikan setiap kenaikan koefisien X (faktor) satu satuan. Koefisien X yang bernilai positif akan menyebabkan peningkatan kepada koefisien Y, sedangkan pada koefisien X yang bernilai negatif maka akan menyebabkan penurunan pada koefisien Y (Mourabet et al., 2017). Persamaan diatas menunjukkan interpretasi terhadap intercept yang bernilai negatif apabila tidak ada pengaruh variabel rasio bahan:pelarut dan suhu ekstraksi serta lama waktu ekstraksi pektin kulit jeruk manis atau sama dengan nol.

Nilai koefisien rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ) dan waktu ( $X_3$ ) ekstraksi pektin kulit jeruk manis sebesar 1,39 dan 0,40 menunjukkan adanya hubungan positif yang berpengaruh terhadap rendemen pektin. Hal ini dikarenakan pada proses ekstraksi pektin kulit jeruk manis, bubuk kulit jeruk akan menyerap air hingga pada suatu titik ganula akan pecah, semakin lama waktu yang diberikan maka semakin optimal pecahnya ganula. Semakin tinggi rasio bahan:pelarut dan semakin lama waktu ekstraksi, menyebabkan rendemen pektin akan semakin meningkat.

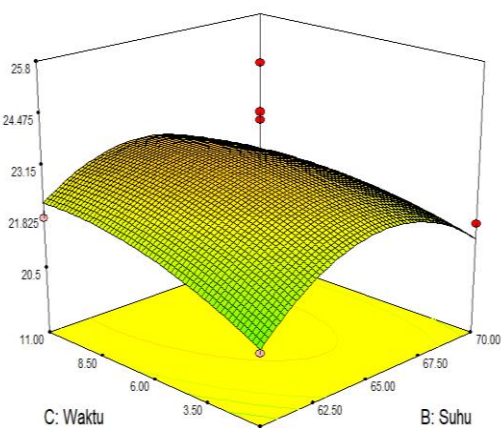
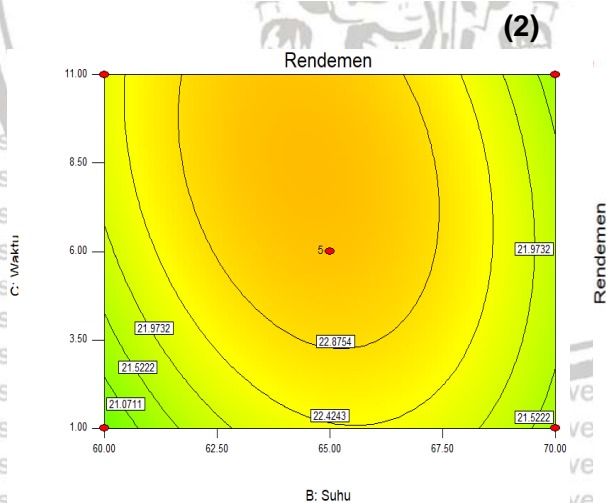
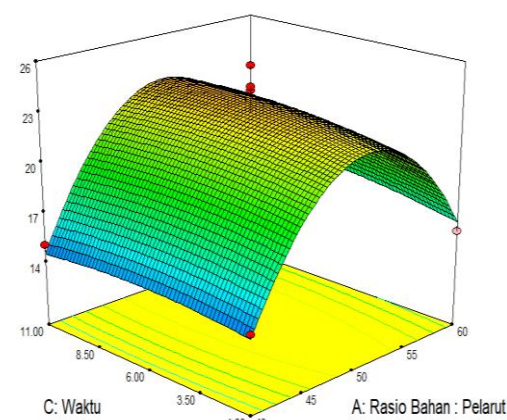
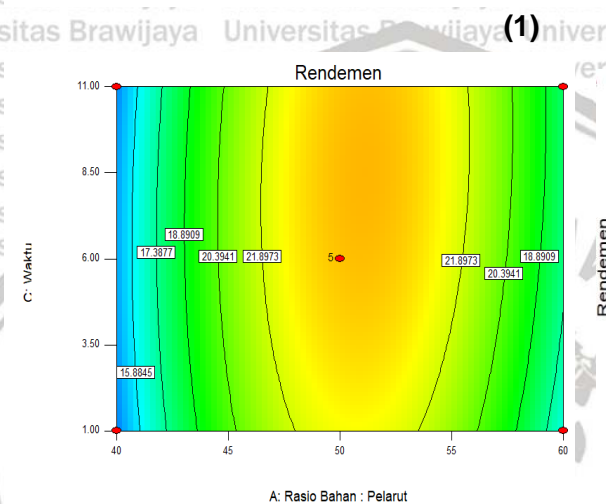
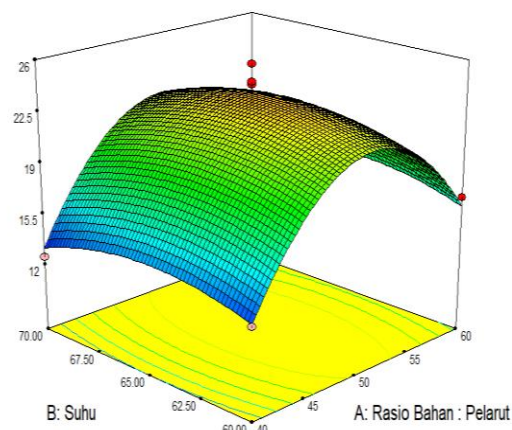
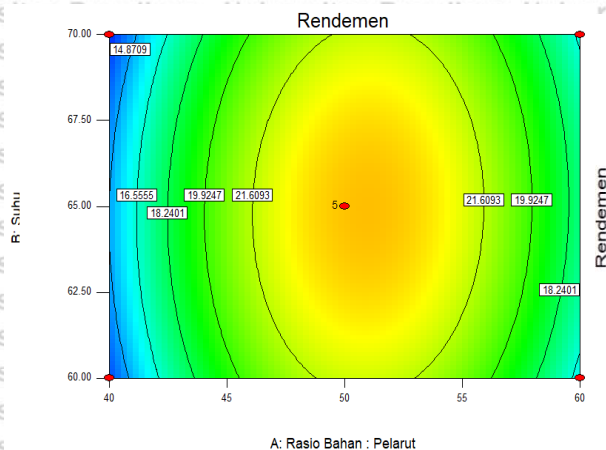
Li *et al.* (2010) menjelaskan penambahan volume pelarut menyebabkan pembengkakan (*swelling*) pada bahan yang akan meningkatkan luas permukaan kontak antara bahan dengan pelarut, sehingga gelombang mikro dapat diserap langsung oleh bahan untuk memecah dinding sel dan mengakibatkan pelepasan pektin ke larutan. Peningkatan waktu ekstraksi mendorong terjadinya akumulasi termal pada larutan ekstraksi yang menyebabkan kelarutan pektin (Prakash Maran, Sivakumar, Thirugnanasambandham, & Sridhar, 2013).

Nilai koefisien  $X_2$  (suhu ekstraksi) dari persamaan diatas memberikan pengaruh negatif pada respon rendemen nilai  $X_2$  adalah sebesar  $-0,074X_2$ , hal ini disebabkan faktor  $X_2$  adalah suhu ekstraksi pektin yakni semakin tinggi suhu ekstraksi maka perolehan rendemen pektin semakin rendah dikarenakan pektin bersifat termolabil dan mengalami degradasi (Maran *et al.*, 2014). Arrutia *et al.*, (2020) menyatakan degradasi pektin mengakibatkan demetoksilasi atau de-esterifikasi yang akan mempengaruhi sifat fungsional pektin khususnya sebagai agen pembentuk gel (*gelling agent*).

Nilai rasio bahan:pelarut kuadrat ( $X_1^2$ ) dan suhu ekstraksi ( $X_2^2$ ) serta waktu ekstraksi pektin ( $X_3^2$ ) seluruhnya bernilai negatif, yakni berturut-turut  $-6,97X_1^2$ ,  $-1,44X_2^2$ , dan  $-0,44X_3^2$  yang mengindikasikan adanya titik stationer maksimum dari permukaan respon. Interaksi antar variabel bebas yakni rasio bahan:pelarut, suhu dan waktu ekstraksi pektin terhadap respon rendemen dalam bentuk kurva

permukaan respon kontur plot dan plot permukaan. Kontur plot merupakan grafik yang menggambarkan permukaan respon secara dua dimensi, dimana semua titik variabel pada respon yang sama dihubungkan untuk menghasilkan garis kontur respon yang konstan. Apabila model yang disarankan mengandung efek interaksi, maka garis pada kontur plot akan melengkung (tidak lurus), sedangkan kurva plot permukaan adalah tampilan tiga dimensi yang dapat memberikan gambaran respon dengan lebih jelas (Antony, 2014). Grafik hubungan antara tiga variabel ditampilkan pada Gambar 5.2.





**Gambar 5.2 Kontur Plot dan Kurva Respon Permukaan (3D) Rendemen**

Keterangan:

- (1) Rasio bahan:pelarut dan suhu ekstraksi pektin kulit jeruk manis
- (2) Rasio bahan:pelarut dan waktu ekstraksi pektin kulit jeruk manis
- (3) Suhu ekstraksi pektin dan waktu ekstraksi pektin kulit jeruk manis

Gambar 5.2 (1) menunjukkan pengaruh penggunaan rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ) dan suhu ekstraksi ( $X_2$ ) yang tinggi pada awal ekstraksi akan menghasilkan peningkatan rendemen pektin. Namun, apabila interaksi antara kedua variabel tersebut ditingkatkan pada nilai tertentu dapat menyebabkan rendemen pektin mengalami penurunan. Pelarut khususnya air dapat menyerap energi gelombang mikro dan mengakibatkan peningkatan luas permukaan kontak antara bahan dan pelarut sehingga meningkatkan rendemen pektin. (Adetunji, Adekunle, Orsat, & Raghavan, 2017). Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi pektin kulit jeruk manis adalah larutan asam oksalat yang memiliki pH 1,8. Larutan asam organik dengan pH rendah diperlukan untuk menghidrolisis protopektin menjadi pektin ke dalam larutan. Ketidaklarutan protopektin dalam air karena berikatan dengan selulosa dan hemiselulosa melalui kehadiran ion polivalen seperti kalsium dan magnesium, sehingga adanya ion  $H^+$  dari pelarut yang asam berfungsi untuk menggantikan ion kalsium atau magnesium tersebut pada protopektin dan akan menghasilkan pektin yang larut dalam air (Sulihono dkk, 2012; Yeoh *et al.*, 2008; Turakhozhayev, 1994).

Perolehan rendemen pektin meningkat dengan peningkatan rasio bahan:pelarut dari 1:40 menjadi 1:50 (g/ml). Hal ini terjadi karena pelarut yang digunakan dalam sistem ekstraksi secara efisien mengasimilasi energi gelombang mikro dan menyebabkan pembengkakan bahan, yang sangat ideal untuk terjadinya kontak antara permukaan atau jaringan dalam kulit jeruk manis dan pelarut (Maran *et al.*, 2015; Moorthy, Maran, Surya, Naganyashree, & Shivamathi, 2015), yang mengakibatkan hancurnya dinding sel sehingga pelepasan pektin dapat dengan mudah larut ke dalam media ekstraksi.

Peningkatan lebih lanjut rasio bahan terhadap pelarut menghasilkan penurunan hasil rendemen pektin. Hal ini dapat dijelaskan bahwa pelarut ekstraksi dalam keadaan jenuh dengan zat terlarut, dan jumlah pelarut yang lebih tinggi dapat mengurangi penyerapan gelombang mikro oleh bahan. Selain itu, hal ini dapat berdampak negatif pada kecepatan transfer massa dan menghalangi penetrasi pektin ke dalam larutan, yang dapat mengurangi efisiensi ekstraksi (Li *et al.*, 2012; Maran *et al.*, 2015; Moorthy *et al.*, 2015).

Peningkatan suhu ekstraksi dari 60°C menjadi 65°C akan menurunkan tegangan permukaan pelarut yang berdampak pada peningkatan kapasitas penetrasi bahan untuk melarutkan ekstrak, namun penggunaan suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan pelarut lebih cepat mencapai titik jenuh dengan pektin yang akan mengalami degradasi (de-esterifikasi) menjadi asam pektat dengan

perolehan derajat esterifikasi yang rendah (Moradi, Rahimi, Moeini, & Parsamoghadam, 2018).

Berdasarkan Gambar 5.2 (2) menunjukkan pengaruh penggunaan rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ) dan waktu ekstraksi ( $X_3$ ) yang tinggi pada tahap awal ekstraksi akan menghasilkan peningkatan rendemen pektin, sampai pada suatu kondisi tertentu mengalami penurunan. Faktor rasio bahan:pelarut yang meningkat (bertambahnya volume pelarut) akan menghasilkan penurunan viskositas pelarut dan peningkatan konsentrasi (energi pendorong yang mendukung pergerakan molekul) dalam proses difusi pektin, sehingga dapat diperoleh rendemen pektin yang tinggi sampai pada suatu titik tercapai kondisi kesetimbangan dimana pektin tersebar luas secara merata di dalam larutan (Adetunji *et al.*, 2017).

Faktor lain yang mempengaruhi ekstraksi pektin adalah waktu ekstraksi, yang berhubungan dengan efek perpindahan massa. Pemilihan waktu ekstraksi yang tepat menjadi salah satu faktor untuk memperoleh pektin yang lebih baik dalam ekstraksi dengan bantuan gelombang mikro. Hasil yang ditunjukkan pada Gambar 5.1 (2) menunjukkan dampak waktu pada ekstraksi pektin. Terlihat bahwa rendemen pektin meningkat seiring bertambahnya waktu ekstraksi dari 1 menjadi 6 menit dan mengalami penurunan nilai rendemen pektin seiring bertambahnya waktu dari 6 menjadi 11 menit. Karakteristik ini dapat dijelaskan dengan penetrasi energi gelombang mikro dalam sistem ekstraksi, akan menyebabkan intensifikasi termal pelarut yang mendegradasi pektin dari bahan ke dalam pelarut pada interval waktu 1-6 menit (Maran *et al.* (2014).

Studi lain melaporkan rendemen pektin mengalami peningkatan seiring bertambahnya waktu. Hal ini terjadi karena semakin lama waktu ekstraksi akan memberikan peluang bagi pelarut bereaksi dengan bahan untuk waktu yang lebih lama (Li *et al.*, 2012; Liew, Chin, & Yusof, 2014). Meski demikian, paparan iradiasi gelombang mikro yang terlalu lama dalam *microwave assisted extraction* dapat menyebabkan degradasi pektin.

Maran *et al.* (2014) menyatakan peningkatan volume pelarut menyebabkan pembengkakan (*swelling*) pada bahan yang akan meningkatkan luas permukaan kontak antara bahan dengan pelarut sehingga gelombang mikro dapat diserap langsung oleh bahan untuk memecahkan dinding sel dan melepaskan pektin ke dalam larutan. Namun, peningkatan volume pelarut juga akan mengakibatkan pembengkakan yang berlebihan pada bahan untuk dapat melarutkan pektin pada suhu dan waktu ekstraksi yang ditetapkan. Semakin lama waktu ekstraksi pada

kondisi suhu tertentu akan menyebabkan degradasi pektin, sehingga berpengaruh terhadap penurunan rendemen pektin.

Berdasarkan Gambar 5.2 (3) memperlihatkan pengaruh suhu ( $X_2$ ) dan waktu ekstraksi ( $X_3$ ) terhadap nilai rendemen pektin. Kenaikan suhu ekstraksi dari 60°C menjadi 65°C mengakibatkan perolehan rendemen pektin mengalami peningkatan di awal ekstraksi dan pada suatu titik mengalami penurunan. Hal ini disebabkan suhu berperan dalam meningkatkan energi kinetik molekul pektin dari dalam bahan untuk berdifusi ke larutan. Sedangkan, peningkatan waktu ekstraksi dari 1 menit menjadi 6 menit akan meningkatkan rendemen pektin, yang disebabkan oleh semakin bertambah waktu berlangsungnya kontak antara bahan dan pelarut untuk proses pelarutan pektin ke dalam larutan. Penggunaan waktu ekstraksi yang lebih panjang disertai dengan peningkatan suhu tidak akan mempengaruhi transfer massa ekstrak pada larutan yang telah mencapai pada kondisi kesetimbangan atau titik jenuh dengan pektin, melainkan pektin tersebut dapat mengalami degradasi (Moradi et al., 2018).

### 5.2.2 Kenormalan Data

Distribusi data respon rendemen dapat diketahui normal atau tidaknya berdasarkan grafik *normal plot of residual* yang ditampilkan pada Lampiran 7.1. Nilai residual dari respon rendemen pada gambar diatas menunjukkan kedekatan dengan garis kenormalan (garis lurus), sehingga dapat disimpulkan bahwa data respon rendemen terdistribusi normal dan hasil aktual tidak jauh berbeda dengan hasil yang diprediksikan oleh *software design expert*. Sarabia & Ortiz (2009) menjelaskan apabila titik-titik data berada di sekitar garis diagonal (garis lurus) maka model yang digunakan sudah cocok karena perbedaan antara hasil eksperimen dan prediksi program *design expert* minimal.

Uji verifikasi terhadap kenormalan data dari respon rendemen dilakukan menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* pada *software Minitab 17* untuk memastikan data yang diperoleh terdistribusi normal. Berdasarkan hasil uji normalitas pada Lampiran 7.1, data respon rendemen telah menunjukkan terdistribusi secara normal karena nilai p-value yang diperoleh adalah 0,139. Nilai p-value ( $>0,05$ ) pada uji *Kolmogorov-Smirnov* mengindikasikan bahwa data tersebar normal (Ghasemi and Zahediasl, 2012).

### 5.2.3 Respon Total Pektin

Total pektin merupakan persentase kandungan substansi pektin yang terdapat pada kulit jeruk (Müller-Maatsch *et al.*, 2016). Total pektin yang dinyatakan sebagai kalsium pektat pada bubuk kulit jeruk manis dianggap sebagai total keseluruhan substansi pektin. Pengukuran kalsium pektat bertujuan untuk menghitung perolehan pektin selama ekstraksi (Kulkarni & Vijayanand, 2010).

Tabel 5.2 menunjukkan hasil respon total pektin yang diperoleh memiliki nilai berkisar antara 10,24% hingga 21,46% sehingga rasio dari nilai maksimum ke nilai minimum adalah 2,09 (Lampiran 5), rasio dari data respon total pektin kurang dari 10 sehingga tidak diperlukan transformasi data. Model yang dipilih adalah model dengan nilai *p-value* < 0,05 dengan nilai *lack of fit* > 0,05 karena menjadi model yang paling sesuai untuk digunakan dalam penelitian.

Montgomery, (2017); Varnalis *et al.*, (2004) menyatakan *lack of fit test* menunjukkan kegagalan model untuk merepresentasikan data dalam percobaan. Model menjadi tidak tepat apabila berpengaruh nyata terhadap design percobaan pada *p-value* < 0.05. Berdasarkan sistem komputerisasi *Design Expert* disarankan model *quadratic*. Model ini memiliki nilai *p-value* < 0,0001 dan nilai *lack of fit* 0,0852. Data-data tersebut ditampilkan pada tabel model jumlah kuadrat dari urutan model (*Sequential Model Sum of Squares*) (Lampiran 5) pengujian ketidaktepatan model (*Lack of Fit Tests*) (Lampiran 5), dan ringkasan model statistic (*Model Summary Statistics*) (Lampiran 5).

Berdasarkan hasil analisis dari perlakuan dalam desain eksperimental diperoleh nilai respon total pektin cenderung rendah pada perlakuan ekstraksi dengan penggunaan rasio bahan:pelarut 1:40 (g/ml), suhu 70°C, waktu ekstraksi selama 6 menit sebesar 10,24%. Nilai respon total pektin cenderung tinggi pada ekstraksi dengan penggunaan rasio bahan:pelarut 1:50 (g/ml), suhu 65°C, serta waktu ekstraksi selama 6 menit sebesar 21,46%.

Berdasarkan tabel ragam *Analysis of Variance* respon total pektin (Lampiran 6) dapat diketahui bahwa faktor rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ) dan rasio bahan:pelarut kuadrat ( $X_1^2$ ) memiliki nilai *p-value* masing-masing 0,0065 dan < 0,0001 memberikan pengaruh nyata terhadap respon total pektin. Hal ini disebabkan larutan asam oksalat sebagai pelarut yang digunakan mampu menyerap energi gelombang mikro dan menyebabkan pemanasan pelarut yang selanjutnya akan meningkatkan nilai total pektin hingga pada suatu kondisi tertentu akan mengalami penurunan. Destandau *et al.* (2013) menjelaskan peningkatan volume pelarut



pada titik tertentu dapat menimbulkan pembengkakan (*swelling*) yang berlebihan pada bahan sehingga membutuhkan lebih banyak waktu untuk mencapai suhu ekstraksi yang diinginkan dan berdampak pada penurunan kelarutan senyawa ekstrak.

Faktor lain yang memberikan pengaruh nyata terhadap respon total pektin adalah kuadrat suhu ekstraksi ( $X_2^2$ ) yang memiliki nilai *p-value* sebesar 0,0103. Kenaikan suhu ekstraksi mampu meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam bahan untuk melarutkan pektin, tetapi penggunaan suhu tinggi juga dapat menyebabkan degradasi pektin yang bersifat termolabil (Xiao, Song, Wang, & Li, 2012). Faktor kuadrat waktu ekstraksi ( $X_3^2$ ) memiliki nilai *p-value* sebesar 0,0276 juga memberikan pengaruh nyata terhadap perolehan total pektin. Peningkatan waktu ekstraksi (sampai tercapai kondisi optimum) akan mengakibatkan terjadinya akumulasi termal dalam larutan ekstraksi karena adanya penyerapan energi gelombang mikro sehingga mendorong proses pelarutan pektin ke dalam larutan. Namun, waktu ekstraksi yang terlalu lama dapat menyebabkan degradasi pektin (Maran *et al.*, 2014). Program *design expert* juga menghasilkan persamaan polinomial model ordo kedua dalam bentuk variabel kode yakni:

$$Y = 20,84 + 1,27X_1 - 0,025X_2 + 0,20X_3 + 0,34X_1X_2 + 0,22X_1X_3 - 0,017X_2X_3 - 6,82X_1^2 - 1,59X_2^2 - 1,27X_3^2$$

Keterangan:  $X_1$  : rasio bahan:pelarut (g/ml)

$X_2$  : suhu ekstraksi pektin kulit jeruk (°C)

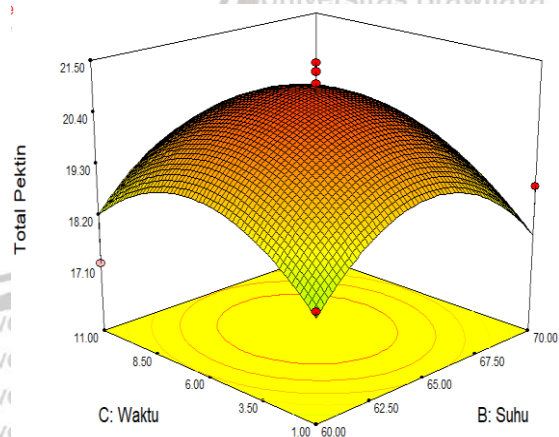
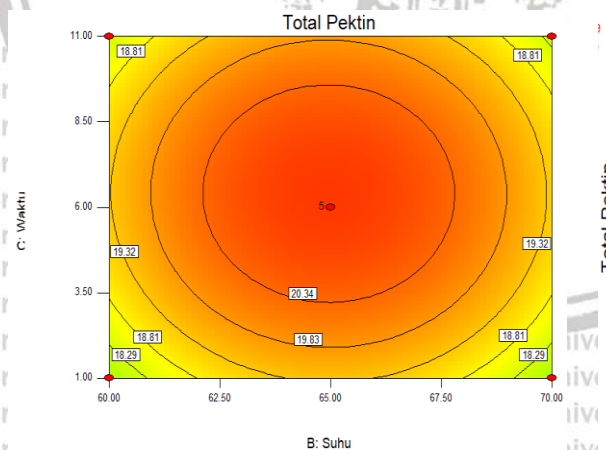
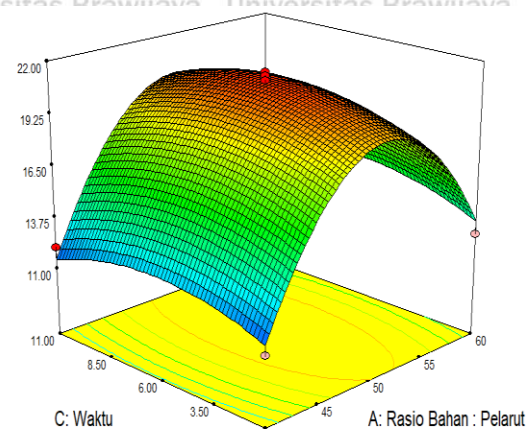
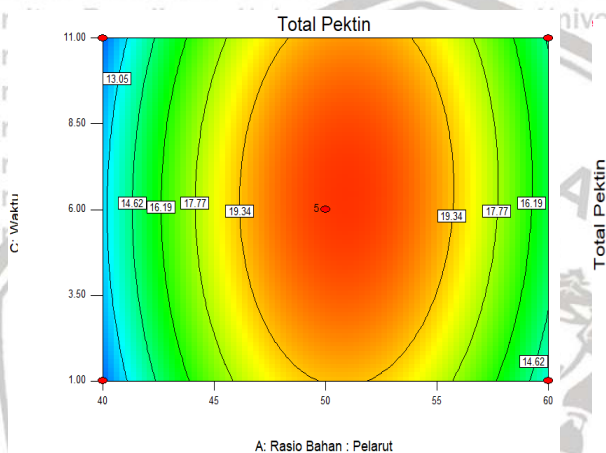
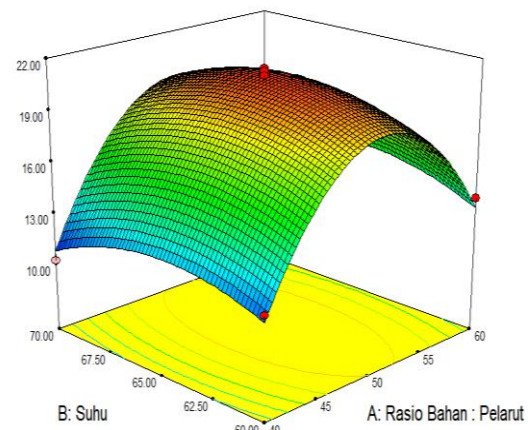
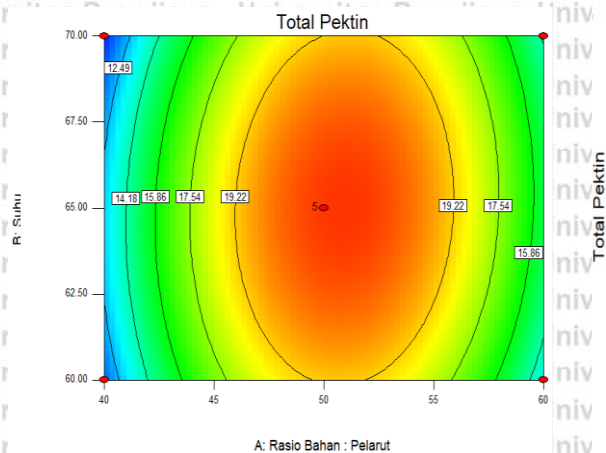
$X_3$  : waktu ekstraksi pektin kulit jeruk (menit)

Nilai koefisien rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ) dan waktu ( $X_3$ ) ekstraksi pektin kulit jeruk manis sebesar 1,27 dan 0,20 menunjukkan adanya hubungan positif yang berpengaruh terhadap perolehan total pektin. Semakin tinggi rasio bahan:pelarut dan semakin lama waktu ekstraksi, maka total pektin akan semakin meningkat. Li *et al.* (2010) menjelaskan penambahan volume pelarut menyebabkan pembengkakan (*swelling*) pada bahan yang akan meningkatkan luas permukaan kontak antara bahan dengan pelarut, sehingga gelombang mikro dapat diserap langsung oleh bahan untuk memecah dinding sel dan mengakibatkan pelepasan pektin ke larutan. Peningkatan waktu ekstraksi mendorong terjadinya akumulasi termal pada larutan ekstraksi yang menyebabkan kelarutan pektin (Prakash Maran *et al.*, 2013).

Nilai koefisien pada faktor suhu ekstraksi ( $X_2$ ) yakni -0,025 memberikan hubungan negatif terhadap respon total pektin. Peningkatan suhu ekstraksi menyebabkan kapasitas pelarut untuk melarutkan pektin meningkat dan juga mengakibatkan penurunan tegangan permukaan pelarut karena gerakan antarmolekul semakin cepat, sehingga akan meningkatkan daya pembasahan sampel serta penetrasi pelarut ke dalam bahan (Xiao *et al.*, 2012). Akan tetapi, semakin tinggi suhu ekstraksi maka perolehan total pektin semakin rendah dikarenakan sifat pektin yang termolabil dapat mengalami degradasi (Maran *et al.*, 2014).

Nilai rasio bahan:pelarut kuadrat ( $X_1^2$ ), dan suhu ( $X_2^2$ ) serta waktu ekstraksi ( $X_3^2$ ) seluruhnya bernilai negatif, yakni berturut-turut  $-6,82X_1^2$ ,  $-1,59X_2^2$ , dan  $-1,27X_3^2$  yang mengindikasikan adanya titik stationer maksimum dari permukaan respon. Analisis lanjutan model *quadratic* setelah diperoleh titik stasioner dilakukan untuk menentukan titik optimum dengan karakteristik kurva permukaan respon total pektin berada pada minimum, maksimum (Nuryanti dan Salimy, 2008).

Interaksi antar variabel bebas yakni rasio bahan:pelarut, suhu dan waktu ekstraksi pektin terhadap respon total pektin dalam bentuk kurva permukaan respon kontur plot dan plot permukaan. Kontur plot merupakan grafik yang menggambarkan permukaan respon secara dua dimensi, dimana semua titik variabel pada respon yang sama dihubungkan untuk menghasilkan garis kontur respon yang konstan. Apabila model yang disarankan mengandung efek interaksi, maka garis pada kontur plot akan melengkung (tidak lurus), sedangkan kurva plot permukaan adalah tampilan tiga dimensi yang dapat memberikan gambaran respon dengan lebih jelas (Antony, 2014). Grafik hubungan antara tiga variabel ditampilkan pada Gambar 5.3.



**Gambar 5.3 Kontur Plot dan Kurva Respon Permukaan (3D) Total Pektin**

Keterangan:

- (1) Rasio bahan:pelarut dan suhu ekstraksi pektin kulit jeruk manis
- (2) Rasio bahan:pelarut dan waktu ekstraksi pektin kulit jeruk manis
- (3) Suhu ekstraksi pektin dan waktu ekstraksi pektin kulit jeruk manis

Gambar 5.3 (1) menunjukkan pengaruh penggunaan rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ) dan suhu ekstraksi ( $X_2$ ) yang tinggi pada awal ekstraksi akan menghasilkan perolehan rendemen pektin yang semakin meningkat. Peningkatan suhu akan meningkatkan perolehan pektin, hal ini terjadi karena pada suhu tinggi dapat menurunkan tegangan permukaan pelarut dan mengakibatkan gerakan antar molekul pada pelarut semakin cepat, sehingga daya pembasahan sampel serta penetrasi pelarut ke dalam bahan akan meningkat yang dapat berpengaruh terhadap desorpsi atau pelepasan pektin dari bahan tersebut (Xiao *et al.*, 2012).

Penggunaan suhu ekstraksi ( $X_2$ ) di atas 65°C menyebabkan degradasi pektin yang bersifat termolabil. Faktor rasio bahan:pelarut berkaitan dengan pemilihan volume pelarut yang digunakan, volume pelarut yang digunakan harus cukup untuk memastikan bahan terendam dalam pelarut terutama apabila bahan tersebut akan mengalami pembengkakan (*swelling*) selama ekstraksi. Namun, volume pelarut yang berlebihan akan menurunkan adsorpsi gelombang mikro ke dalam bahan disebabkan pelarut lebih banyak menyerap energi mikro sehingga terjadi pecahnya dinding sel pada bahan dan transfer massa tidak terjadi (Li *et al.*, 2010).

Tatke & Jaiswal (2011) menyatakan pemanasan pada gelombang mikro mampu diserap secara langsung oleh bahan dan menyebabkan kerusakan struktur sel terutama pada kulit buah yang memiliki kelembaban internal tinggi dengan kehadiran molekul polar yakni air, melalui peningkatan tekanan internal pada sel maka akan melepaskan senyawa ekstrak. Destandau *et al.* (2013) menyatakan adanya peningkatan volume pelarut pada titik tertentu akan menimbulkan pembengkakan (*swelling*) yang berlebihan pada bahan sehingga membutuhkan lebih banyak waktu untuk mencapai suhu ekstraksi yang ditetapkan dan berdampak pada penurunan kelarutan pektin. Oleh karena itu, penggunaan rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ) yakni 1:50 (g/ml) menghasilkan total pektin tertinggi.

Gambar 5.3 (2) menunjukkan interaksi rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ) dan waktu ekstraksi ( $X_3$ ) terhadap respon perolehan total pektin. Peningkatan rasio bahan:pelarut ( $X_1$ ) dari 1:40 menjadi 1:50 (g/ml) disertai peningkatan waktu ekstraksi ( $X_3$ ) dari 1 menit hingga 6 menit menghasilkan total pektin yang meningkat. Nilai total pektin menurun seiring dengan peningkatan rasio bahan:pelarut dari ( $X_1$ ) 1:50 menjadi 1:60 (g/ml). Volume pelarut yang berlebihan tidak dapat melarutkan banyak pektin akibat adanya pembengkakan (*swelling*) yang berlebihan pada bahan, pelarut lebih banyak menyerap radiasi gelombang

mikro dan menyebabkan degradasi pektin serta efektivitas penggunaan energi gelombang mikro (Li *et al.*, 2010).

Penggunaan waktu ekstraksi ( $X_3$ ) selama 1 hingga 6 menit menyebabkan peningkatan perolehan total pektin, kemudian mengalami penurunan saat peningkatan lama waktu ekstraksi ( $X_3$ ) lebih dari 6 menit diterapkan. Waktu ekstraksi berkaitan dengan lama berlangsungnya iradiasi gelombang mikro yang dibutuhkan untuk memecah dinding sel pada kulit jeruk manis agar pelarut dapat melakukan proses hidrolisis pektin. Hasil perolehan total pektin berkurang ketika larutan ekstrak menerima iradiasi energi gelombang mikro pada penambahan lama waktu ekstraksi 11 menit. Hal ini disebabkan degradasi pektin yang bersifat termolabil, pelarut polar seperti air mudah mengalami pemanasan yang berlebihan (*overheating*) karena sifat dielektrik dan kapasitas penyerapan energi yang tinggi (Lucchesi, Smadja, Bradshaw, Louw, & Chemat, 2007; Zheng, YIN, LIU, & XU, 2011).

Gambar 5.3 (3) menunjukkan interaksi suhu ( $X_2$ ) dan waktu ekstraksi ( $X_3$ ) terhadap respon perolehan total pektin dengan nilai yang bervariasi. Peningkatan suhu ekstraksi ( $X_2$ ) dari 60°C menjadi 65°C bersamaan dengan peningkatan waktu ekstraksi ( $X_3$ ) selama 1 sampai 6 menit mampu menghasilkan peningkatan kadar total pektin. Namun peningkatan suhu ekstraksi dan penambahan waktu ekstraksi di atas nilai faktor tersebut yakni masing-masing 65°C dan 6 menit menyebabkan penurunan total pektin. Maka diperlukan kontrol terhadap suhu dan waktu ekstraksi agar tidak terjadi akumulasi thermal yang berlebihan dan mengarah pada proses degradasi pektin. (Fraeye *et al.*, 2007) menyatakan degradasi pektin yang diekstrak pada kondisi asam dan pemanasan pada suhu tinggi serta waktu ekstraksi yang lama akan menghasilkan demetoksilasi maupun de-esterifikasi pektin. Hal ini mengakibatkan terjadinya pelepasan rantai asam galakturonat dari ikatan glikosidik pada struktur pektin dan akan menghasilkan asam pektat. Asam pektat merupakan asam galakturonat yang tidak teresterifikasi.

Asam pektat tidak dapat diendapkan menggunakan etanol sehingga dapat menurunkan perolehan total pektin (Kalapathy & Proctor, 2001). Guo *et al.* (2016) menyatakan pengendapan pektin dengan bantuan etanol terjadi karena adanya penurunan polaritas dari pelarut (air) dalam larutan ekstrak. Alkohol merupakan molekul amphipatic yang memiliki gugus polar yakni H dan gugus non-polar  $C_2H_5$ . Alkohol bersifat kurang polar apabila dibandingkan dengan air sehingga dapat

mengganggu interaksi antara pektin (memiliki gugus metil (-CH<sub>3</sub>) dan bersifat nonpolar) dengan pelarut air (polar).

Perolehan kadar total pektin dari setiap perlakuan ekstraksi mengalami peningkatan yaitu sebesar (10,24% - 21,46%) dibandingkan perolehan kadar total pektin bahan baku bubuk kulit jeruk manis yakni 2,05%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi pektin dari bubuk kulit jeruk manis menggunakan metode *microwave assisted extraction closed vessel* merupakan metode ekstraksi yang efektif dan efisien untuk meningkatkan kadar pektin dengan waktu ekstraksi yang singkat. Namun, perolehan kadar pektin dari hasil ekstraksi yakni sekitar 10,24% - 21,46% dan nilai rendemen yang diperoleh sekitar 12,54% - 25,76% tergolong rendah apabila dibandingkan dengan hasil penelitian oleh Marin *et al.* (2007) yang memperoleh kadar pektin pada bahan baku bubuk kulit jeruk manis sebesar 23,02%.

Hal ini mengindikasikan masih terdapat komponen senyawa non-pektin pada tiap sampel hasil ekstraksi. Upaya peningkatan rendemen dan kadar pektin pada sampel dapat dilakukan selama tahap ekstraksi maupun pada tahap proses pengendapan dan pencucian pektin menggunakan alkohol. Menurut Fakayode & Abobi (2018) menyatakan ekstraksi pektin dari bubuk kulit jeruk dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain rasio bahan:pelarut, suhu dan waktu ekstraksi serta pH pelarut.

Pada penelitian ini tidak mengoptimalkan pengaruh pH terhadap perolehan kadar pektin pada bubuk kulit jeruk manis yang diekstraksi. Tingkat keasamaan pelarut yang tinggi (pH rendah) akan meningkatkan kadar pektin dikarenakan konsentrasi ion hidrogen (H<sup>+</sup>) yang tinggi dalam pelarut asam dapat mengaktifkan proses hidrolisis protopektin menjadi pektin dan menyebabkan hilangnya ion H<sup>+</sup> pada gugus karboksilat. Hal ini akan menyebabkan pembentukan gel pektin, sehingga menghasilkan kadar pektin yang diperoleh meningkat dan dapat diendapkan pada pH yang lebih rendah (Putnik *et al.*, 2017).

#### **5.2.4 Kenormalan Data**

Distribusi data respon total pektin dapat diketahui normal atau tidaknya berdasarkan grafik *normal plot of residual* yang ditampilkan pada Lampiran 7.2.

Nilai residual dari respon total pektin menunjukkan kedekatan dengan garis kenormalan (garis lurus), sehingga dapat disimpulkan bahwa data respon total pektin terdistribusi normal dan hasil aktual tidak jauh berbeda dengan hasil yang

diprediksikan oleh *software design expert*. Sarabia & Ortiz (2009) menjelaskan apabila titik-titik data berada di sekitar garis diagonal (garis lurus) maka model yang digunakan sudah cocok karena perbedaan antara hasil eksperimen dan prediksi program *design expert* minimal.

Uji verifikasi terhadap kenormalan data dari respon rendemen dilakukan menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* pada *software Minitab 17* untuk memastikan data yang diperoleh terdistribusi normal. Berdasarkan hasil uji normalitas pada Lampiran 7.2, data respon rendemen telah menunjukkan terdistribusi secara normal karena nilai p-value yang diperoleh adalah 0,139. Nilai p-value lebih besar dari 0,05 pada uji *Kolmogorov-Smirnov* mengindikasikan bahwa data tersebar normal (Ghasemi and Zahediasl, 2012).

### 5.2.5 Solusi Optimasi Ekstraksi Pektin Kulit Jeruk dan Verifikasi Titik Optimal

Tabel 5.4 menunjukkan kriteria variabel proses rasio bahan:pelarut (g/ml), suhu (°C) dan lama waktu ekstraksi (menit) yang diinginkan yaitu *in range* dikarenakan titik optimum harus ditemukan dalam rentang faktor yang ditentukan sebelumnya. Sedangkan untuk kriteria respon rendemen dan total pektin yang dipilih adalah *maximize* agar diperoleh nilai maksimum yang mendekati nilai batas atas dari setiap respon (Yolmeh & Jafari, 2017).

**Tabel 5.4 Kriteria Variabel Proses dan Respon**

| Variabel Proses            | Batas Bawah | Batas Atas | Kriteria        |
|----------------------------|-------------|------------|-----------------|
| Rasio bahan:pelarut (g/ml) | 1:40        | 1:60       | <i>In range</i> |
| Suhu ekstraksi (°C)        | 60          | 70         | <i>In range</i> |
| Waktu ekstraksi (menit)    | 1           | 11         | <i>In range</i> |
| Respon                     | Batas Bawah | Batas Atas | Kriteria        |
| Rendemen                   | 12,54       | 25,76      | <i>Maximize</i> |
| Total Pektin               | 10,24       | 21,46      | <i>Maximize</i> |

Kondisi optimum pada ekstraksi pektin dimaksudkan untuk mendapatkan nilai rendemen dan total pektin yang maksimal. Berdasarkan hasil optimasi yang diberikan oleh program *Design expert 7.1.5* pada Tabel 5.5 memperlihatkan solusi kondisi optimal yang dicapai pada penggunaan rasio bahan:pelarut sebesar 1:51 g/ml, suhu ekstraksi 64,89°C, dan waktu ekstraksi selama 6,96 menit. Solusi yang disarankan memiliki nilai *desirability* sebesar 0,882. Nilai *desirability* menunjukkan kemampuan program dalam memprediksi model statistik yang optimal untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir. Kisaran nilai *desirability* yakni dari angka 0-1, apabila nilai *desirability* semakin

mendekati 1 maka menyatakan bahwa program mampu menghasilkan produk yang dikehendaki semakin sempurna melalui pencapaian kondisi optimal pada kombinasi variabel proses dengan perolehan nilai respon yang ideal (Raissi & Farsani, 2009).

**Tabel 5.5 Solusi Optimasi Ekstraksi Terhadap Rendemen dan Total Pektin**

| Variabel Proses            |                     |                         | Respon       | Desirability     |
|----------------------------|---------------------|-------------------------|--------------|------------------|
| Rasio bahan:pelarut (g/ml) | Suhu ekstraksi (°C) | Waktu ekstraksi (menit) | Rendemen (%) | Total Pektin (%) |
| 1:51                       | 64,89               | 6,96                    | 23,36        | 20,90            |
|                            |                     |                         |              | 0,882            |

Verifikasi hasil optimum dilakukan untuk membuktikan apakah solusi titik optimum variabel bebas yang ditampilkan pada program *design expert* dapat memberikan respon optimum yang telah ditentukan oleh program. Verifikasi dilakukan dengan melakukan ekstraksi pektin kulit jeruk manis metode *microwave assisted extraction* dengan kondisi proses hasil optimum yang telah ditentukan program *design expert*. Hasil respon rendemen dan kadar pektin yang diperoleh diamati serta dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Hasil verifikasi kemudian dibandingkan dengan hasil prediksi program *design expert* yang dianalisis menggunakan uji *Paired T-Test* menggunakan program *Minitab 17*. Nilai p-value uji *Paired T-Test* yang dihasilkan lebih dari 5% menunjukkan nilai prediksi dan verifikasi tidak berbeda nyata sehingga menunjukkan ketepatan model yang digunakan dalam penelitian atau hasil prediksi mendukung verifikasi. Hasil uji *Paired T-Test* antara prediksi dan verifikasi dapat dilihat pada Lampiran 8. Hasil verifikasi *Paired T-Test* ditampilkan pada Tabel 5.6

**Tabel 5.6 Verifikasi Titik Optimal**

|                       | Variabel Proses            |                     |                         | Respon       |                  |
|-----------------------|----------------------------|---------------------|-------------------------|--------------|------------------|
|                       | Rasio bahan:pelarut (g/ml) | Suhu ekstraksi (°C) | Waktu ekstraksi (menit) | Rendemen (%) | Total Pektin (%) |
| Prediksi(*)           | 1:51                       | 64,89               | 6,96                    | 23,36        | 20,90            |
| Verifikasi(**)        | 1:51                       | 65                  | 7                       | 23,87±0,123  | 21,01±0,067      |
| Hasil Uji T (P-Value) |                            |                     |                         | 0,123 (NS)   | 0,212 (NS)       |

Keterangan : \*Hasil Program *Design Expert 7.1.5*

\*\*Hasil Penelitian Aktual dengan rata-rata tiga kali ulangan  $\pm$  Standar deviasi

NS : Not Significant / Tidak Signifikan



Pada Tabel 5.6 menunjukkan prediksi kondisi ekstraksi pektin dengan penggunaan rasio bahan:pelarut yakni 1:51 g/ml, suhu ekstraksi 64,89°C dan waktu ekstraksi selama 6,96 menit akan menghasilkan rendemen dan total pektin masing-masing sebesar 23,36% dan 20,90%. Hasil ekstraksi pektin dari percobaan di laboratorium sebanyak 3 kali ulangan menghasilkan perolehan rendemen sebesar 23,87% dan total pektin sebesar 21,01%. Verifikasi data prediksi dan data aktual dianalisa menggunakan uji paired T-test pada program Minitab 17. Hasil uji T yakni p-value pada kedua respon rendemen dan total pektin memiliki nilai  $p$  value  $> 0,05$  (0,123 dan 0,212). Perbedaan nilai respon hasil penelitian dan nilai respon prediksi program *Design expert* lebih dari 0,05 menyatakan bahwa hasil prediksi dan penelitian tidak berbeda nyata atau *not significant* (Silva, Valente, Nunes, Coimbra, & Guido, 2013). Hal ini merupakan indikator terhadap solusi variabel proses yang diberikan program dapat diterima dan dicapai pada eksperimen atau percobaan nyata.

Nilai perolehan rendemen dan total pektin masing-masing sebesar 23,87% dan 21,01%. Berdasarkan hasil optimasi ekstraksi melalui metode *microwave assisted extraction* pada penelitian ini memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan perolehan dari penelitian sebelumnya yakni menggunakan metode *microwave assisted extraction open vessel* sebesar 32,6% dan total pektin 27,9%. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan bahan baku yang memiliki tingkat kematangan yang berbeda, meskipun bahan baku jeruk manis yang digunakan sama. Goncalves *et al.* (2005) menyatakan bahwa kandungan pektin akan mengalami penurunan selama periode pematangan buah, yang mengakibatkan terjadinya akumulasi asam pektat. Selain itu, penggunaan *microwave assisted extraction* dapat menyebabkan terjadinya peningkatan suhu di dalam vessel sebagai akibat pengoperasian alat di bawah tekanan atmosfer. Suhu tinggi akan mendegradasi pektin yang bersifat termolabil (Maran *et al.*, 2014).

### 5.2.6 Karakterisasi Pektin Hasil Optimasi

Pektin yang diekstraksi pada kondisi optimal, selanjutnya dilakukan karakterisasi. Dao *et al.* (2020) menyatakan selain untuk memperoleh kondisi ekstraksi dan hasil ekstrak bahan baku yang optimal, faktor lain yang perlu dipertimbangkan adalah menentukan karakterisasi. Karakterisasi pektin meliputi: kadar air, berat ekivalen, kadar metoksil, kadar asam galakturonat, derajat

esterifikasi, dan analisa gugus fungsi pektin menggunakan spektrofotometer infra merah (FTIR). Hasil karakterisasi pektin optimasi dan pektin komersial ditunjukkan pada Tabel 5.7.

**Tabel 5.7 Karakterisasi Fisikokimia Pektin Optimasi dan Pektin Komersil**

| Parameter                     | Hasil Analisis  |               |                 |
|-------------------------------|-----------------|---------------|-----------------|
|                               | Pektin Optimasi | Pektin IPPA** | Pektin Komersil |
| Kadar air (%)                 | 5,31 ±0,22      | Maksimal 12   | 3,49±0,45       |
| Berat ekuivalen (g/mol)       | 752,42±31,79    | 600-800       | 645,69±23,94    |
| Kadar metoksil HMP* (%)       | 39,60±1,24      | Minimal 7,12  | 44,58±0,66      |
| Kadar asam galakturonat (%)   | 79,63±1,02      | Minimal 65    | 90,55±1,65      |
| Derajat esterifikasi HMP* (%) | 68,39±0,98      | Minimal 50    | 70,06±1,30      |

Keterangan : 1. Setiap data hasil analisis merupakan hasil rata-rata dari tiga kali ulangan ± Standar deviasi

2. HMP\* = *High Methoxyl Pectin*

IPPA\*\* = *International Pectin Producers Association*

Kadar air menunjukkan pengukuran persentase air yang terkandung dalam suatu bahan (Vera Zambrano, Dutta, Mercer, MacLean, & Touchie, 2019). Pektin harus memiliki kadar air yang rendah agar tidak mempercepat pertumbuhan mikroorganisme terutama jamur yang dapat memproduksi pektinase, dimana akan mempengaruhi kualitas pektin. Pektinase adalah enzim pendegradasi molekul pektin (Begum *et al.*, 2017). Penentuan parameter nilai kadar air dilakukan menggunakan metode gravimetri, pada pektin hasil optimasi sebesar 5,31% dan pektin komersial sebesar 3,49%. Hasil analisis ini sesuai dengan standar IPPA yang menetapkan kadar air pektin maksimal sebesar 12%. Prinsip penentuan kadar air metode gravimetri adalah pengurangan berat bahan yang terjadi akibat adanya penguapan air di dalam bahan tersebut selama pemanasan berlangsung hingga diperoleh berat konstan.

Berat ekuivalen merupakan ukuran terhadap kandungan gugus asam galakturonat bebas (tidak teresterifikasi) yang terdapat pada rantai molekul pektin.

Asam pektat adalah asam poligalakturonat yang bebas dari gugus metil ester.

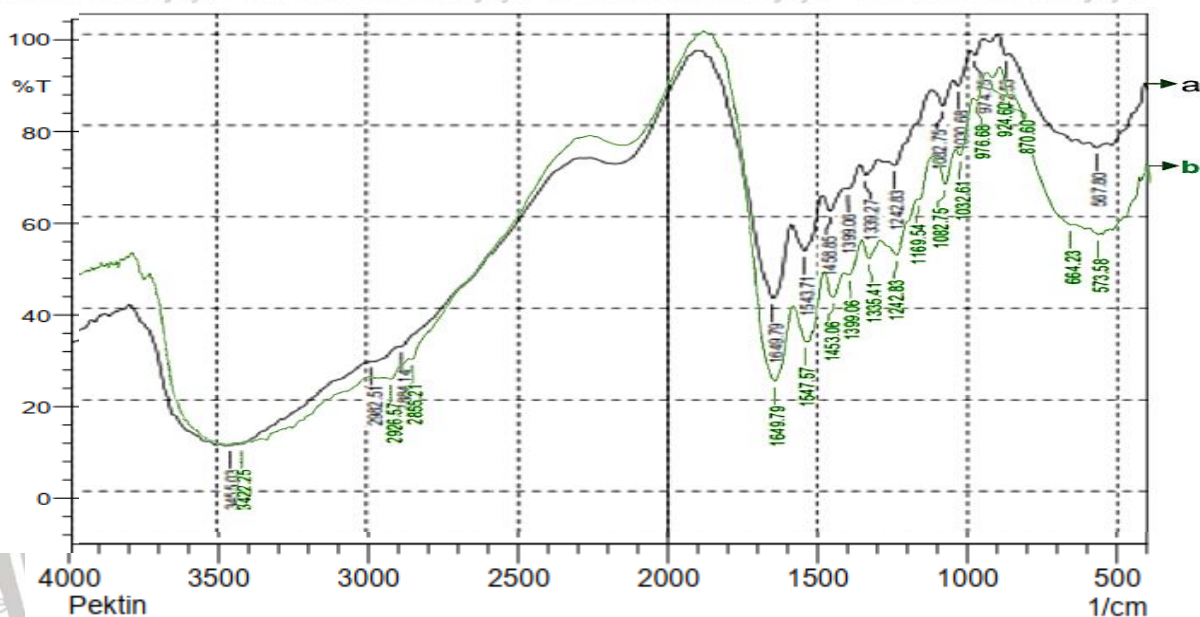
Hasil penelitian menunjukkan perolehan berat ekuivalen pada pektin hasil optimasi yakni sebesar 752,42 g/mol yang lebih tinggi dibandingkan dengan perolehan pektin komersial (645,69 g/mol). Pektin yang diekstraksi pada pH rendah dapat menyebabkan polimerisasi pektin menjadi rantai poligalakturonat yang lebih panjang sehingga menurunkan kandungan asam galakturonat bebas serta meningkatkan nilai kadar metoksil dan derajat esterifikasi (Twinomuhwezi, Godswill, & Kahunde, 2020).

Kadar metoksil didefinisikan sebagai jumlah mol gugus metoksil dalam 100 mol asam galakturonat. Kandungan metoksil pada pektin menentukan solubilitas (kelarutan) pektin dalam air dan kemampuan pembentukan gel pektin pada kondisi tertentu (Nguyen & Pirak, 2019). Hasil penelitian menyatakan bahwa pektin optimasi dan pektin komersil tergolong sebagai pektin bermetoksil tinggi atau *high methoxyl pectin* (HMP) karena memiliki kadar metoksil masing-masing sebesar 39,60% dan 44,58%. Hal ini menyebabkan sifat kelarutan kedua pektin tersebut dalam air tinggi. Mekanisme pembentukan gel pektin bermetoksil tinggi terjadi pada kondisi pH kurang dari 3,5 dan adanya kandungan gula lebih dari 55% yang menyediakan gugus hidroksil untuk menstabilkan struktur gel dengan meningkatkan interkoneksi antara rantai homogalacturonan melalui pembentukan ikatan hidrogen untuk mengikat molekul air (Nascimento, Simas-Tosin, Iacomini, Gorin, & Cordeiro, 2016).

Kadar asam galakturonat merupakan indikator kemurniaan pektin yang menunjukkan persentase kandungan asam galakturonat pada molekul pektin. Tingkat kemurniaan pektin yang direkomendasikan tidak kurang dari 65% untuk dapat digunakan sebagai bahan tambahan pangan maupun dalam bidang farmasi (Khamsucharit, Laohaphatanalert, Gavinlertvatana, Sriroth, & Sangseethong, 2018). Kandungan asam galakturonat pada pektin komersil sebesar 90,55% dan pada pektin optimasi sebesar 79,63% yang menunjukkan pektin tersebut memiliki kemurniaan yang cukup tinggi. Hasil pada penelitian ini relatif memiliki kemiripan dengan penelitian sebelumnya yang dilaporkan oleh Zarei *et al.* (2017) pada kulit jeruk lemon, ekstraksi pektin dari kulit jeruk lemon menggunakan metode *microwave assisted extraction* dan memperoleh kandungan asam galakturonat sebesar 74,5%.

Derajat esterifikasi menunjukkan persentase unit asam galakturonat teresterifikasi (gugus karboksil yang mengalami esterifikasi) dari jumlah total unit asam galakturonat pada molekul pektin (Chaliha, Williams, Smyth, & Sultanbawa, 2018). Pektin komersil memiliki derajat esterifikasi 70,06% sedangkan derajat esterifikasi pektin optimasi yakni 68,39% yang diklasifikasikan sebagai pektin ester tinggi (nilai DE lebih tinggi dari 50%). Hasil penelitian ini juga relatif mirip dengan perolehan derajat esterifikasi pada kulit jeruk lemon yaitu sebesar 68% (Zarei *et al.*, 2017). Menurut Azad (2014), tingkat esterifikasi menurun seiring dengan meningkatnya kematangan, maka dapat disimpulkan derajat esterifikasi dipengaruhi oleh tingkat kematangan serta jenis bahan baku.

Karakterisasi gugus fungsional yang terkandung dalam pektin dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer inframerah. Identifikasi gugus fungsional tersebut mengalami absorpsi pada kisaran bilangan gelombang tertentu akan memberikan informasi mengenai adanya gugus karboksil teresterifikasi ( $\text{COOCH}_3$ ) dan golongan polisakarida sebagai identitas dalam struktur penyusun pektin. Vibrasi dari setiap gugus fungsional muncul pada bilangan gelombang yang berbeda. Spektrum FTIR (Gambar 5.4) memperlihatkan perbandingan antara hasil analisa pada pektin optimasi dan pektin komersial.



**Gambar 5.4** Spektrum FTIR Pektin Komersial (a) dan Pektin Optimasi (b)

Berdasarkan Gambar 5.5 menunjukkan pektin optimasi dan pektin komersial memiliki kemiripan pola yang sama dalam spektrum penyerapan masing-masing daerah bilangan gelombang. Puncak gugus karbonil ( $\text{C}=\text{O}$ ) yang terukur pada bilangan gelombang antara  $1760\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan vibrasi ulur (*stretching*) senyawa karboksilat teresterifikasi atau metil-ester ( $\text{COOCH}_3$ ). Serapan di daerah bilangan gelombang  $1300\text{-}800\text{ cm}^{-1}$  merupakan wilayah untuk mengidentifikasi senyawa polisakarida (Dao et al., 2020; Kacuráková, Capek, Sasinková, Wellner, & Ebringerová, 2000; Rodsamran & Sothornvit, 2019).

Hasil analisa gugus  $\text{C}=\text{O}$  dari senyawa karboksilat teresterifikasi pada spektrum FTIR pektin optimasi dan pektin komersial terlihat muncul pada bilangan gelombang  $1649,67\text{ cm}^{-1}$ . Puncak yang terkait dengan polisakarida pektin terukur pada bilangan gelombang sekitar  $1458; 1399,06; 1242,83\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan

gugus CH<sub>2</sub> yang mengalami vibrasi lekukan atau *bending*. Bilangan gelombang sekitar 872; 974; 1082,75; 1458 cm<sup>-1</sup> masing-masing menunjukkan vibrasi lekukan gugus C-OH, vibrasi lekukan C-O, vibrasi ulur gugus C-C, dan vibrasi ulur dari gugus karboksilat. Vibrasi ulur O-H dalam gugus karboksilat terukur pada daerah bilangan gelombang sekitar 2982 cm<sup>-1</sup> dan pada daerah sekitar 3422 cm<sup>-1</sup> merupakan vibrasi ulur O-H dari karbohidrat. Puncak serupa diamati pada pektin yang diekstrak dari kulit jeruk (Hosseini, Khodaiyan, & Yarmand, 2015) dan kulit jeruk nipis (Rodsamran & Sothornvit, 2019). Gugus fungsional pada sampel pektin optimasi dan komersil dapat dilihat pada Tabel 5.8 berikut.

**Tabel 5.8 Gugus Fungsional Pektin Optimasi dan Pektin Komersil**

| Gugus Fungsional                       | Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> ) |                           |                           |
|--|--|---------------------------|---------------------------|
|  | Literatur                              | Pektin Optimasi           | Pektin Komersil           |
| Stretching O-H dari karbohidrat        | 3500-3300 <sup>a</sup>                 | 3422,25                   | 3455,03                   |
| Stretching C-H                         | 3000-2800 <sup>b</sup>                 | 2926,57                   | 2982,51                   |
| Stretching C=O pada senyawa metilester | 1700-1600 <sup>c</sup>                 | 1649,79                   | 1649,79                   |
| Bending CH <sub>2</sub>                | 1400-1200 <sup>c</sup>                 | 1453,06; 1399,06; 1242,83 | 1458,85; 1399,06; 1242,83 |
| Stretching C-C                         | 1099 <sup>c</sup>                      | 1082,75                   | 1082,75                   |
| Bending C-O                            | 962 <sup>c</sup>                       | 976,68                    | 974,75                    |
| Bending C-OH                           | 800 <sup>c</sup>                       | 870,60                    | 872,53                    |

Keterangan: <sup>a</sup>Hosseini *et al.* (2015)

<sup>b</sup>Faravash & Ashtiani (2007)

<sup>c</sup>Rodsamran & Sothornvit (2019)

### 5.3 Optimasi Sintesis Surfaktan melalui Modifikasi Hidrofilik Asam Poligalakturonat dan Taurin

Surfaktan polimerik dari asam poligalakturonat merupakan polimer pektin yang memiliki karakteristik surfaktan dengan adanya bagian hidrofilik dan hidrofobik. Secara struktural, bagian hidrofilik pada surfaktan polimerik dari asam poligalakturonat tidak mengandung ion (muatan positif dan negatif) yang menyebabkan jenis surfaktan ini tidak terionisasi dalam larutan, sehingga tergolong sebagai surfaktan non-ionik. Sintesis surfaktan polimerik dilakukan secara kimiawi melalui modifikasi hidrofilik dengan melampirkan entitas hidrofilik pada polisakarida yang bersifat tidak larut dalam air (*water insoluble*) dalam hal ini adalah asam poligalakturonat hasil degradasi atau derivat dari pektin kulit jeruk manis, yang bertujuan untuk meningkatkan gugus polar yang bersifat hidrofilik. (Fraeye *et al.*, 2007) menyatakan degradasi pektin yang diekstrak pada kondisi asam dan pemanasan pada suhu tinggi serta waktu ekstraksi yang lama akan menghasilkan demetoksilasi maupun de-esterifikasi pektin. Hal ini mengakibatkan terjadinya pelepasan rantai asam galakturonat dari ikatan glikosidik pada struktur

pektin dan akan menghasilkan asam pektat. Asam pektat merupakan asam poligalakturonat yang tidak teresterifikasi.

Sintesis dilakukan di dalam reaktor *microwave assisted system* tanpa penggunaan katalis. Metode sintesis tersebut relatif tergolong mudah dilakukan, karena tidak memerlukan kondisi penggunaan suhu tinggi serta menghasilkan ikatan amida yang tahan terhadap hidrolisis oleh asam dan alkali sehingga berpotensi untuk digunakan dalam sistem pelepasan obat *drug delivery* sebagai hidrogel amphifilik (Mishra, Datt, Pal, & Banthia, 2008; Sinitsya, Čopíková, Prutyánov, Skoblyá, & MacHovič, 2000).

Optimasi sintesis surfaktan polimerik amphifilik melalui modifikasi hidrofilik dari asam poligalakturonat dan taurin menggunakan desain eksperimental model *Central Composite Design* (CCD) dengan dua variabel bebas yaitu suhu ( $X_1$ ) 70 – 90 (°C). dan waktu reaksi ( $X_2$ ) (menit) selama 5 – 15 menit. Variabel terikat sebagai respon yang diamati adalah perolehan derajat amidasi (Y).

### 5.3.1 Respon Derajat Amidasi

Data respon derajat amidasi yang diperoleh berdasarkan kombinasi perlakuan *design expert* adalah sebagai berikut:

**Tabel 5.9 Data Respon Derajat Amidasi dari Rancangan CCD**

| No | Variabel Kode |       | Variabel Aktual |               | Respon          |
|----|---------------|-------|-----------------|---------------|-----------------|
|    | $X_1$         | $X_2$ | Suhu (°C)       | Waktu (menit) | Derajat Amidasi |
| 1  | -1            | -1    | 70              | 5             | 26,95           |
| 2  | 1             | -1    | 90              | 5             | 29,12           |
| 3  | -1            | 1     | 70              | 15            | 30,08           |
| 4  | 1             | 1     | 90              | 15            | 34,27           |
| 5  | -1            | 0     | 65,86           | 10            | 26,84           |
| 6  | 1             | 0     | 94,14           | 10            | 32,41           |
| 7  | 0             | -1    | 80              | 2,93          | 27,33           |
| 8  | 0             | 1     | 80              | 17,07         | 32,67           |
| 9  | 0             | 0     | 80              | 10            | 30,28           |
| 10 | 0             | 0     | 80              | 10            | 30,48           |
| 11 | 0             | 0     | 80              | 10            | 31,18           |
| 12 | 0             | 0     | 80              | 10            | 31,30           |
| 13 | 0             | 0     | 80              | 10            | 31,36           |

Keterangan:  $X_1$  = variabel kode untuk suhu,  $X_2$  = variabel kode untuk waktu

Derajat amidasi didefinisikan sebagai persentase gugus karbonil dari ester pada pektin yang mengalami amidasi dan menghasilkan gugus amida.

Pengukuran derajat amidasi dilakukan dengan menggunakan metode spektroskopi FTIR. Metode spektroskopi FTIR merupakan metode untuk memantau perubahan kimia pada pektin, khususnya kandungan senyawa amida.

Keuntungan dalam penggunaan metode ini praktis dan efisien dalam preparasi, kecepatan analisa, serta tidak menyebabkan kerusakan sampel (Craig, Franca, & Irudayaraj, 2015). Spektrum pektin teramidasi terukur pada kisaran bilangan gelombang antara  $1800-1300\text{ cm}^{-1}$  (Sinitnya *et al.*, 2000; Synytsya *et al.*, 2004; Zouambia *et al.*, 2009). Hasil analisis respon derajat amidasi dalam desain eksperimental dapat dilihat pada Tabel 5.9

Tabel 5.8 menunjukkan perolehan derajat amidasi pada surfaktan polimerik pektin teramidasi berkisar antara 26.84% hingga 34,27% sehingga rasio dari nilai maksimum ke nilai minimum adalah 1.27 (Lampiran 5), rasio dari data respon rendemen kurang dari 10 sehingga tidak diperlukan transformasi data.

Berdasarkan sistem komputerisasi *Design Expert* disarankan pemilihan model terbaik yaitu model *quadratic*. Pemilihan model terbaik untuk respon derajat amidasi model kuadratik tersebut memiliki nilai *p-value* sebesar 0,0228 ( $P < 0,05$ ) dan nilai *lack of fit test* sebesar 0,6021 ( $P > 0,05$ ). Montgomery, (2017); Varnalis *et al.*, (2004) menyatakan *lack of fit test* menunjukkan kegagalan model untuk merepresentasikan data dalam percobaan. Model menjadi tidak tepat apabila berpengaruh nyata terhadap design percobaan pada *p-value*  $< 0.05$ . Data-data tersebut ditampilkan pada tabel model jumlah kuadrat dari urutan model (*Sequential Model Sum of Squares*) (Lampiran 5) pengujian ketidaktepatan model (*Lack of Fit Tests*) (Lampiran 5), dan ringkasan model statistic (*Model Summary Statistics*) (Lampiran 5).

Berdasarkan tabel ragam *Analysis of Variance* respon derajat amidasi (Lampiran 6) dapat diketahui bahwa faktor suhu ( $X_1$ ) dan lama waktu reaksi ( $X_2$ ) memiliki nilai *p-value* ( $0,0001 < 0.05$ ) sehingga memberikan pengaruh nyata terhadap respon derajat amidasi. Berdasarkan hasil analisis dari perlakuan dalam desain eksperimental diperoleh nilai respon derajat amidasi cenderung rendah pada perlakuan suhu  $70^\circ\text{C}$ , waktu reaksi dalam *microwave assisted system* selama 5 menit sebesar 26.95%. Nilai respon derajat amidasi cenderung tinggi pada perlakuan suhu  $90^\circ\text{C}$ , serta waktu reaksi dalam *microwave assisted system* selama 15 menit sebesar 34.27%.

Secara umum, penggunaan suhu tinggi dan lama waktu reaksi dalam *microwave assisted system* akan menghasilkan perolehan derajat amidasi yang tinggi. Perolehan derajat amidasi dihitung berdasarkan rasio luas area senyawa amida terhadap luas area gugus karboksilat antara asam karboksilat dan amina dan dapat terjadi pada suhu tinggi ( $>160^{\circ}\text{C}$ ). Asam poligalakturonat dan taurin mengandung gugus polar yaitu hidroksil dan asam karboksilat. Hal ini memungkinkan terjadinya reaksi amidasi pada suhu yang jauh lebih rendah ( $90^{\circ}\text{C}$ ) menggunakan iradiasi gelombang mikro (Mohd Aris et al., 2017).

Gugus amina dari taurin memungkinkan untuk berikatan dengan gugus asam karboksilat dari asam poligalakturonat (PGA), hal ini menyebabkan terbentuknya gugus amida yang stabil. Asam poligalakturonat (PGA) bersifat tidak larut dalam air (*water insoluble*), disebabkan adanya ikatan hidrogen rantai antarmolekul yang kuat, pengikatan gugus asam sulfonat yang terikat secara kovalen dengan polisakarida menjadikan polisakarida yang dimodifikasi lebih larut dalam berbagai kondisi pH. Selain itu, surfaktan berbasis amida memiliki ketahanan yang sangat baik terhadap hidrolisis oleh asam atau basa (Stjerndahl & Holmberg, 2005; Fernández-Pérez & Otero, 2001).

Derajat amidasi stabil pada nilai diatas 10%, hal ini terjadi kemungkinan besar karena gugus karboksil bebas pada permukaan luar polisakarida teragegasi dan mengalami fungsionalisasi. Asam poligalakturonat yang dimodifikasi secara hidrofilik dapat menghentikan terjadinya agegasi polisakarida, dengan cara mengurangi aksesibilitas gugus karboksil bebas serta mencegah terjadinya fungsionalisasi lebih lanjut. Seperti halnya yang dilaporkan pada polisakarida lain kitosan dan selulosa, dimana agegat diketahui dapat mengurangi aksesibilitas gugus fungsi sehingga menurunkan derajat fungsionalisasi secara keseluruhan (Kurita, 2001).

Faktor lain yang memberikan pengaruh nyata terhadap respon derajat amidasi adalah kuadrat suhu reaksi ( $X_1^2$ ) yang memiliki nilai *p-value* sebesar ( $0,0143 < 0,05$ ). Kenaikan suhu reaksi mampu meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam sampel asam poligalakturonat untuk melarutkan taurin (Xiao et al., 2012).

Hal ini dikarenakan penggunaan senyawa taurin dapat mempengaruhi terjadinya efek sterik akibat adanya ikatan hidrogen antara atom hidrogen (H) dan atom nitrogen (N) pada masing-masing molekul taurin (Banert & Seifert, 2019).



Hasil *Analysis of Variance* (ANOVA) dari program *design expert* juga mampu menunjukkan hubungan empiris antara respon dengan faktor yang memiliki pengaruh linear, kuadratik, dan interaksi antarfaktor. Hubungan respon derajat amidasi (Y) dengan faktor suhu reaksi ( $X_1$ ) dan waktu reaksi ( $X_2$ ) diwakili oleh persamaan regresi dalam bentuk variabel kode berikut ini:

$$Y = 30.92 + 1,78X_1 + 1,98X_2 + 0,51X_1X_2 - 0,57X_1^2 - 0,39X_2^2$$

Keterangan : Y = Respon derajat amidasi (%),  $X_1$  = suhu reaksi ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $X_2$  = waktu reaksi (menit)

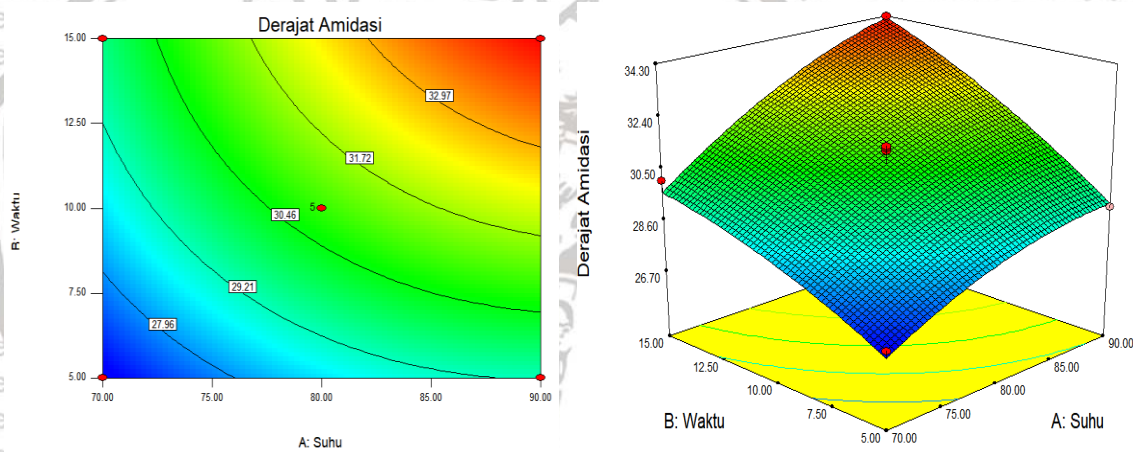
Faktor linear ( $X_1, X_2$ ), kuadratik ( $X_1^2, X_2^2$ ), dan interaksi ( $X_1X_2$ ) mempengaruhi secara kuantitatif prediksi respon perolehan derajat amidasi. Koefisien satu faktor mewakili pengaruh faktor itu sendiri, sedangkan koefisien dengan lebih dari satu faktor mewakili interaksi antara faktor-faktor tersebut. Tanda positif di depan koefisien mengindikasikan efek sinergis dari faktor atau interaksi antarfaktor terhadap respon, dimana apabila terjadi peningkatan nilai faktor maka perolehan respon juga akan meningkat secara signifikan. Koefisien yang memiliki tanda negatif merupakan indikator menunjukkan hubungan negatif sehingga tidak menyebabkan penurunan nilai respon ketika nilai faktor meningkat (Rodrigues, Kenealy, Dietrich, & Jeffries, 2012).

Nilai koefisien suhu ( $X_1$ ) dan waktu reaksi ( $X_2$ ) pada sintesis surfaktan sebesar 1,78 dan 1,98 menunjukkan adanya hubungan positif yang berpengaruh terhadap perolehan derajat amidasi. Semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu reaksi, maka derajat amidasi akan semakin meningkat. Li *et al.* (2010) menjelaskan gelombang mikro dapat diserap langsung oleh bahan untuk memecah dinding sel dan mengakibatkan pelepasan ekstrak ke larutan. Peningkatan waktu reaksi mendorong terjadinya akumulasi termal pada larutan yang menyebabkan kelarutan taurin (Prakash Maran *et al.*, 2013).

Waktu reaksi berkaitan dengan lama berlangsungnya reaksi aminolisis (reaksi substitusi nukleofilik) yang mereaksikan secara heterogen antara gugus karboksil dari asam poligalakturonat dengan gugus amina dari taurin dalam larutan  $\text{NaHCO}_3$ , taurin bertindak sebagai entitas hidrofilik (gugus polar) untuk mengefektifkan reaksi amidasi tersebut (Sihelniková, Synytsya, & Čopíková, 2004). Menurut Ryding *et al.* (2015) menyatakan bahwa reaksi aminolisis dapat terjadi pada waktu reaksi yang lebih lama disebabkan karena nukleofil yang digunakan tergolong sebagai nukleofil netral yang tidak bermuatan.

Sedangkan, nilai koefisien pada faktor kuadrat suhu reaksi ( $X_1$ ) dan kuadrat lama waktu reaksi ( $X_2$ ) yakni -0,57 dan -0,39 memberikan hubungan negatif terhadap respon derajat amidasi. Peningkatan suhu menyebabkan kapasitas pelarut untuk mereaksikan meningkat dan juga mengakibatkan penurunan tegangan permukaan pelarut karena gerakan antarmolekul semakin cepat, sehingga akan meningkatkan daya pembasahan sampel serta penetrasi pelarut ke dalam bahan (Xiao *et al.*, 2012).

Analisis lanjutan model *quadratic* setelah diperoleh titik stasioner dilakukan untuk menentukan titik optimum dengan karakteristik kurva permukaan respon total pektin berada pada minimum, maksimum. Interaksi antar variabel bebas yakni suhu dan waktu reaksi terhadap respon derajat amidasi dalam bentuk kurva permukaan respon kontur plot dan plot permukaan. Grafik hubungan antara dua variabel ditampilkan pada Gambar 5.5.



**Gambar 5.5 Kontur Plot dan Kurva Respon Permukaan (3D) Derajat Amidasi**

**Keterangan:**

- (1) Suhu dan waktu sintesis surfaktan dari asam poligalakturonat dan taurin dalam *microwave assisted reaction system*

Nukleofilisitas adalah kemampuan nukleofil senyawa taurin sebagai entitas hidrofilik untuk menggantikan gugus fungsi dari suatu molekul yang selanjutnya akan disebut sebagai *leaving group* yakni gugus karboksil pada asam poligalakturonat dan kemudian menghasilkan gugus fungsi baru yaitu gugus amida pada senyawa pektin teramidasi berjenis surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat atau asam pektat. Mekanisme sintesis surfaktan polimerik pektin teramidasi tersebut terjadi melalui reaksi gugus amina (NH) dari taurin

memungkinkan untuk berikatan dengan gugus asam karboksilat dari asam poligalakturonat (PGA), hal ini menyebabkan terbentuknya gugus amida yang stabil. Asam poligalakturonat (PGA) bersifat tidak larut dalam air (*water insoluble*), disebabkan adanya ikatan hidrogen rantai antarmolekul yang kuat, pengikatan gugus asam sulfonat yang terikat secara kovalen dengan polisakarida menjadikan polisakarida yang dimodifikasi lebih larut dalam berbagai kondisi pH. Selain itu, surfaktan berbasis amida memiliki ketahanan yang sangat baik terhadap hidrolisis oleh asam atau basa (Stjerndahl & Holmberg, 2005; Fernández-Pérez & Otero, 2001).

### 5.3.2 Kenormalan Data

Distribusi data respon derajat amidasi dapat diketahui normal atau tidaknya berdasarkan grafik *normal plot of residual* yang ditampilkan pada Lampiran 7.3. Nilai residual dari respon derajat amidasi pada menunjukkan kedekatan dengan garis kenormalan (garis lurus), sehingga dapat disimpulkan bahwa data respon total pektin terdistribusi normal dan hasil aktual tidak jauh berbeda dengan hasil yang diprediksikan oleh *software design expert*. Sarabia & Ortiz (2009) menjelaskan apabila titik-titik data berada di sekitar garis diagonal (garis lurus) maka model yang digunakan sudah cocok karena perbedaan antara hasil eksperimen dan prediksi program *design expert* minimal.

Uji verifikasi terhadap kenormalan data dari respon rendemen dilakukan menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* pada *software Minitab 17* untuk memastikan data yang diperoleh terdistribusi normal. Berdasarkan hasil uji normalitas pada Lampiran 7.3, data respon derajat amidasi telah menunjukkan terdistribusi secara normal karena nilai p-value yang diperoleh adalah 0,139. Nilai p-value lebih besar dari 0,05 pada uji *Kolmogorov-Smirnov* mengindikasikan bahwa data tersebar normal (Ghasemi and Zahediasl, 2012).

### 5.3.3 Solusi Optimasi Sintesis Surfaktan dan Verifikasi Titik Optimal

Optimasi variabel proses dalam sintesis surfaktan polimerik dari modifikasi hidrofilik asam poligalakturonat dan taurin dalam *microwave assisted system* digunakan untuk menentukan solusi terhadap kondisi proses optimal yang dapat memberikan respon yang diinginkan. Tabel 5.10 menunjukkan kriteria variabel proses suhu reaksi (°C) dan lama waktu reaksi (menit) yang dipilih yaitu *in range* dikarenakan titik optimum harus ditemukan dalam rentang faktor yang dipelajari.

Sedangkan, kriteria respon derajat amidasi yang diinginkan yaitu *maximize* agar diperoleh nilai maksimum yang mendekati nilai batas atas dari setiap respon (Yolmeh & Jafari, 2017).

**Tabel 5.10 Kriteria Variabel Proses dan Respon**

| Variabel Proses      | Batas Bawah | Batas Atas | Kriteria        |
|----------------------|-------------|------------|-----------------|
| Suhu reaksi (°C)     | 70          | 90         | <i>In range</i> |
| Waktu reaksi (menit) | 5           | 15         | <i>In range</i> |
| Respon               | Batas Bawah | Batas Atas | Kriteria        |
| Derajat Amidasi      | 26,84       | 34,27      | <i>Maximize</i> |

Solusi optimasi dari program *Design expert* 7.1.5 pada Tabel 5.11 menyatakan bahwa kondisi optimal dicapai pada penggunaan suhu reaksi 90°C dan waktu reaksi selama 15 menit. Solusi tersebut menghasilkan nilai prediksi terhadap perolehan derajat amidasi sebesar 34,22% dengan nilai *desirability* sebesar 0,994. Hal ini menunjukkan bahwa program mampu memprediksi variabel proses dengan sangat baik untuk memenuhi keinginan berdasarkan kriteria yang ditetapkan pada produk akhir (Raissi & Farsani, 2009).

**Tabel 5.11 Solusi Optimasi Sintesis Surfaktan Polimerik PGA-Taurin terhadap Derajat Amidasi**

| Variabel Proses  | Respon               | <i>Desirability</i> |
|------------------|----------------------|---------------------|
| Suhu reaksi (°C) | Waktu reaksi (menit) | Derajat Amidasi (%) |
| 90               | 15                   | 34,22               |
|                  |                      | 0,994               |

Verifikasi hasil optimum dilakukan untuk membuktikan apakah solusi titik optimum variabel bebas yang ditampilkan pada program *design expert* dapat memberikan respon optimum yang telah ditentukan oleh program. Verifikasi dilakukan dengan melakukan sintesis surfaktan dari asam poligalakturonat melalui modifikasi hidrofilik menggunakan taurin dalam *microwave assisted system* dengan kondisi proses hasil optimum yang telah ditentukan program *design expert*.

Hasil respon derajat amidasi yang diperoleh diamati serta dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali. Hasil verifikasi kemudian dibandingkan dengan hasil prediksi program *design expert* yang dianalisis menggunakan uji *Paired T-Test* menggunakan program *Minitab 17*. Nilai p-value uji *Paired T-Test* yang dihasilkan lebih dari 5% menunjukkan nilai prediksi dan verifikasi tidak berbeda nyata sehingga menunjukkan ketepatan model yang digunakan dalam penelitian atau hasil prediksi mendukung verifikasi. Hasil uji *Paired T-Test* antara prediksi

dan verifikasi dapat dilihat pada Lampiran 9. Hasil verifikasi *Paired T-Test* ditampilkan pada Tabel 5.12

**Tabel 5.13 Verifikasi Titik Optimal**

|                       | Variabel Proses  |                      | Respon              |
|-----------------------|------------------|----------------------|---------------------|
|                       | Suhu Reaksi (°C) | Waktu Reaksi (menit) | Derajat Amidasi (%) |
| Prediksi(*)           | 90               | 15                   | 34,22               |
| Verifikasi(**)        | 90               | 15                   | 34,14±0.41          |
| Hasil Uji T (P-Value) |                  |                      | 0,788 (NS)          |

Keterangan : \*Hasil Program *Design Expert* 7.1.5

\*\*Hasil Penelitian aktual dengan rata-rata dua kali ulangan ± Standar deviasi

NS : Not Significant / Tidak Signifikan

Nilai prediksi pada kondisi sintesis surfaktan pektin teramidasi dengan penggunaan suhu reaksi 90°C dan waktu reaksi selama 15 menit memiliki derajat amidasi sebesar 34,22%. Nilai aktual yang diujikan di laboratorium dengan 2 kali ulangan menghasilkan perolehan derajat amidasi 34,14%. Verifikasi data prediksi dan data aktual dianalisa menggunakan uji paired T-test pada program Minitab 17. Hasil uji T yakni p-value pada respon memiliki nilai lebih dari 0,05 (p-value 0,788 > 0,05). Perbedaan nilai respon hasil penelitian dan nilai respon prediksi program *Design expert* lebih dari 0,05 menyatakan bahwa hasil prediksi dan penelitian tidak berbeda nyata *not significant* (Silva *et al.*, 2013). Hal ini mengindikasikan bahwa kondisi optimal yang diberikan program sebagai solusi optimasi dapat dicapai dari eksperimen.

### 5.3.4 Karakterisasi Surfaktan Polimerik Hasil Optimasi

Karakterisasi surfaktan polimerik jenis amphifilik dari asam poligalaturonat dengan modifikasi hidrofilik menggunakan taurin meliputi penentuan nilai keseimbangan hidrofilik-lipofilik (*Hydrophile Lipophile Balance*) dan analisa gugus fungsional menggunakan spektrofotometer infra red (FTIR). Nilai HLB adalah keseimbangan gugus hidrofilik yang bersifat *water soluble* (larut dalam air) dan gugus lipofilik yang bersifat *water insoluble* (larut dalam minyak) pada molekulnya.

Nilai HLB merupakan indikator dalam penentuan tipe emulsi yang sesuai pada surfaktan, sehingga dapat ditentukan aplikasi tertentu.

Pada umumnya surfaktan dapat digunakan untuk sistem emulsi air dalam minyak (*water in oil emulsion*) dan emulsi minyak dalam air (*oil in water emulsion*).

Nilai HLB yang rendah menyatakan bahwa surfaktan cenderung larut dalam minyak dan akan menstabilkan sistem emulsi air dalam minyak, sedangkan nilai HLB yang tinggi menyebabkan surfaktan lebih larut dalam air dan memiliki kecenderungan dalam penstabilan sistem emulsi minyak dalam air (Genot *et al.*, 2013).

Penentuan nilai *hydrophile lipophile balance* (HLB) pada surfaktan pektin teramodifikasi menggunakan metode bilangan air (*water number method*) yang dilakukan secara titrimetri. Bilangan air merupakan volume dari hasil titrasi air pada surfaktan yang ingin diketahui nilai HLB-nya. Metode ini memerlukan akuades sebagai titran untuk menitrasi surfaktan hasil modifikasi hidrofilik asam poligalakturonat dan taurin yang dilarutkan dalam campuran larutan piridina dan benzena. Gugus polar dari taurin yang bersifat hidrofilik akan terjadi tarik menarik dengan molekul air (akuades) yang bersifat polar dan ion nitrogen dari piridina yang memiliki sifat semi polar. Gugus lipofilik atau hidrofobik dari asam poligalakturonat akan tarik menarik dengan molekul benzena yang non-polar yang berasal dari cincin heterosiklik aromatik. Titik akhir titrasi dicapai saat terjadi kekeruhan permanen pada larutan, yang mengindikasikan bahwa molekul surfaktan sudah tidak dapat berikatan dengan molekul air maupun piridin dan benzena. Hasil pengukuran terhadap karakteristik nilai *hydrophile lipophile balance* (HLB) dapat dilihat pada Tabel 5.13

**Tabel 5.13 Karakteristik Nilai HLB**

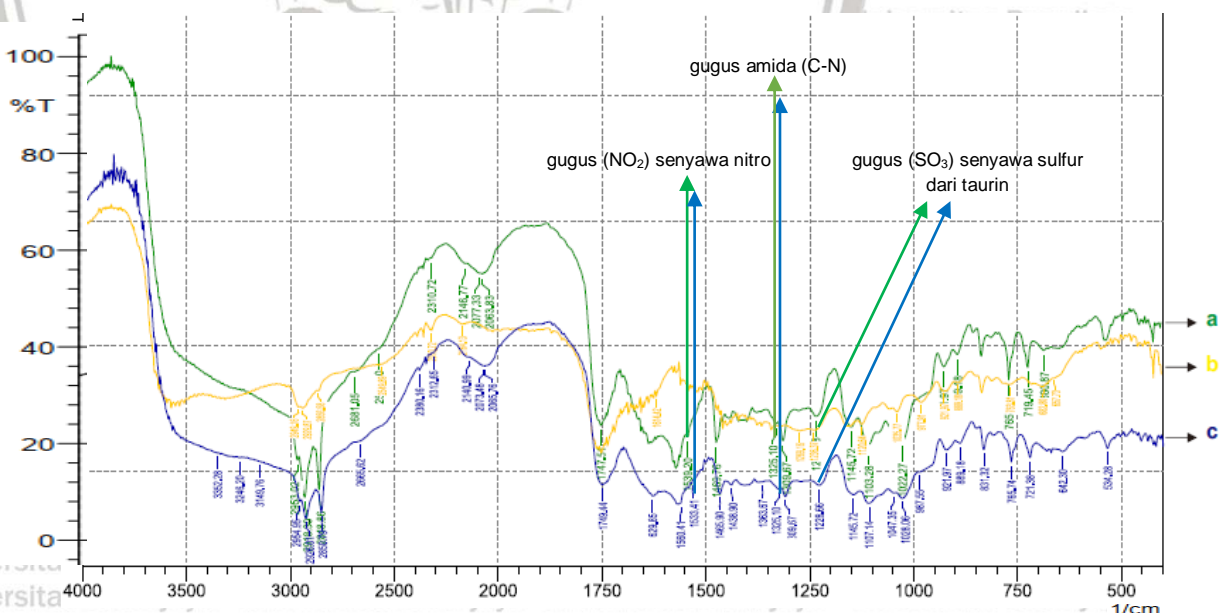
| Sampel                           | Hasil Analisis |
|----------------------------------|----------------|
| Surfaktan Polimerik (PGA-Taurin) | 7,19 ± 0,03    |
| Pektin optimasi                  | 11,38 ± 0,02   |

Keterangan: Setiap data hasil analisis adalah hasil rata-rata dari tiga kali ulangan ± Standar deviasi

Skala nilai *hydrophile lipophile balance* (HLB) berkisar dari 1-20, surfaktan dengan nilai HLB antara 3-8 digunakan dalam sistem emulsi air dalam minyak (*water in oil*) sedangkan kisaran nilai HLB antara 8-18 digunakan dalam sistem emulsi minyak dalam air (*oil in water*) (Barret, 2018). Nilai *hydrophile lipophile balance* (HLB) pada surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat melalui modifikasi hidrofilik menggunakan taurin diperoleh sebesar 7,19 ± 0,03 yang mengindikasikan surfaktan tersebut dapat diaplikasikan sebagai pengemulsi pada sistem emulsi air dalam minyak (*water in oil*). Hal ini berbeda dengan hasil

penentuan nilai *hydrophile lipophile balance* (HLB) asam poligalakturonat sebelum dilakukan modifikasi dengan perolehan nilai *hydrophile lipophile balance* (HLB) sebesar  $4,21 \pm 0,05$ . Penambahan senyawa taurin berperan dalam melampirkan entitas hidrofilik pada modifikasi surfaktan berbasis asam poligalakturonat dan merupakan hasil dari reaksi aminolisis pada pembentukan gugus amida dengan bantuan senyawa taurin serta berperan dalam meningkatkan nilai HLB pada surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat.

Karakterisasi gugus fungsional pada surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat melalui modifikasi hidrofilik hasil optimasi dianalisa menggunakan spektrofotometer infra red atau *Fourier Transform Infra Red* (FTIR). Identifikasi berbagai gugus fungsional dari surfaktan polimerik dilakukan pada kisaran bilangan gelombang antara  $2970-1300 \text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus fungsional dari senyawa ester, asam karboksilat, amida, dan alkana atau gugus C-H alifatik (Synytsya *et al.*, 2004). Hasil analisis spektroskopi *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) mendeteksi terjadinya peningkatan absorpsi gugus C-H pada asam poligalakturonat setelah mengalami penambahan gugus amida (amidasi) dari senyawa taurin. Hasil analisa terhadap spektrum FTIR surfaktan polimerik tersebut diperoleh di bawah kondisi optimum proses sintesis (suhu  $90^\circ\text{C}$  dan waktu reaksi selama 15 menit) dapat dilihat pada Gambar 5.6.



**Gambar 5.6** Spektrum FTIR Surfaktan Polimerik *PGA-Taurin* Optimasi (a & c) dan Pektin Optimasi (b)

Gambar 5.6 menunjukkan bahwa kedua sampel surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat-taurin optimasi memiliki karakteristik spektrum yang mirip. Puncak (*peak*) pada bilangan gelombang 1360-1180  $\text{cm}^{-1}$  mengindikasikan adanya vibrasi ulur (*stretching*) gugus amida (C-N) sebagai senyawa amina atau amida. Pada daerah bilangan gelombang antara 1720-1710  $\text{cm}^{-1}$  menghasilkan puncak yang berisi vibrasi ulur gugus C=O (karbonil) dalam asam karboksilat dengan struktur sepasang molekul yang saling berikatan, sedangkan pada bilangan gelombang 1770-1760  $\text{cm}^{-1}$  merupakan daerah serapan gugus C=O dalam monomer asam karboksilat. Gugus C=O pada *methyl* ester yang mengalami vibrasi ulur terdapat pada kisaran bilangan gelombang antara 1690-1760  $\text{cm}^{-1}$ . Pada daerah bilangan gelombang antara 1500-1570  $\text{cm}^{-1}$  menghasilkan puncak yang berisi vibrasi ulur gugus  $\text{NO}_2$  sebagai senyawa nitro serta terdapat puncak pada daerah bilangan gelombang antara 1200-1400  $\text{cm}^{-1}$  menghasilkan puncak yang mengalami vibrasi ulur simetris dan asimetris gugus  $\text{SO}_3$  sebagai senyawa sulfur dari taurin.

#### 5.4 Potensi Pemanfaatan Surfaktan Polimerik berbasis Asam Poligalakturonat

Surfaktan polimerik pektin teramidasi berbasis asam poligalakturonat-taurine merupakan surfaktan yang berpotensi digunakan dalam sistem emulsi air dalam minyak (*water in oil*) karena memiliki afinitas yang kuat dengan senyawa non-polar (minyak) dengan perolehan nilai HLB sebesar  $7,19 \pm 0,03$ . (Mollet & Gubenmann, 2001) menyatakan apabila nilai *Hydrophile-Lipophile Balance* (HLB) semakin rendah menunjukkan kelarutan dalam air yang rendah sehingga sering digunakan sebagai penstabil emulsi air dalam minyak (*water in oil*) sebaliknya semakin tinggi nilai HLB menunjukkan surfaktan semakin bersifat hidrofilik, sehingga lebih mudah larut dalam air dan pada umumnya digunakan sebagai bahan pelarut (*solubilizing agent*), deterjen, serta penstabil untuk emulsi minyak dalam air (*oil in water*). Mishra *et al.*, (2008) dan Sinitsya *et al.* (2000) menyatakan bahwa surfaktan polimerik pektin teramidasi dapat diaplikasikan dalam sistem pelepasan obat atau *drug delivery* sebagai hidrogel amphifilik yang berfungsi membawa atau mengirim serta mengenkapsulasi obat.

(The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) dalam Mortensen *et al.*, 2017) menyatakan surfaktan polimerik pektin teramidasi yang berpotensi digunakan dalam produk pangan dengan syarat memiliki derajat amidasi kurang dari 25%. Merujuk pada persyaratan tersebut maka potensi



pemanfaatan surfaktan pektin teramidasi berbasis asam poligalakturonat tidak dapat digunakan dalam sistem emulsi produk pangan melainkan sistem emulsi produk non pangan, karena memiliki perolehan derajat amidasi 34,27% (> 25%). Perbedaan nilai derajat amidasi dari surfaktan yang dihasilkan dibandingkan standar nilai derajat amidasi yang ditetapkan dapat dipengaruhi oleh perbedaan bahan baku sintesis, dan kondisi proses pada sintesis surfaktan. Karakteristik surfaktan polimerik pektin teramidasi berbasis asam poligalakturonat-aurine optimasi dan pektin teramidasi (*amidated pectin*) komersil (kode E440 ii) oleh *The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)* dapat dilihat pada Tabel 5.14

**Tabel 5.14 Karakteristik Surfaktan Polimerik berbasis Asam Poligalakturonat Optimasi dan Pektin Teramidasi Komersil**

| Parameter           | Surfaktan berbasis PGA Optimasi | <i>Amidated Pectin</i> (E440 ii)*             |
|---------------------|---------------------------------|---|
| Ciri                | Bubuk berwarna kuning muda      | Bubuk berwarna kuning muda, atau coklat muda. |
| Derajat Amidasi (%) | 34,14% ± 0,01                   | Maksimal 25%                                  |

Keterangan:

1. Setiap data hasil analisis adalah hasil rata-rata dari dua kali ulangan ± Standar deviasi.
2. \* Standar oleh *The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)* dalam Mortensen *et al.* (2017).

Knaup *et al.* (2008) melakukan penelitian mengenai metabolisme dari pektin teramidasi yang memiliki nilai derajat amidasi sebesar 20% pada saluran pencernaan manusia secara in-vitro. Hasil penelitiannya menyatakan pektin teramidasi dapat terdegradasi atau tercerna dengan baik oleh mikrobiota usus melalui proses fermentasi ketika berada di dalam usus besar selama 10 jam, yang kemudian menyebabkan peningkatan asam-asam lemak rantai pendek (asam asetat, propionat dan asam butirrat) sebagai produk hasil pencernaan anaerobik pada usus besar pasien ileostomi (penderita yang mengalami gangguan usus besar). Oleh karena itu, toksisitas pektin teramidasi dianggap tidak memiliki masalah keamanan oleh *The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)* dalam Mortensen *et al.* (2017). Perera *et al.* (2010) menyatakan gugus amida yang terbentuk dari reaksi antara pektin (sebagai substansi penerima elektron) dengan senyawa *alkylamine* (sebagai nukleofil yang memiliki pasangan elektron bebas) mampu mengurangi toksisitas dari senyawa *alkylamine* tersebut.

Surfaktan polimerik pektin teramidasi berbasis asam poligalakturonat merupakan jenis pektin bermetoksil rendah (*Low Methoxyl Pectin*) dan memiliki

kemampuan pembentukan gel yang baik pada kondisi pH antara 2-6. Kekuatan gel yang baik juga berpengaruh terhadap peningkatan viskositas larutan yang berdampak pada kestabilan emulsi (Petrova, Petkova, Ognyanov, & Simitchiev, 2017). Fenomena pembentukan gel melibatkan ikatan silang pada rantai polimer untuk membentuk jaringan tiga dimensi yang dapat memerangkap air di dalamnya dengan membentuk struktur viskoelastik sehingga mampu meningkatkan viskositas suatu larutan. Ketika viskositas larutan dalam suatu sistem emulsi meningkat, maka pergerakan fase terdispersi (droplet) pada suatu larutan dalam sistem emulsi menjadi terbatas dan menyebabkan kestabilan sistem emulsi (Lin, Lopez-sanchez, Selway, & Gidley, 2018; Vanitha, 2019).



## VI. PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

Kesimpulan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Kondisi optimum ekstraksi pektin dari kulit jeruk manis varietas pacitan dengan menggunakan metode *microwave assisted reaction* (MAE) dicapai pada penggunaan rasio bubuk kulit jeruk:pelarut 1:51 (g/ml), suhu 65°C, serta lama waktu ekstraksi 7 menit yang menghasilkan perolehan rendemen sebesar 23,87%  $\pm$  0,34 dan total pektin sebesar 21,01%  $\pm$  0,05. Hasil karakterisasi pektin optimasi berdasarkan kadar air, kadar metoksil, kadar asam galakturonat, derajat esterifikasi, dan berat ekuivalen secara berturut-turut sebesar 5,31%, 39,60%, 79,63%, 68,39%, 752,42 (g/mol). Parameter tersebut telah sesuai dengan standar yang ditetapkan IPPA (*International Pectin Producers Association*)
2. Kondisi optimum sintesis surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat melalui modifikasi hidrofilik menggunakan taurin dalam *microwave assisted system* dicapai pada suhu 90°C selama 15 menit diperoleh derajat amidasi sebesar 34,14%  $\pm$  0,01. Hasil karakterisasi terhadap nilai *hidrofilik-lypofilik balance* (HLB) surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat optimasi sebesar 7,19  $\pm$  0,03.

### 6.2 Saran

Saran dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengetahui nilai derajat substitusi pada surfaktan
2. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengoptimasi suhu dan waktu reaksi pada sintesis surfaktan polimerik berbasis asam poligalakturonat melalui modifikasi hidrofilik menggunakan taurin dalam *microwave assisted system* agar diperoleh surfaktan dengan derajat amidasi yang rendah (kurang dari 25%) sebagai syarat dapat digunakan pada aplikasi sistem emulsi produk pangan

## DAFTAR PUSTAKA

- Aboagye, D., Banadda, N., Kiggundu, N., & Kabenge, I. (2016). Assessment of orange peel waste availability in Ghana and potential bio-oil yield using fast pyrolysis. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, (April 2015), 0–1. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.262>
- Adetunji, L. R., Adekunle, A., Orsat, V., & Raghavan, V. (2017). Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review. *Food Hydrocolloids*, 62, 239–250. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.015>
- Afoakwa, A. N., Owusu, J., Adomako, C., & Teye, E. (2012). Microwave Assisted Extraction (MAE) of Antioxidant Constituent in Plant Materials. *Global Journal of Bio-Science & Biotechnology*, 1(2), 132–140.
- Al Mamoori, F., & Al Janabi, R. (2018). Recent Advances in Microwave-Assisted Extraction (Mae) of Medicinal Plants: a Review. *International Research Journal Of Pharmacy*, 9(6), 22–29. <https://doi.org/10.7897/2230-8407.09684>
- Anihouvi, V., F, S., GS, Sakyi-Dawson E, A., & JD, H. (2011). Response surface methodology for optimizing the fermentation conditions during the processing of cassava fish ( *Pseudotolithus* sp ) into Lanhouin. *International Journal of Engineering Science and Technology*, 3(9), 7085–7095.
- Anjum, M., Khalid, A., Qadeer, S., & Miandad, R. (2017). Synergistic effect of co-digestion to enhance anaerobic degradation of catering waste and orange peel for biogas production. *Waste Management & Research*, 1–11. <https://doi.org/10.1177/0734242X17715904>
- Anton Paar. (2019). Microwave Reaction System for Multiwave PRO The Master of Sample Preparation Methods.
- Arrutia, F., Adam, M., Calvo-Carrascal, M. Á., Mao, Y., & Binner, E. (2020). Development of a continuous-flow system for microwave-assisted extraction of pectin-derived oligosaccharides from food waste. *Chemical Engineering Journal*, 395(January), 125056. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125056>
- Axelos, M. A. V., & Thibault, J.-F. (1991). *The Chemistry of Low-Methoxyl Pectin Gelation. The Chemistry and Technology of Pectin*. ACADEMIC PRESS, INC. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-092644-5.50011-x>
- Azad, A. K. M. (2014). Isolation and Characterization of Pectin Extracted from Lemon Pomace during Ripening. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2(2), 30. <https://doi.org/10.11648/j.jfns.20140202.12>

- Bagherian, H., Ashtiani, F. Z., Fouladitajar, A., & Mohtashamy, M. (2011). Chemical Engineering and Processing : Process Intensification Comparisons between conventional , microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification*, 50(11–12), 1237–1243. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2011.08.002>
- Banerjee, J., Ranganathan, V., Arora, A., Macfarlane, D. R., & Patti, A. F. (2016). Lemon juice based extraction of pectin from mango peels : Waste to wealth by sustainable approaches. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b01342>
- Banert, K., & Seifert, J. (2019). Steric hindrance classified: Treatment of isothiocyanatoallene with secondary amines bearing bulky substituents to generate 2-aminothiazoles. *Organic Chemistry Frontiers*, 6(20), 3517–3522. <https://doi.org/10.1039/c9qo00312f>
- Barret, R. (2018). Importance and Evaluation of Lipophilicity. In *Therapeutical Chemistry* (pp. 53–78). <https://doi.org/10.1016/b978-1-78548-288-5.50003-2>
- Begum, R., Yusof, Y. A., Aziz, M. G., & Uddin, M. B. (2017). Screening of Fruit Wastes as Pectin Source. *Journal Environmental Science & Natural Resources*, 10(1), 65–70.
- Beoletto, V. G., de las Mercedes Oliva, M., Marioli, J. M., Carezzano, M. E., & Demo, M. S. (2016). Antimicrobial Natural Products Against Bacterial Biofilms. *Antibiotic Resistance: Mechanisms and New Antimicrobial Approaches*, (January), 291–307. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803642-6.00014-9>
- Berk. (2016). *Morphology and chemical composition* 2.1. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803133-9/00002-3>
- Carciochi, R., Rodriguez, M. M., Nolasco, S. M., & Dimitrov, K. (2017). *Extracting Valuable Bioactive Compounds Using Green Processes. Ingredients Extraction by Physico-Chemical Methods in Food*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811521-3/00004-1>
- Chaliha, M., Williams, D., Smyth, H., & Sultanbawa, Y. (2018). Extraction and characterization of a novel Terminalia pectin. *Food Science and Biotechnology*, 27(1), 65–71. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0201-4>
- Chan, C. H., Yusoff, R., Ngoh, G. C., & Kung, F. W. L. (2011). Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants. *Journal of Chromatography A*, 1218(37), 6213–6225. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.040>

Craig, A. P., Franca, A. S., & Irudayaraj, J. (2015). Vibrational spectroscopy for food quality and safety screening. In *High Throughput Screening for Food Safety Assessment: Biosensor Technologies, Hyperspectral Imaging and Practical Applications* (pp. 165–194). Elsevier Ltd.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-85709-801-6.00007-1>

Dao, T. A. T., Webb, H. K., & Malherbe, F. (2020). Optimization of pectin extraction from fruit peels by response surface method: Conventional versus microwave-assisted heating. *Food Hydrocolloids*, 113, 106475.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106475>

Das, A. K., & Dewanjee, S. (2018). *Optimization of Extraction Using Mathematical Models and Computation. Computational Phytochemistry*. Elsevier Inc.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812364-5.00003-1>

Delazar, A., Nahar, L., Hamedeyzdan, S., & Sarker, S. D. (2012). Microwave-assisted extraction in natural products isolation. *Methods in Molecular Biology*, 864, 89–115. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1_5)

Destandau, E., Michel, T., & Elfakir, C. (2013). *Microwave-assisted extraction. RSC Green Chemistry*. <https://doi.org/10.1039/9781849737579-00113>

Dutt, S., Siril, P. F., & Remita, S. (2017). Swollen liquid crystals (SLCs): A versatile template for the synthesis of nano structured materials. *RSC Advances*, 7(10), 5733–5750. <https://doi.org/10.1039/c6ra26390a>

Eskillson, Cecilia Sparr, E. B. (2000). An approach to sample selection from big data for classification. *Journal of Chromatography A*, 902, 227–250. <https://doi.org/10.1109/SMC.2016.7844685>

Faghihzadeh, F., Anaya, N. M., Schifman, L. A., & Oyanedel-Craver, V. (2016). Fourier transform infrared spectroscopy to assess molecular-level changes in microorganisms exposed to nanoparticles. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 1(1). <https://doi.org/10.1007/s41204-016-0001-8>

Fakayode, O. A., & Abobi, K. E. (2018). Optimization of oil and pectin extraction from orange ( *Citrus sinensis* ) peels : a response surface approach. *Journal of Analytical Science and Technology*, 9(20), 1–16.

Ferreira, S. L. C., Edward, R., Galv, E., Nei, W., Maria, C., Mauricio, J., ... Barros, B. (2007). Statistical designs and response surface techniques for the optimization of chromatographic systems, 1158, 2–14. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.051>

Fraeye, I., De Roeck, A., Duvetter, T., Verlent, I., Hendrickx, M., & Van Loey, A.

(2007). Influence of pectin properties and processing conditions on thermal pectin degradation. *Food Chemistry*, 105(2), 555–563.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.009>

Fraeye, I., Doungra, E., Duvetter, T., Moldenaers, P., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2009). Influence of intrinsic and extrinsic factors on rheology of pectin-calcium gels. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2069–2077.

*Food Hydrocolloids*, 23(8), 2069–2077.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.03.022>

Galan, A. M., Calinescu, I., Trifan, A., Winkworth-Smith, C., Calvo-Carrascal, M., Dodds, C., & Binner, E. (2017). New insights into the role of selective and volumetric heating during microwave extraction: Investigation of the extraction

of polyphenolic compounds from sea buckthorn leaves using microwave-assisted extraction and conventional solvent extraction. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 116, 29–39.

*Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 116, 29–39.

<https://doi.org/10.1016/j.cep.2017.03.006>

Garau, M. C., Simal, S., Rosselló, C., & Femenia, A. (2007). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. *Canoneta*) by-products. *Food Chemistry*, 104(3), 1014–1024.

*Food Chemistry*, 104(3), 1014–1024.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.009>

Genot, C., T. H. Kabri, A. M. (2013). *Stabilization of omega-3 oils and enriched foods using antioxidants. Food Enrichment with Omega-3 Fatty Acids.*

Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857098863.2.130>

Goncalves, Elsa M., Joaquina Pinheiro, Marta Abreu, C. L. M. S. (2005). Influence of maturity stage on texture, pectin composition and microstructure of pumpkin. *Conference Paper*, (January), 1–7.

*Conference Paper*, (January), 1–7.

Goycoolea, F. M., & Cárdenas, A. (2003). Pectins from *Opuntia* spp.: A short review. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5(February 2003), 17–29.

*Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 5(February 2003), 17–29.

Guo, X., Meng, H., Tang, Q., Pan, R., Zhu, S., & Yu, S. (2016). Effects of the precipitation pH on the ethanolic precipitation of sugar beet pectins. *Food Hydrocolloids*, 52, 431–437. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.013>

*Food Hydrocolloids*, 52, 431–437. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.013>

Guolin, H., Jeffrey, S., Kai, Z., & Xiaolan, H. (2012). Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of pectin from lemon peels. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1(1). <https://doi.org/10.1155/2012/302059>

*Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1(1). <https://doi.org/10.1155/2012/302059>

Hamed, A. A. R., Elkhedir, A. E. E., & Mustafa, S. E. (2017). *Journal of*

*Journal of*

Experimental Food Effect of Soxhlet Method Extraction on Characterization of Pectin of Pumpkin Peels. *Journal of Experimental Food Chemistry*, 3(1), 1–3. <https://doi.org/10.4172/2472-0542.1000122>

Hill, K. (2010). *Surfactants from Renewable*.

Hosseini, S. S., Khodaiyan, F., & Yarmand, M. S. (2015). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 140, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.12.051>

Kacuráková, M., Capek, P., Sasinková, V., Wellner, N., & Ebringerová, A. (2000). FT-IR study of plant cell wall model compounds: Pectic polysaccharides and hemicelluloses. *Carbohydrate Polymers*, 43(2), 195–203. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(00\)00151-X](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(00)00151-X)

Kalopathy, U., & Proctor, A. (2001). Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin. *Food Chemistry*, 73(4), 393–396. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00307-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00307-1)

Karthick, A., Roy, B., & Chattopadhyay, P. (2019). A review on the application of chemical surfactant and surfactant foam for remediation of petroleum oil contaminated soil. *Journal of Environmental Management*, 243(April), 187–205. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.04.092>

Kaya, M., Sousa, A. G., Crépeau, M. J., Sørensen, S. O., & Ralet, M. C. (2014). Characterization of citrus pectin samples extracted under different conditions: Influence of acid type and pH of extraction. *Annals of Botany*, 114(6), 1319–1326. <https://doi.org/10.1093/aob/mcu150>

Khamsucharit, P., Laohaphatanalert, K., Gavinlertvatana, P., Sriroth, K., & Sangseethong, K. (2018). Characterization of pectin extracted from banana peels of different varieties. *Food Science and Biotechnology*, 27(3), 623–629. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0302-0>

Koppar, A., & Pullammanappallil, P. (2013). Anaerobic digestion of peel waste and wastewater for on site energy generation in a citrus processing facility. *Energy*, 60, 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.08.007>

Košálová, Z., Aguedo, M., & Hromádková, Z. (2016). Microwave-assisted extraction of pectin from unutilized pumpkin biomass. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 102, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2015.12.009>

Kratchanova, M., Pavlova, E., & Panchev, I. (2004). The effect of microwave



heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydrate Polymers*, *56*(2), 181–185.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.01.009>

Kulkarni, S. G., & Vijayanand, P. (2010). Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis f. flavicarpa* L.). *LWT - Food Science and Technology*, *43*(7), 1026–1031. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.11.006>

Kute, A. B., Mohapatra, D., Kotwaliwale, N., Giri, S. K., & Sawant, B. P. (2020). Characterization of Pectin Extracted from Orange Peel Powder using Microwave-Assisted and Acid Extraction Methods. *Agricultural Research*, *9*(2), 241–248. <https://doi.org/10.1007/s40003-019-00419-5>

Li, J., Zu, Y. G., Fu, Y. J., Yang, Y. C., Li, S. M., Li, Z. N., & Wink, M. (2010). Optimization of microwave-assisted extraction of triterpene saponins from defatted residue of yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) kernel and evaluation of its antioxidant activity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *11*(4), 637–643. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.06.004>

Lin, D., Lopez-sanchez, P., Selway, N., & Gidley, M. J. (2018). Viscoelastic properties of pectin/cellulose composites studied by QCM-D and oscillatory shear rheology. *Food Hydrocolloids*, *79*, 13–19. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.019>

Liu, Y., Shi, J., & Langrish, T. A. G. (2006). Water-based extraction of pectin from flavedo and albedo of orange peels, *120*(February), 203–209. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2006.02.015>

Löfgren, C., Walkenström, P., & Hermansson, A. M. (2002). Microstructure and rheological behavior of pure and mixed pectin gels. *Biomacromolecules*, *3*(6), 1144–1153. <https://doi.org/10.1021/bm020044v>

Lopez-Avila, V. (2000). Chapter 3 Applications of microwave-assisted extraction in environmental analysis. *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, *21*(C), 115–153. [https://doi.org/10.1016/S0167-9244\(00\)80009-8](https://doi.org/10.1016/S0167-9244(00)80009-8)

Lucchesi, M. E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., & Chemat, F. (2007). Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, *79*(3), 1079–1086. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.03.029>

Lukic, M., Pantelic, I., & Savic, S. (2016). An overview of novel surfactants for

formulation of cosmetics with certain emphasis on acidic active substances.

*Tenside, Surfactants, Detergents*, 53(1), 7–19.

<https://doi.org/10.3139/113.110405>

Mahato, Neelima, Mukty Sinha, Kavita Sharma, Rakoti Koteswararao, M. H. C.

(2019). Modern Extraction and Purification Techniques for Obtaining High Purity Food-Grade Bioactive Compounds and Value-Added Co-Products from Citrus Wastes. *Food*, 8(523), 1–81.

Malviya, Rishabha, G. T. K. (2014). Extraction and characterization of mango peel pectin as pharmaceutical excipient. *Polimery Medicine*, 42(May), 185–190.

Mandal, V., Mohan, Y., & Hemalatha, S. (2007). Microwave Assisted Extraction - An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research PHCOG REV. : Review Article Microwave Assisted Extraction – An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Pharmacognosy Reviews*, (November).

Maneerat, N., & Tangsuphoom, N. (2017). Effect of extraction condition on properties of pectin from banana peels and its function as fat replacer in salad cream. *Journal of Food Science and Technology*.  
<https://doi.org/10.1007/s13197-016-2475-6>

Mantzouridou, F. T., Paraskevopoulou, A., & Lalou, S. (2015). Yeast flavour production by solid state fermentation of orange peel waste. *Biochemical Engineering Journal*, 101, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.04.013>

Maran, J. P., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., & Sridhar, R. (2014). Microwave assisted extraction of pectin from waste Citrullus lanatus fruit rinds. *Carbohydrate Polymers*, 101, 786–791.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.062>

Marin, Francisco R., Cristina Soler-Rivas, Obdulio Benavente-Garcia, Julian Castillo, J. A. P.-A. (2007). By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. *Food Chemistry*, 100, 736–741.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.040>

Maskey, B., Dhakal, D., Pradhananga, M., & Shrestha, N. K. (2018). Extraction and process optimization of bael fruit pectin. *Food Science and Nutrition*, (May), 3–8. <https://doi.org/10.1002/fsn3.761>

Megawati, & Machsunah, E. L. (2016). EKSTRAKSI PEKTIN DARI KULIT PISANG KEPOK (*Musa paradisiaca*) MENGGUNAKAN PELARUT HCl SEBAGAI EDIBLE FILM. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 5(1), 14–21.

<https://doi.org/10.15294/jbat.v5i1.4177>

Megawati, & Ulinuha, A. Y. (2014). EKSTRAKSI PEKTIN KULIT BUAH NAGA (Dragon fruit) DAN APLIKASINYA SEBAGAI EDIBLE FILM. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 3(1), 16–23. <https://doi.org/10.15294/jbat.v3i1.3097>

Mishra, R. K., Datt, M., Pal, K., & Banthia, A. K. (2008). Preparation and characterization of amidated pectin based hydrogels for drug delivery system. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19(6), 2275–2280. <https://doi.org/10.1007/s10856-007-3310-4>

Mohd Aris, Z. F., Bouldin, R. M., Pelletier, M. G. H., Gaines, P., Budhlall, B., & Nagarajan, R. (2017). Microwave-assisted synthesis and characterization of hydrophilically functionalized polygalacturonic acid. *Carbohydrate Polymers*, 155, 432–439. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.070>

Moldoveanu, S. C. (2019). *Pyrolysis of Carboxylic Acids*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64000-0.00012-3>

Mollet, H., & Grubenmann, A. (2001). Formulation Technology. *Formulation Technology*. <https://doi.org/10.1002/9783527612925>

Montgomery, D. C. (2012). *Design and Analysis of Experiments Eighth Edition*.

Moore, P. N. (2002). A fundamental investigation of surfactant induced irritation.

Moorkanikkara, S. N. (2007). Development of Novel Methodologies to Analyze the Adsorption Kinetics of Nonionic Surfactants. *Chemical Engineering*.

Moradi, N., Rahimi, M., Moeini, A., & Parsamoghadam, M. A. (2018). *Impact of ultrasound on oil yield and content of functional food ingredients at the oil extraction from sunflower*. *Separation Science and Technology (Philadelphia)* (Vol. 53). Taylor & Francis. <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1384016>

Mortensen, A., Aguilar, F., Crebelli, R., Domenico, A. Di, Dusemund, B., Frutos, M. J., ... Tasiopoulou, S. (2017). Re-evaluation of pectin ( E 440i ) and amidated pectin ( E 440ii ) as food additives. *EFSA (European Food Safety Authority) Journal*, 15(7), 1–62. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4866>

Müller-Maatsch, J., Bencivenni, M., Caligiani, A., Tedeschi, T., Bruggeman, G., Bosch, M., ... Sforza, S. (2016). Pectin content and composition from different food waste streams in memory of Anna Surribas, scientist and friend. *Food Chemistry*, 201, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.012>

Mulqueen, M. (2001). Theoretical and experimental investigation of the equilibrium and dynamic interfacial behavior of mixed surfactant solutions, *Given Ava*(2), 908.

Myers, D. (2006). *Surfactant science and technology. Journal of Colloid and Interface Science* (Vol. 130). [https://doi.org/10.1016/0021-9797\(89\)90107-0](https://doi.org/10.1016/0021-9797(89)90107-0)

Nascimento, G. E. Do, Simas-Tosin, F. F., Iacomini, M., Gorin, P. A. J., & Cordeiro, L. M. C. (2016). Rheological behavior of high methoxyl pectin from the pulp of tamarillo fruit (*Solanum betaceum*). *Carbohydrate Polymers*, 139, 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.067>

Nayak, B., Dahmoune, F., Moussi, K., Remini, H., Dairi, S., Aoun, O., & Khodir, M. (2015). *Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from Citrus sinensis peels. Food Chemistry* (Vol. 187). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.081>

Ngouémazong, E. D., Christiaens, S., Shpigelman, A., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2015). The Emulsifying and Emulsion-Stabilizing Properties of Pectin: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 705–718. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12160>

Nguyen, M. B., Ngoc, & Pirak, T. (2019). Physicochemical properties and antioxidant activities of white dragon fruit peel pectin extracted with conventional and ultrasound- assisted extraction Physicochemical properties and antioxidant activities of white dragon fruit peel pectin extracted with. *Cogent Food & Agriculture*, 5, 1–13. <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1633076>

Nguyen, T. T., Morgan, C., Poindexter, L., & Fernandez, J. (2019). Application of the Hydrophilic–Lipophilic Deviation Concept to Surfactant Characterization and Surfactant Selection for Enhanced Oil Recovery. *Journal of Surfactants and Detergents*, jsde.12305. <https://doi.org/10.1002/jsde.12305>

Nikolovski, N. (2009). Title Pectin : New Insights from an Old Polymer through Pectinase-Based Genetic Screens.

Oliveira, L. G. De, Paiva, A. P. De, Balestrassi, P. P., Carlos, S., Henrique, P., & Balestrassi, P. P. (2019). Response surface methodology for advanced manufacturing technology optimization : theoretical fundamentals , practical guidelines , and survey literature review Brazilian Association of Technical Standards. *The International Journal of Advanced Manufacturing Technology*, 1–53.

Oreopoulou, V., & Russ, W. (2007). Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry. *Utilization of By-Products and Treatment of Waste*

in the Food Industry, (January), 1–316. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-35766-9>

Pavia, Donald L., Gary Lampman, George S. Kriz, J. R. V. (2013). *Introduction to spectroscopy. Optical Astronomical Spectroscopy.*

<https://doi.org/10.1887/0750303468/b293c1>

Peng, X., Yang, G., Shi, Y., Zhou, Y., Zhang, M., & Li, S. (2020). Box–Behnken design based statistical modeling for the extraction and physicochemical properties of pectin from sunflower heads and the comparison with commercial low-methoxyl pectin. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11.

<https://doi.org/10.1038/s41598-020-60339-1>

Perina, I., Satiriani, Soetaredjo, F. E., & Hindarso, H. (2007). Ekstraksi pektin dari berbagai macam kulit jeruk. *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*, 6(1), 1–10.

Petrova, I., Petkova, N. T., Ognyanov, M., & Simitchiev, A. T. (2017). Food emulsions with amidated pectin from celery (*Apium graveolens* var. *rapaceum* D. C.) tubers. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 9(3), 246–250.

<https://doi.org/10.15547/ast.2017.03.046>

Pi, F., Liu, Z., Guo, X., Guo, X., & Meng, H. (2019). Food Hydrocolloids Chicory root pulp pectin as an emulsi fi er as compared to sugar beet pectin . Part 1 : In fl uence of structure , concentration , counterion concentration. *Food Hydrocolloids*, 89(July 2018), 792–801.

<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.061>

Poole, C. F. (2020). *Milestones in the Development of Liquid-Phase Extraction Techniques. Liquid-Phase Extraction.* Elsevier Inc.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816911-7.00001-3>

Prakash Maran, J., Sivakumar, V., Thirugnanasambandham, K., & Sridhar, R. (2013). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 703–709.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.05.052>

Prasetyowati, Sari, K. P., & Pesantri, H. (2009). Pectin extraction from mango skin. *Jurnal Teknik Kimia*, 16(4), 42–49.

Putnik, Predrag, Danijela Bursa Kovacevic , Anet Režek Jambrak , Francisco J. Barba , Giancarlo Cravotto , Arianna Binello, Jose Manuel Lorenzo, A. S.

(2017). Innovative “ Green ” and Novel Strategies for the Extraction of Bioactive Added Value Compounds from Citrus Wastes — A Review. *Molecules*, 22(680), 1–24. <https://doi.org/10.3390/molecules22050680>

Putra, N. (2010). Optimasi Proses Ekstraksi Pektin Dami Buah Nangka. *Agritech*, 30(3), 158–163.

Qi, D. (2018). *Chemical Separation Method 7.1*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813920-2.00007-6>

Raffa, P., Broekhuis, A. A., & Picchioni, F. (2016). Polymeric surfactants for enhanced oil recovery: A review. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 145, 723–733. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2016.07.007>

Raffa, P., Wever, D. A. Z., Picchioni, F., & Broekhuis, A. A. (2015). Polymeric surfactants: Synthesis, properties, and links to applications. *Chemical Reviews*, 115(16), 8504–8563. <https://doi.org/10.1021/cr500129h>

Rahmani, Z., Khodayan, F., Kazemi, M., & Sharifan, A. (2019). Optimization of microwave-assisted extraction and structural characterization of pectin from sweet lemon peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147(xxxx), 1107–1115. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.079>

Raissi, S., & Farsani, R. E. (2009). Statistical process optimization Through multi-response surface methodology. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 39, 280–284.

Ramadhani, R. A., Herdian, D., Riyadi, S., & Triwibowo, B. (2017). Review Pemanfaatan Design Expert untuk Optimasi Komposisi Campuran Minyak Nabati sebagai Bahan Baku Sintesis Biodiesel. *Jurnal Teknik Kimia Dan Lingkungan*, 1(1), 11–16.

Rivas, Beatriz, Anna Torado, Paolo Torre, Attilio Converti, J. M. D. (2008). Submerged Citric Acid Fermentation on Orange Peel Autohydrolysate, 56(7), 2380–2387.

Rodrigues, R. C. L. B., Kenealy, W. R., Dietrich, D., & Jeffries, T. W. (2012). Response surface methodology (RSM) to evaluate moisture effects on corn stover in recovering xylose by DEO hydrolysis. *Bioresource Technology*, 108, 134–139. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.026>

Rodríguez, A., Kava, V., Latorre-garcía, L., Geraldo, J., Jr, S., Pereira, R. G., ... Vicent, A. (2018). Engineering d-limonene synthase downregulation in orange fruit induces resistance against the fungus *Phyllosticta citricarpa* through enhanced accumulation of monoterpene alcohols and activation of defence. Authors. *Journal of Molecular Plant Pathology*, 19(9), 2077–2093. <https://doi.org/10.1111/mpp.12681>

Rodríguez Seoane, P., Flórez-Fernández, N., Conde Piñeiro, E., & Domínguez

González, H. (2017). Microwave-Assisted Water Extraction. In *Water Extraction of Bioactive Compounds: From Plants to Drug Development* (pp. 163–198). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00006-1>

Rodsamran, P., & Sothornvit, R. (2019). Microwave heating extraction of pectin from lime peel: Characterization and properties compared with the conventional heating method. *Food Chemistry*, 278, 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.067>

Ryding, M. J., Debnárová, A., Fernández, I., & Uggerud, E. (2015). Nucleophilic Substitution in Reactions between Partially Hydrated Superoxide Anions and Alkyl Halides. *Journal of Organic Chemistry*, 80(12), 6133–6142. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.5b00651>

Saberian, H., Hamidi-esfahani, Z., Gavlighi, H. A., & Barzegar, M. (2017). Optimization of pectin extraction from orange juice waste assisted by ohmic heating. *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification*, 1–31. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2017.03.025>

Sahoo, P., & Barman, T. K. (2012). ANN modelling of fractal dimension in machining, 159–226. <https://doi.org/10.1533/9780857095893.159>

Sarabia, L. A., & Ortiz, M. C. (2009). Response Surface Methodology.

Schmidt, U. S. (2016). Citrus pectin as a hydrocolloid emulsifier: Emulsifying and emulsion stabilizing properties, (February), 141. <https://doi.org/10.5445/IR/1000054229>

Schmidt, U. S., Schmidt, K., Kurz, T., Endreß, H. U., & Schuchmann, H. P. (2015). Pectins of different origin and their performance in forming and stabilizing oil-in-water-emulsions. *Food Hydrocolloids*, 46, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.12.012>

Shah, S. K., Niraula, T. P., Bhattarai, A., & Chatterjee, S. (2012). Cationic Surfactants and their uses in different fields. *TUTA Journal*, (June 2014), 33–37.

Shan, Y. (2016). Extraction Processes of Functional Components From Citrus Peel. In *Comprehensive Utilization of Citrus By-Products* (pp. 31–58). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809785-4.00003-4>

Sharma, P. C., Gupta, A., & Kaushal, P. (2014). Optimization of method for extraction of pectin from apple pomace. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 5(2), 184–189.

Shekhar Pandharipande, H. M. (2012). SEPARATION OF OIL AND PECTIN

FROM ORANGE PEEL AND STUDY OF EFFECT OF pH OF EXTRACTING MEDIUM. *Technical Journal*, 1.

Sihelníková, L., Synytsya, A., & Čopíková, J. (2004). Amino-dealkoxylation of hm citruc pectin with n-alkylamines: a kinetic study. *Czech Journal of Food Sciences*, 22(SI-Chem. Reactions in Foods V), S235-2S37.

<https://doi.org/10.17221/10669-cjfs>

Silva, A. S., Valente, I. M., Nunes, C., Coimbra, M. A., & Guido, L. F. (2013).

Determiration of aldoses, deoxy-aldoses and uronic acids content in a pectin-rich extract by RP-HPLC-FLD after p-AMBA derivatization. *Chromatographia*, 76(17–18), 1117–1124. <https://doi.org/10.1007/s10337-013-2510-y>

Simpson, B. K., Egyankor, K. B., & Martin, A. M. (1984). Extraction, Purification and Determination of Pectin in Tropical Fruits. *Journal of Food Processing and Preservation*, 8(2), 63–72. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.1984.tb00688.x>

Sinitsya, A., Čopíková, J., Prutyaynov, V., Skoblya, S., & MacHovič, V. (2000).

Amidation of highly methoxylated citrus pectin with primary amines. *Carbohydrate Polymers*, 42(4), 359–368. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(99\)00184-8](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(99)00184-8)

Sivaramakrishnan, C. N. (2013). *The use of surfactants in the finishing of technical textiles. Advances in the Dyeing and Finishing of Technical Textiles.*

<https://doi.org/10.1533/9780857097613.2.199>

Smith, B. C. (2011). *Fundamentals of Fourier Transform InfraRed Spectroscopy*, 2nd Edition. *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53).

Strassburger, J., & Torgesen, J. (1963). A phase study of the system: Oxalic acid/acetic acid/water; its significance in oxalic acid crystal growth, 67(4), 347–350.

Stuart, B. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53).

Syntysya, A., Čpíková, J., Marounek, M., Mlčochová, P., Sihelková, L., Blafková, P.,

... Havlíček, J. (2003). Preparation of N-alkylamides of highly methylated (HM) citrus pectin. *Czech Journal of Food Sciences*, 21(No. 5), 162–166.

<https://doi.org/10.17221/3494-cjfs>

Synytsya, A., Čopíková, J., Marounek, M., Mlčochová, P., Sihelníková, L., Skoblya,

S., ... Machovič, V. (2004). N-octadecylpectinamide, a hydrophobic sorbent based on modification of highly methoxylated citrus pectin. *Carbohydrate*



*Polymers*, 56(2), 169–179. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.01.008>

Tadros, T. F. (2005). *Applied Surfactants*. *Applied Surfactants*. <https://doi.org/10.1002/3527604812>

Tatke, P., & Jaiswal, Y. (2011). An overview of microwave assisted extraction and its applications in herbal drug research. *Research Journal of Medicinal Plant*. <https://doi.org/10.3923/rjmp.2011.21.31>

Thakur, R. K., Vilette, C., Aubry, J. M., & Delaplace, G. (2008). Dynamic emulsification and catastrophic phase inversion of lecithin-based emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 315(1–3), 285–293. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.08.017>

Torre, I. De, Acedos, M. G., Esteban, J., Santos, V. E., & Ladero, M. (2019). Utilisation / upgrading of orange peel waste from a biological biorefinery perspective. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 5975–5991.

Tsubaki, S., Onda, A., Hiraoka, M., Fujii, S., Azuma, J. ichi, & Wada, Y. (2017). *Microwave-Assisted Water Extraction of Carbohydrates From Unutilized Biomass. Water Extraction of Bioactive Compounds: From Plants to Drug Development*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00007-3>

Turakhozhayev, and M. A. K. (1994). PLANT PECTIN SUBSTANCES. METHODS OF ISOLATING PECTIN SUBSTANCES. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 23(3)(Physiology of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in health and dysregulation in psychiatric and autoimmune disorders.), 451–466.

Twinomuhwezi, H., Godswill, A. C., & Kahunde, D. (2020). Extraction and Characterization of Pectin from Orange (*Citrus sinensis*), Lemon (*Citrus limon*) and Tangerine (*Citrus tangerina*). *American Journal of Physical Sciences*, 1(1(2)), 17–30.

Vaclavik, V. A., & Christian, E. W. (2003). Pectins and Gums, 62–73. [https://doi.org/10.1007/978-1-4757-5173-4\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4757-5173-4_5)

Vanitha, T. and M. Khan. (2019). We are IntechOpen, the world's leading publisher of Open Access books Built by scientists, for scientists TOP 1%. *Intech*, (tourism), 13.

Vera Zambrano, M., Dutta, B., Mercer, D. G., MacLean, H. L., & Touchie, M. F. (2019). Assessment of moisture content measurement methods of dried food products in small-scale operations in developing countries: A review. *Trends*

in *Food Science and Technology*, 88(April), 484–496.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.006>

Walstra, P. (2003). *Physical Chemistry of Foods. Food Chemistry* (Vol. 85).  
[https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(03\)00246-2](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(03)00246-2)

Wang, J. X., Xiao, X. H., & Li, G. K. (2008). Study of vacuum microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds and pigment from Chinese herbs. *Journal of Chromatography A*, 1198–1199(1–2), 45–53.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.05.045>

Widerström, E., & Öhman, R. (2017). Mayonnaise Quality: Quality and Catastrophic Phase Inversion Lund. *Meteorologiya i Hidrologiya*, (4), 123–125.

Wisetkomolmat, J., Suppakittpaisarn, P., & Sommano, S. R. (2019). Detergent Plants of Northern Thailand: Potential Sources of Natural Saponins. *Resources*, 8(10), 1–14. <https://doi.org/10.3390/resources8010010>

Wolowicz, A., Staszak, K., & Hubicki, Z. (2019). Static sorption of heavy metal ions on ion exchanger in the presence of sodium dodecylbenzenesulfonate. *Adsorption*, 25(3), 393–404. <https://doi.org/10.1007/s10450-019-00014-8>

Xiao, X., Song, W., Wang, J., & Li, G. (2012). Microwave-assisted extraction performed in low temperature and in vacuo for the extraction of labile compounds in food samples. *Analytica Chimica Acta*, 712, 85–93.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.11.034>

Yahaya Khan, M., Abdul Karim, Z. A., Hagos, F. Y., Aziz, A. R. A., & Tan, I. M. (2014). Current trends in water-in-diesel emulsion as a fuel. *The Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/527472>

Yang, Y. (2008). Multiple Criteria Third-Order Response Surface Design and Comparison.

Yapo, B., & Koffi, K. (2013). Extraction and Characterization of Highly Gelling Low Methoxy Pectin from Cashew Apple Pomace. *Foods*, 3(1), 1–12.  
<https://doi.org/10.3390/foods3010001>

Yolmeh, M., & Jafari, S. M. (2017). Applications of Response Surface Methodology in the Food Industry Processes. *Food and Bioprocess Technology*, 10(3), 413–433. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1855-2>

Zarei, M., Ahmadi Zenouz, A., Saari, N., Ghanbari, R., Nikkhah, M., & Vaziri, M. (2017). Effect of microwave-assisted extraction on the yield and quality of apple pomace and lemon peel pectins. *International Food Research Journal*,

24(6), 2402–2407.

Zema, D. A., Calabrò, P. S., Folino, A., Tamburino, V., Zappia, G., & Zimbone, S.

M. (2018). Valorisation of citrus processing waste: A review. *Waste Management*, 80, 252–273. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.09.024>

Zhang, Y., Chen, P., Liu, S., Fan, L., Zhou, N., Min, M., ... Ruan, R. (2017).

Microwave - Assisted Pyrolysis of Biomass for Bio - Oil Production.

Zheng, X., YIN, F., LIU, C., & XU, X. (2011). Effect of Process Parameters of

Microwave Assisted Extraction (MAE) on Polysaccharides Yield from Pumpkin. *Journal of Northeast Agricultural University (English Edition)*, 18(2), 79–86. [https://doi.org/10.1016/s1006-8104\(12\)60014-2](https://doi.org/10.1016/s1006-8104(12)60014-2)

Zhongdong, L., Guohua, W., Yunchang, G., & Kennedy, J. F. (2006). Image study of pectin extraction from orange skin assisted by microwave. *Carbohydrate*

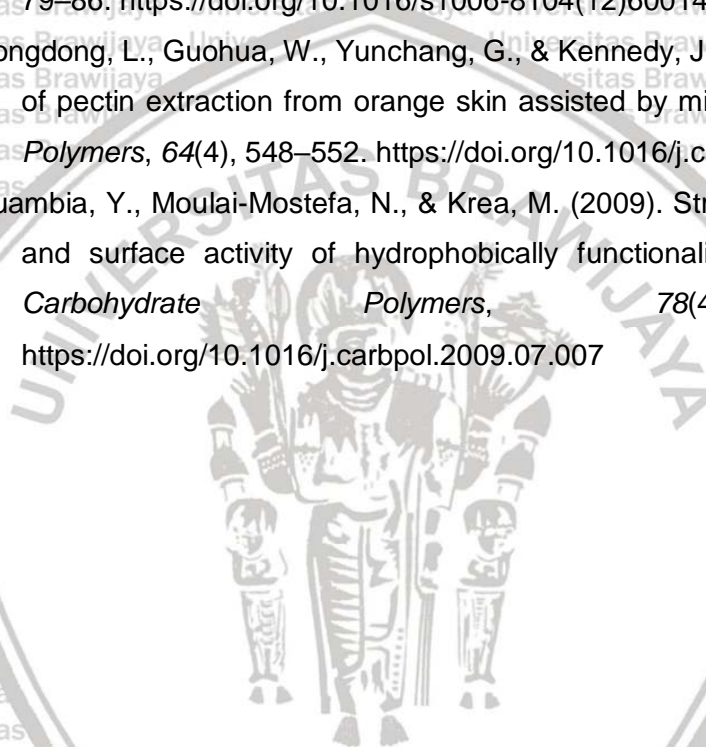
*Polymers*, 64(4), 548–552. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.11.006>

Zouambia, Y., Moulai-Mostefa, N., & Krea, M. (2009). Structural characterization

and surface activity of hydrophobically functionalized extracted pectins.






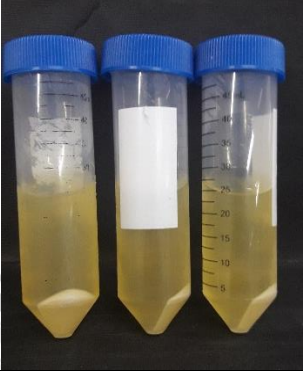
*Carbohydrate Polymers*, 78(4), 841–846.

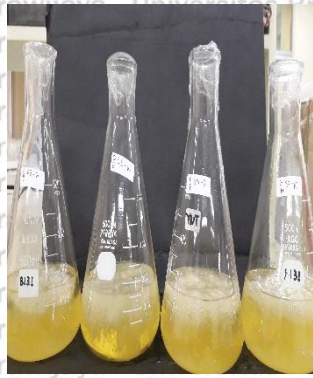
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.007>



LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian

|   |  |
|---|--|
|    |    |
| <b>Bahan baku (kulit jeruk manis)</b>   | <b>Pengeringan kulit jeruk manis</b>   |
|   |   |
| <b>Bubuk kulit jeruk manis</b>  | <b>Pembuatan larutan bubuk kulit jeruk</b>   |
|  |  |
| <b>Ekstraksi menggunakan MAE</b>  | <b>Sentrifugasi 6000 rpm, 20 menit, 4°C</b>  |



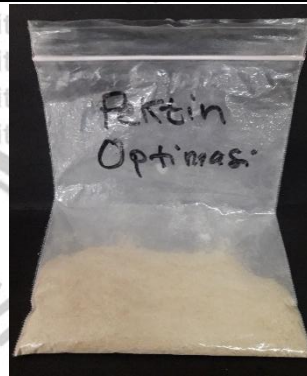
**Presipitasi menggunakan etanol**



**Penyaringan pektin**



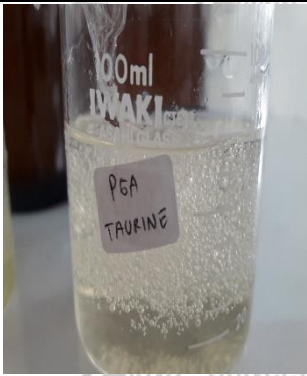
**Pengeringan**



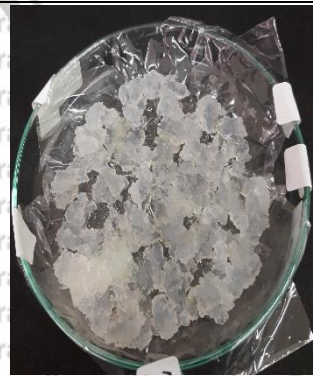
**Bubuk pektin kulit jeruk manis**



**Derivatisasi asam poligalakturonat**



**Sintesis surfaktan PGA-Taurin**



**Pengeringan**



**Bubuk surfaktan polimerik**

## Lampiran 2. Prosedur Analisa Penelitian

### Analisa Kadar Total Pektin (Modifikasi Begum *et al.*, 2017)

1. Bubuk pektin ditimbang sebanyak 0,3 gam dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, lalu ditambahkan larutan 100 ml HCL 0,05 N.
2. Diekstraksi dalam *shaker waterbath* selama 4 jam pada suhu 90°C, kemudian didinginkan dan disaring dengan menggunakan kertas saring kasar.
3. Filtrat yang diperoleh lalu disimpan dan residu diambil dan diekstrak dengan 50 ml HCl 0,05N selama 20 menit pada suhu 90°C menggunakan *shaker waterbath*, kemudian didinginkan dan disaring dengan menggunakan kertas saring kasar dan residu dibilas menggunakan air panas.
4. Filtrat yang diperoleh lalu disimpan lagi dan residu yang diperoleh diekstrak dengan larutan 50 ml HCl 0,3N selama 10 menit pada suhu 90°C menggunakan *shaker waterbath*, kemudian didinginkan dan disaring dengan menggunakan kertas saring kasar dan residu dibilas menggunakan air panas.
5. Filtrat yang sudah terkumpul dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml dan ditambahkan akuades sampai tanda batas.
6. Aliquot diambil sebanyak 100 ml dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml, kemudian ditambahkan dengan akuades sebanyak 250 ml dan 3 tetes indikator phenolphthalein.
7. Ditambahkan larutan NaOH 0,1 N sedikit demi sedikit sampai terbentuk warna merah muda atau pink.
8. Selanjutnya, ditambahkan lagi larutan 10 ml NaOH 0,1 N agar larutan menjadi basa berlebih dan diaduk selama 18 jam menggunakan *shaker*.
9. Ditambahkan sebanyak 50 ml asam asetat 1 N dan didiamkan selama 5 menit lalu ditambahkan larutan 25 ml CaCl<sub>2</sub> 1 N.
10. Larutan disaring dengan kertas saring halus yang telah diketahui berat konstan. Kertas saring dan isinya dikeringkan menggunakan oven pada suhu 110°C selama 4 jam, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang.
11. Dipanaskan lagi dalam oven selama 1 jam, kemudian didinginkan di dalam desikator dan ditimbang. Perlakuan ini diulangi hingga tercapai berat konstan.
12. Kadar total pektin hasil ekstraksi dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Total Pektin (\%)} = \frac{a - b}{c} \times \text{faktor pengenceran} \times 100$$

Keterangan :

a = berat konstan kertas saring dan endapan

b = berat konstan kertas saring

c = berat sampel awal

#### **Analisa Berat Ekuivalen (Modifikasi Nguyen & Pirak, 2019)**

1. Pektin ditimbang sebanyak 0,5 gam dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml.
2. Ditambahkan larutan etanol sebanyak 5 ml dan 1 gam NaCl untuk mempertajam titik titrasi.
3. Ditambahkan akuades sebanyak 100 ml dan 6 tetes indikator phenolphthalein.
4. Larutan diaduk dengan cepat untuk memastikan senyawa pektat telah larut dan tidak ada gumpalan yang tertinggal pada erlenmeyer.
5. Dilakukan titrasi dengan larutan NaOH 0,1 N secara pelan hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda (pH 7,5) dan tetap bertahan selama kurang lebih 30 detik, kemudian dicatat volume titrasi
6. Berat ekuivalen dihitung dengan rumus berikut ini :

$$\text{Berat Ekuivalen} \left( \frac{\text{gram}}{\text{mol}} \text{ ekuivalen} \right) = \frac{\text{Berat Sampel (g)}}{\text{Volume}_{\text{NaOH}} (\text{L}) \times N_{\text{NaOH}} \left( \frac{\text{mol ekuivalen}}{\text{L}} \right)}$$

#### **Analisa Kadar Metoksil (Modifikasi Nguyen & Pirak, 2019)**

1. Ditambahkan larutan 25 ml NaOH 0,25 N ke dalam larutan titrasi hasil penentuan berat ekuivalen.
2. Dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dalam keadaan tertutup.
3. Ditambahkan 25 ml larutan HCl 0,25 N dan 3 tetes indikator phenolphthalein.
4. Dilakukan titrasi dengan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda dan tetap bertahan selama kurang lebih 30 detik
5. Kadar metoksil dihitung dengan rumus berikut ini :

$$\text{Kadar Metoksil (\%)} = \frac{\text{Volume}_{\text{NaOH}} (\text{L}) \times N_{\text{NaOH}} \times \text{BE}_{\text{Metoksil}}}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100$$

Keterangan :

$$\text{BE}_{\text{Metoksil}} = 31 \frac{\text{gram}}{\text{mol}} \text{ ekuivalen}$$

### Analisa Kadar Asam Galakturonat (Modifikasi Nguyen & Pirak, 2019)

Kadar asam galakturonat dihitung dari nilai penentuan Berat Ekuivalen dan kadar metoksil. Rumus kadar asam galakturonat sebagai berikut :

$$\text{Kadar Asam Galakturonat (\%)} = \frac{BM_{\text{Asam galakturonat}} \times N_{\text{NaOH}}(y + z)}{\text{Berat Sampel (g)}} \times 100$$

Keterangan :

$BM_{\text{Asam galakturonat}}$  = Berat molekul asam galakturonat (  $176 \frac{\text{gram}}{\text{mol}}$  )

$N_{\text{NaOH}}$  = Normalitas NaOH (  $0,1 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$  )

$y$  = Volume NaOH dari penentuan berat ekuivalen (L)

$z$  = Volume NaOH dari penentuan kadar metoksil (L)

### Analisa Derajat Esterifikasi (Modifikasi Nguyen & Pirak, 2019)

1. Pektin ditimbang sebanyak 0,5 gam dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml.
2. Ditambahkan larutan etanol sebanyak 5 ml.
3. Ditambahkan akuades bebas karbondioksida sebanyak 100 ml dan 6 tetes indikator phenolphthalein.
4. Larutan diaduk dengan cepat untuk memastikan senyawa pektat telah larut dan tidak ada gumpalan yang tertinggal pada erlenmeyer.
5. Dilakukan titrasi dengan larutan NaOH 0,1 N secara pelan hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda / pink yang pucat (pH 7,5) dan tetap bertahan warnanya selama kurang lebih 30 detik, kemudian dicatat volume titrasi awal sebagai V1.
6. Ditambahkan larutan NaOH 0,1 N sebanyak 30 ml ke dalam larutan hasil titrasi awal.
7. Dikocok dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang dalam keadaan tertutup.
8. Ditambahkan larutan HCl 0,1 N sebanyak 30 ml dan 3 tetes indikator phenolphthalein.
9. Dilakukan titrasi dengan larutan NaOH 0,1 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda / pink yang pucat dan tetap bertahan warnanya selama kurang lebih 30 detik, kemudian dicatat volume titrasi akhir sebagai V2.
10. Derajat esterifikasi dihitung dengan rumus berikut ini :



$$\text{Derajat Esterifikasi (\%)} = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \times 100$$

#### **Analisa Rendemen Pektin (Modifikasi Li et al., 2012)**

1. Berat kering kulit jeruk ditimbang (b)
2. Berat kering pektin ditimbang ( $b_0$ )
3. Rendemen pektin dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen Pektin (\%)} = \frac{b_0}{b} \times 100$$

#### **Analisa Kadar Air (AOAC, 2005)**

1. Cawan dimasukkan ke dalam oven suhu 105°C selama 24 jam, kemudian cawan dimasukkan ke dalam desikator selama 15 menit, lalu ditimbang dengan timbangan analitik (x).
2. Sampel yang telah dihaluskan ditimbang sebanyak 1 gam (y) pada cawan yang telah diketahui beratnya.
3. Sampel yang berada pada cawan kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C selama 5 jam.
4. Sampel beserta cawan kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit lalu ditimbang. Perlakuan ini diulang sampai tercapai berat konstan (z), dimana selisih penimbangan berat sampel berturut-turut adalah kurang dari 0,5 mg
5. Kadar air dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{berat sampel awal} - \text{berat sampel akhir}}{\text{berat sampel awal}} \times 100$$

#### **Analisa Gugus Fungsional Pektin (Modifikasi Hosseini et al., 2015)**

1. Sebanyak 1 mg sampel ditimbang dan dicampur dengan 100 mg kalium bromida (KBr) dalam mortar agate.
2. Sampel dipadatkan dengan press hidrolik vakum pada tekanan 1,2 psi.
3. Sampel siap diamati dengan FTIR spectra Nicolet 5700 (Thermo Fischer Scientific, USA) menggunakan frekuensi 4000-400  $\text{cm}^{-1}$  dengan resolusi 4  $\text{cm}^{-1}$

### Analisa Gugus Fungsional Amida dan Derajat Amidasi Metode FTIR (Modifikasi Zouambia *et al.*, 2009)

Sampel padatan pektin teramidasi sebanyak 1 - 10 miligram dihaluskan, kemudian dicampurkan dengan 100 miligram KBr dan dicetak menjadi cakram tipis (pelet) dengan menggunakan *mini hand press*. Spektrum FTIR pada pelet sampel dianalisa menggunakan mode absorbansi dari spektrofotometer Shimadzu-8400 dengan resolusi 4 cm<sup>-1</sup> dan *number of scans* sebanyak 128 yang bertujuan untuk memindai nilai spektrum di setiap bilangan gelombang hingga sesuai dengan yang diharapkan. Derajat amidasi (DA) dihitung berdasarkan rasio luas area pada daerah gugus amida terhadap luas area pada daerah gugus karbonil yang tertera pada rumus berikut ini :

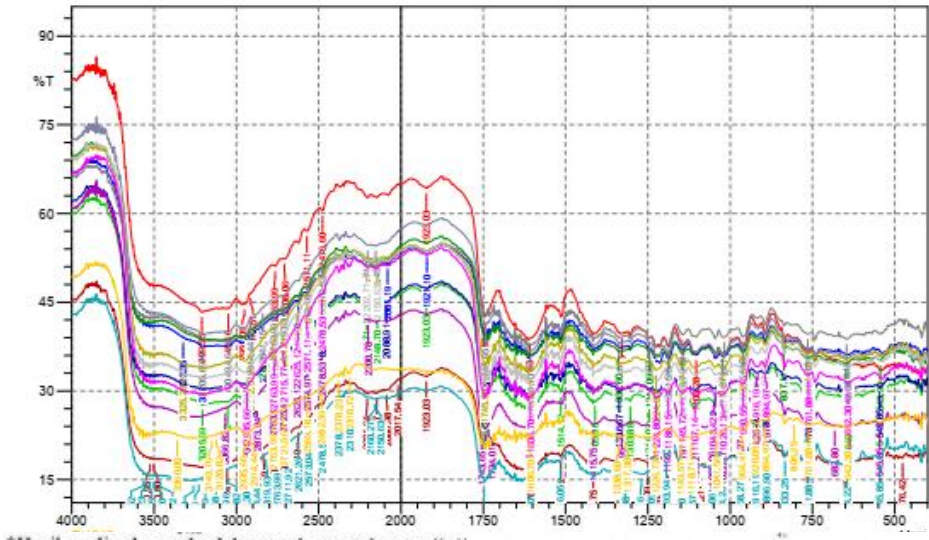
$$DA (\%) = \frac{A_{gugus\ amide}}{A_{gugus\ karbonil}} \times 100$$

### Analisa Nilai HLB Metode Bilangan Air (Modifikasi Noerdin, 2008)

Analisa nilai HLB dari surfaktan non-ionik ditentukan dengan menggunakan metode bilangan air (*water number method*). Larutan yang mengandung 1 gram surfaktan non-ionik dalam 25 ml campuran piridine dan benzena 95:5 (v/v) diaduk kemudian dititrasi dengan akuades hingga terjadi kekeruhan permanen setelah diaduk secara perlahan selama 1 menit, dimana setiap penambahan volume peniter (akuades) sebanyak 2 ml perlu dilakukan pengadukan secara perlahan pada larutan. Adapun nilai HLB dari sampel surfaktan non-ionik diperoleh dengan cara interpolasi pada kurva standar HLB yang berisi data volume peniter akuades yang digunakan (sumbu x) dan nilai HLB (sumbu y) pada beberapa jenis surfaktan yakni : asam oleat, *span 20*, dan *tween 80*.

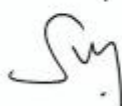
## Lampiran 3. Hasil Pengujian FTIR Surfaktan Polimerik PGA-Taurin

|   |   |
|---|---|
|  | UNIVERSITAS NEGERI MALANG<br>FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM<br><b>LABORATORIUM MINERAL DAN MATERIAL MAJU (LABORATORIUM SENTRAL)</b><br>Jalan Semarang 5, Malang 65145<br>Telp. 0341-551312 (psw 200) 574895/ 085106001088<br>E-mail : <a href="mailto:laboratoriumsentralum@yahoo.co.id">laboratoriumsentralum@yahoo.co.id</a><br>Website : <a href="http://central-laboratory.um.ac.id">central-laboratory.um.ac.id</a> |
|   |   |

| <b>LAPORAN HASIL UJI</b>   |  |
|--|--|
| <b>LSUM.LHU.F.1167.2020</b>  |  |
| <b>Customers</b>   | : Aditya Wardana - UB  |
| <b>Contact Customer</b>  | : 085733269585/ email : <a href="mailto:adityawardana909@gmail.com">adityawardana909@gmail.com</a> |
| <b>Methods</b>   | : IK.M.F.1   |
| <b>Test Equipment</b>  | : FT IR  |
| <b>Received Date</b>   | : 13 November 2020   |
| <b>Order Number</b>  | : LSUM.P.1149.2020   |
| SPECIMEN DESCRIPTION   |  |
| <b>Condition of Samples</b>  | : Sampel serbuk coklat dalam plastik klip  |
| <b>Sample Code</b>   | : F 1206 -1219   |
| <b>Material Name</b>   | : A - N  |
| <b>Measurement time</b>  | : 25 November 2020   |
| OPERATOR, ANALYZER & SUPERVISOR  |  |
| <b>Analyzer</b>  | : Mailinda A.H., S.Si  |
| <b>Supervisor</b>  | : Dra. Surjani Wonorahardjo, Ph.D.   |
| RESULTS  |  |
| <b>Remark</b>  | :  |
|  |  |

\*Hasil analisa hanya berlaku untuk sampel yang diuji

Mengetahui,  
Manajer Teknis



Dra. Surjani Wonorahardjo, Ph.D.  
NIP. 196605281991032001

Malang, 27 November 2020  
Menyetujui  
a.n Dekan

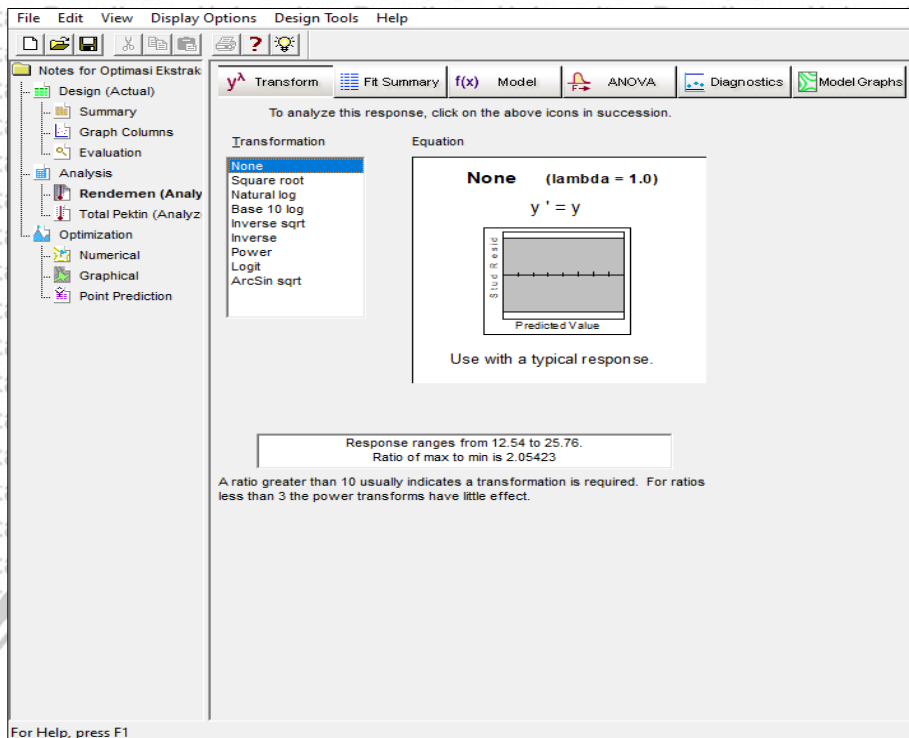
Kepala Lab. Mineral dan Material Maju FMIPA UM

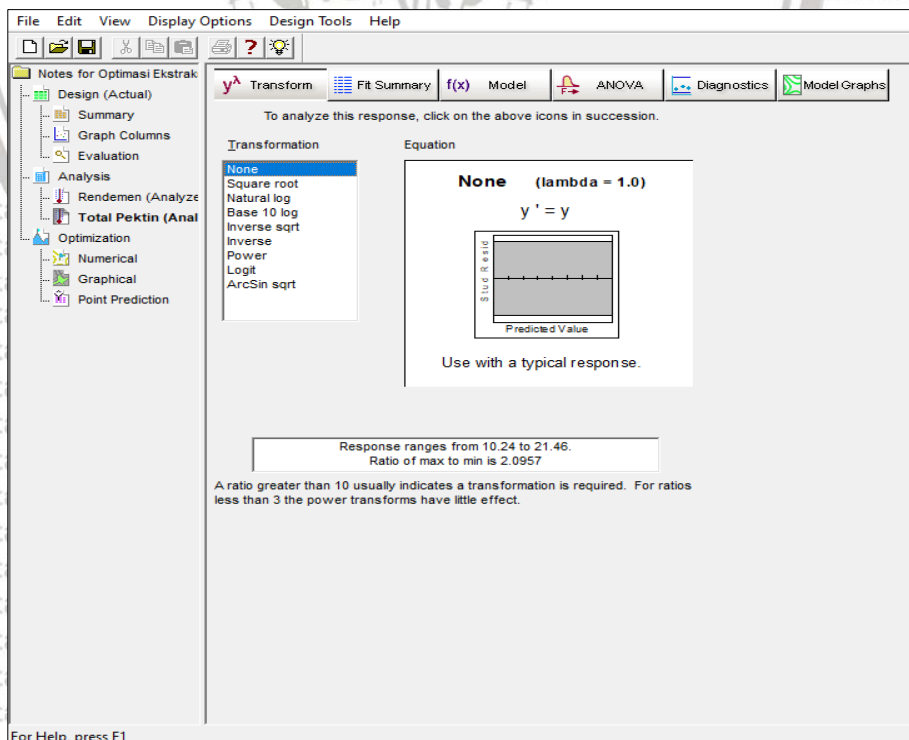

Nandang Mufti, S.Si, M.T, Ph.D  
NIP. 197208152005011001

## Lampiran 4. Rasio Data Respon Rendemen dan Total Pektin

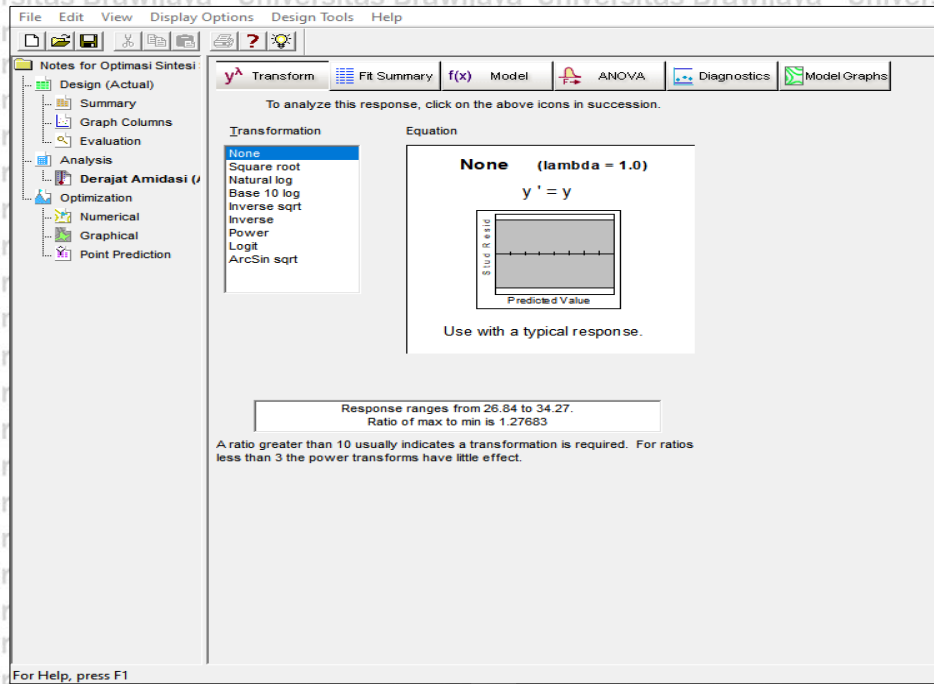
### 4.1 Rasio Data Respon Rendemen



### 4.2 Rasio Data Respon Total Pektin



### 4.3 Rasio Data Respon Deajat Amidasi



File Edit View Display Options Design Tools Help

Notes for Optimasi Sintesi

- Design (Actual)
- Summary
- Graph Columns
- Evaluation
- Analysis
  - Derajat Amidasi ( $\mu$ )
  - Optimization
  - Numerical
  - Graphical
  - Point Prediction

Transform

To analyze this response, click on the above icons in succession.

Transformation

- None
- Square root
- Natural log
- Base 10 log
- Inverse sqrt
- Power
- Logit
- ArcSin sqrt

Equation

None (lambda = 1.0)

$$y' = y$$

Use with a typical response.

Response ranges from 26.84 to 34.27.  
Ratio of max to min is 1.27683

A ratio greater than 10 usually indicates a transformation is required. For ratios less than 3 the power transforms have little effect.

For Help, press F1



## Lampiran 5. Tabel Model Respon Design Expert

## 5.1 Respon Rendemen Pektin

**Sequential Model Sum of Squares Respon Rendemen**

| Sumber    | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Rata-rata Kuadrat | Nilai F | Nilai P Prob > F |                  |
|-----------|----------------|---------------|-------------------|---------|------------------|------------------|
| Mean      | 6176,58        | 1             | 6176,58           |         |                  |                  |
| Linear    | 16,77          | 3             | 5,59              | 0,29    | 0,8286           |                  |
| 2FI       | 1,25           | 3             | 0,42              | 0,017   | 0,9968           |                  |
| Kuadratik | 221,63         | 3             | 73,88             | 21,74   | 0,0006           | <i>Suggested</i> |
| Kubik     | 1,94           | 3             | 0,65              | 0,12    | 0,9448           | <i>Aliased</i>   |
| Residual  | 21,85          | 4             | 5,46              |         |                  |                  |
| Total     | 6440,02        | 17            | 378,82            |         |                  |                  |

**Lack of Fit Test Respon Rendemen**

| Sumber    | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Rata-rata Kuadrat | Nilai F | Nilai P Prob > F |                  |
|-----------|----------------|---------------|-------------------|---------|------------------|------------------|
| Linear    | 224,82         | 9             | 24,98             | 4,57    | 0,0786           |                  |
| 2FI       | 223,57         | 6             | 37,26             | 6,82    | 0,0421           |                  |
| Kuadratik | 1,94           | 3             | 0,65              | 0,12    | 0,9488           | <i>Suggested</i> |
| Kubik     | 0,000          | 0             |                   |         |                  | <i>Aliased</i>   |
| Galat     | 21,85          | 4             | 5,46              |         |                  |                  |

**Model Summary Statistics Respon Rendemen**

| Sumber    | Standar Deviasi | R <sup>2</sup> | Adjusted R <sup>2</sup> | Predicted R <sup>2</sup> | PRESS  |                  |
|-----------|-----------------|----------------|-------------------------|--------------------------|--------|------------------|
| Linear    | 4,36            | 0,0637         | -0,1524                 | -0,5628                  | 411,70 |                  |
| 2FI       | 4,95            | 0,0684         | -0,4905                 | -2,1353                  | 825,94 |                  |
| Kuadratik | 1,84            | 0,9097         | 0,7936                  | 0,7528                   | 65,11  | <i>Suggested</i> |
| Kubik     | 2,34            | 0,9171         | 0,6683                  |                          |        | <i>Aliased</i>   |

## 5.2 Respon Total Pektin

### Sequential Model Sum of Squares Respon Totak Pektin

| Sumber    | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Rata-rata Kuadrat | Nilai F   | Nilai P Prob>F           |
|-----------|----------------|---------------|-------------------|-----------|--------------------------|
| Mean      | 4513,80        | 1             | 4513,80           |           |                          |
| Linear    | 13,19          | 3             | 4,40              | 0,25      | 0,8618                   |
| 2FI       | 0,65           | 3             | 0,22              | 9,47E-003 | 0,9986                   |
| Kuadratik | 224,27         | 3             | 74,76             | 85,25     | <0,0001 <i>Suggested</i> |
| Kubik     | 4,78           | 3             | 1,59              | 4,67      | 0,0852 <i>Aliased</i>    |
| Residual  | 1,36           | 4             | 0,34              |           |                          |
| Total     | 4758,05        | 17            | 279,89            |           |                          |

### Lack of Fit Test Respon Total Pektin

| Sumber    | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Rata-rata Kuadrat | Nilai F | Nilai P Prob > F        |
|-----------|----------------|---------------|-------------------|---------|-------------------------|
| Linear    | 229,71         | 9             | 25,52             | 79,94   | 0,0004                  |
| 2FI       | 229,05         | 6             | 38,18             | 112,09  | 0,0002                  |
| Kuadratik | 4,78           | 3             | 1,59              | 4,67    | 0,0852 <i>Suggested</i> |
| Kubik     | 0,000          | 0             |                   |         | <i>Aliased</i>          |
| Galat     | 1,36           | 4             | 0,34              |         |                         |

### Model Summary Statistics Respon Total Pektin

| Sumber    | Standar Deviasi | R <sup>2</sup> | Adjusted R <sup>2</sup> | Predicted R <sup>2</sup> | PRESS                  |
|-----------|-----------------|----------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|
| Linear    | 4,22            | 0,0540         | -0,1643                 | -0,5663                  | 382,58                 |
| 2FI       | 4,80            | 0,0567         | -0,5093                 | -2,1259                  | 763,51                 |
| Kuadratik | 0,94            | 0,9749         | 0,9426                  | 0,6784                   | 78,55 <i>Suggested</i> |
| Kubik     | 0,58            | 0,9944         | 0,9777                  |                          | <i>Aliased</i>         |

### 5.3 Respon Derajat Amidasi

#### Sequential Model Sum of Squares Respon Derajat Amidasi

| Sumber    | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Rata-rata Kuadrat | Nilai F | Nilai P Prob>F          |
|-----------|----------------|---------------|-------------------|---------|-------------------------|
| Mean      | 11957,60       | 1             | 11957,60          |         |                         |
| Linear    | 56,67          | 2             | 28,33             | 51,17   | <0,0001                 |
| 2FI       | 1,02           | 1             | 1,02              | 2,03    | 0,1877                  |
| Kuadratik | 2,96           | 2             | 1,49              | 6,81    | 0,0228 <i>Suggested</i> |
| Kubik     | 0,35           | 2             | 0,18              | 0,75    | 0,5190 <i>Aliased</i>   |
| Residual  | 1,18           | 5             | 0,24              |         |                         |
| Total     | 12019,81       | 13            | 924,60            |         |                         |

#### Lack of Fit Test Respon Derajat Amidasi

| Sumber    | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Rata-rata Kuadrat | Nilai F | Nilai P Prob > F        |
|-----------|----------------|---------------|-------------------|---------|-------------------------|
| Linear    | 4,53           | 6             | 0,75              | 2,99    | 0,1541                  |
| 2FI       | 3,51           | 5             | 0,70              | 2,78    | 0,1715                  |
| Kuadratik | 0,53           | 3             | 0,18              | 0,69    | 0,6021 <i>Suggested</i> |
| Kubik     | 0,17           | 1             | 0,17              | 0,68    | 0,4564 <i>Aliased</i>   |
| Galat     | 1,01           | 4             | 0,25              |         |                         |

#### Model Summary Statistics Respon Derajat Amidasi

| Sumber    | Standar Deviasi | R <sup>2</sup> | Adjusted R <sup>2</sup> | Predicted R <sup>2</sup> | PRESS                 |
|-----------|-----------------|----------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Linear    | 0,74            | 0,9110         | 0,8932                  | 0,8493                   | 9,37                  |
| 2FI       | 0,71            | 0,9274         | 0,9032                  | 0,8651                   | 8,39                  |
| Kuadratik | 0,47            | 0,9753         | 0,9577                  | 0,9146                   | 5,31 <i>Suggested</i> |
| Kubik     | 0,49            | 0,9810         | 0,9545                  | 0,7986                   | 12,53 <i>Aliased</i>  |



## Lampiran 6. Tabel Analysis of Variance (ANOVA)

### 6.1 Tabel ANOVA Respon Rendemen

| Sumber         | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Rata-rata Kuadrat | Nilai F | Nilai P Prob>F |                  |
|----------------|----------------|---------------|-------------------|---------|----------------|------------------|
| Model          | 239,65         | 9             | 26,63             | 7,84    | 0,0064         | Signifikan       |
| A-Rasio        | 15,46          | 1             | 15,46             | 4,55    | 0,0704         |                  |
| B-Suhu         | 0,044          | 1             | 0,044             | 0,013   | 0,9131         |                  |
| C-Waktu        | 1,27           | 1             | 1,27              | 0,37    | 0,5600         |                  |
| AB             | 0,11           | 1             | 0,11              | 0,033   | 0,8609         |                  |
| AC             | 0,50           | 1             | 0,50              | 0,15    | 0,7135         |                  |
| BC             | 0,64           | 1             | 0,64              | 0,19    | 0,6773         |                  |
| A <sup>2</sup> | 204,38         | 1             | 204,38            | 60,15   | 0,0001         |                  |
| B <sup>2</sup> | 8,72           | 1             | 8,72              | 2,57    | 0,1531         |                  |
| C <sup>2</sup> | 0,81           | 1             | 0,81              | 0,24    | 0,6396         |                  |
| Residual       | 23,78          | 7             | 3,40              |         |                |                  |
| Lack of fit    | 1,94           | 3             | 0,65              | 0,12    | 0,9448         | Tidak Signifikan |
| Galat          | 21,85          | 4             | 5,46              |         |                |                  |
| Total          | 263,43         | 16            |                   |         |                |                  |

Keterangan: AB, AC, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup> dan C<sup>2</sup> : interaksi antar perlakuan

A : Variabel X1 (rasio bahan : pelarut ekstraksi pektin kulit jeruk manis)

B : Variabel X2 (suhu ekstraksi pektin kulit jeruk manis)

C : Variabel X3 (waktu ekstraksi pektin kulit jeruk manis)

### 6.2 Tabel ANOVA Respon Total Pektin

| Sumber         | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Rata-rata Kuadrat | Nilai F    | Nilai P Prob>F |                  |
|----------------|----------------|---------------|-------------------|------------|----------------|------------------|
| Model          | 238,11         | 9             | 26,46             | 30,17      | <0,0001        | Signifikan       |
| A-Rasio        | 12,85          | 1             | 12,85             | 14,66      | 0,0065         |                  |
| B-Suhu         | 5,000E-003     | 1             | 5,000E-003        | 5,702E-003 | 0,9419         |                  |
| C-Waktu        | 0,33           | 1             | 0,33              | 0,37       | 0,5601         |                  |
| AB             | 0,46           | 1             | 0,46              | 0,52       | 0,4944         |                  |
| AC             | 0,20           | 1             | 0,20              | 0,23       | 0,6491         |                  |
| BC             | 1,225E-003     | 1             | 1,225E-003        | 1,397E-003 | 0,9712         |                  |
| A <sup>2</sup> | 195,60         | 1             | 195,60            | 223,05     | <0,0001        |                  |
| B <sup>2</sup> | 10,59          | 1             | 10,59             | 12,07      | 0,0103         |                  |
| C <sup>2</sup> | 6,75           | 1             | 6,75              | 7,69       | 0,0276         |                  |
| Residual       | 6,14           | 7             | 0,88              |            |                |                  |
| Lack of fit    | 4,78           | 3             | 1,59              | 4,67       | 0,0852         | Tidak Signifikan |
| Galat          | 1,36           | 4             | 0,34              |            |                |                  |
| Total          | 244,25         | 16            |                   |            |                |                  |

Keterangan: AB, AC, BC, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup> dan C<sup>2</sup> : interaksi antar perlakuan

A : Variabel X1 (rasio bahan : pelarut ekstraksi pektin kulit jeruk manis)

B : Variabel X2 (suhu ekstraksi pektin kulit jeruk manis)

C : Variabel X3 (waktu ekstraksi pektin kulit jeruk manis)

### 6.3 Tabel ANOVA Respon Derajat Amidasi

| Sumber         | Jumlah Kuadrat | Derajat Bebas | Rata-rata Kuadrat | Nilai F | Nilai P Prob>F | Signifikan       |
|----------------|----------------|---------------|-------------------|---------|----------------|------------------|
| Model          | 60,67          | 5             | 12,13             | 55,38   | <0,0001        | Signifikan       |
| A-Suhu         | 25,34          | 1             | 25,34             | 115,63  | <0,0001        |                  |
| B-Waktu        | 31,33          | 1             | 31,33             | 142,98  | <0,0001        |                  |
| AB             | 1,02           | 1             | 1,02              | 4,66    | 0,0678         |                  |
| A <sup>2</sup> | 2,30           | 1             | 2,30              | 10,47   | 0,0143         |                  |
| B <sup>2</sup> | 1,04           | 1             | 1,04              | 4,75    | 0,0657         |                  |
| Residual       | 1,53           | 7             | 0,22              |         |                |                  |
| Lack of fit    | 0,53           | 3             | 0,18              | 0,69    | 0,6021         | Tidak Signifikan |
| Galat          | 1,01           | 4             | 0,25              |         |                |                  |
| Total          | 62,21          | 12            |                   |         |                |                  |

Keterangan: AB, A<sup>2</sup>, B<sup>2</sup>: interaksi antar perlakuan

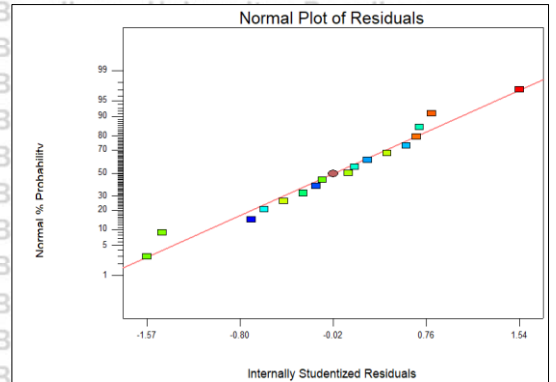
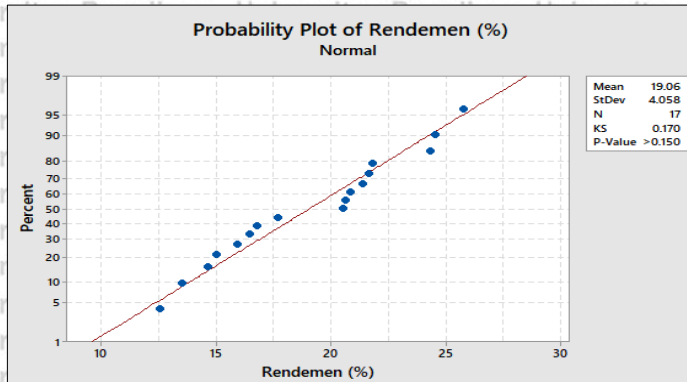
A : Variabel X1 (suhu reaksi sintesis surfaktan dalam *microwave assisted system*)

B : Variabel X2 (waktu reaksi sintesis surfaktan dalam *microwave assisted system*)

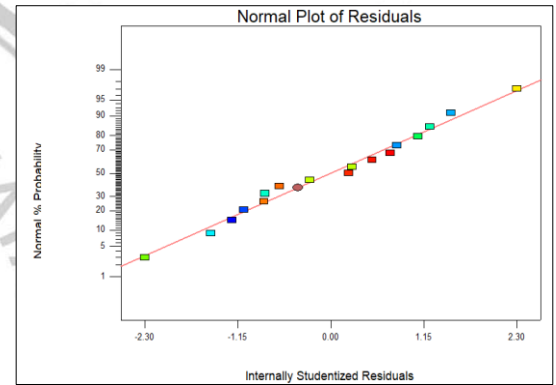
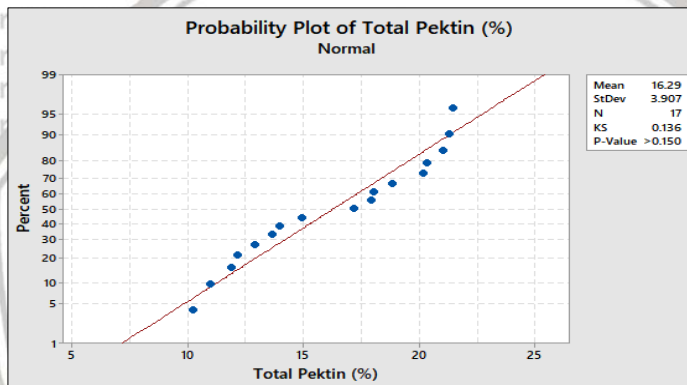
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



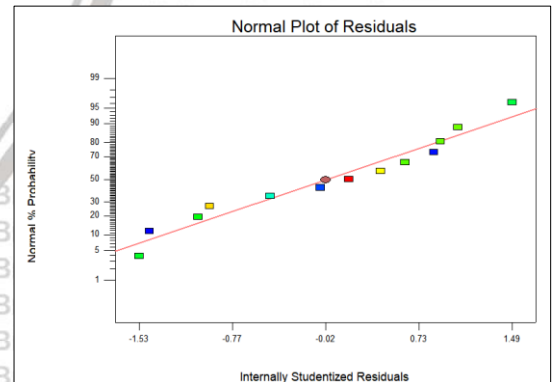
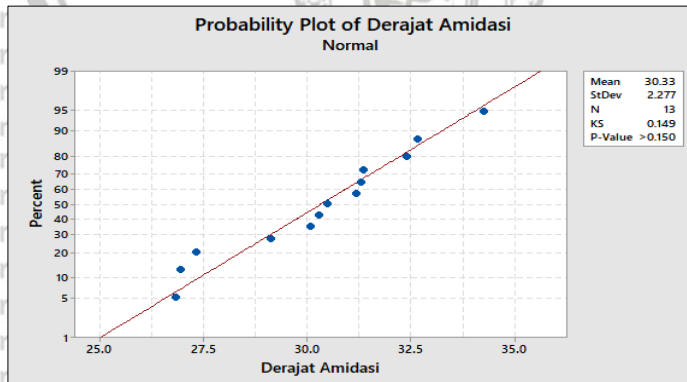
Lampiran 7. Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov  
 7.1 Normalitas Rendemen



7.2 Normalitas Total Pektin



7.3 Normalitas Derajat Amidasi



## Lampiran 8. Hasil Verifikasi *Paired T-Test* Bahan Baku Kulit Jeruk Manis

### 8.1 *T-Test* Kadar Air

Paired T for Hasil Analisa (%) - Literatur (%)

|                   | N | Mean   | StDev  | SE Mean |
|-------------------|---|--------|--------|---------|
| Hasil Analisa (%) | 3 | 8.9833 | 0.0802 | 0.0463  |
| Literatur (%)     | 3 | 8.3300 | 0.0000 | 0.0000  |
| Difference        | 3 | 0.6533 | 0.0802 | 0.0463  |

95% CI for mean difference: (0.4541, 0.8526)  
 T-Test of mean difference = 0 (vs ≠ 0): T-Value = 14.11 P-Value = 0.005

| ↓ | C1                | C2            | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 |
|---|-------------------|---------------|----|----|----|----|----|
|   | Hasil Analisa (%) | Literatur (%) |    |    |    |    |    |
| 1 | 9.06              | 8.33          |    |    |    |    |    |
| 2 | 8.90              | 8.33          |    |    |    |    |    |
| 3 | 8.99              | 8.33          |    |    |    |    |    |
| 4 |                   |               |    |    |    |    |    |
| 5 |                   |               |    |    |    |    |    |

### 8.2 *T-Test* Kadar Pektin

Paired T-Test and CI: Hasil Analisa (%), Literatur (%)

Paired T for Hasil Analisa (%) - Literatur (%)

|                   | N | Mean    | StDev  | SE Mean |
|-------------------|---|---------|--------|---------|
| Hasil Analisa (%) | 3 | 2.0478  | 0.0246 | 0.0142  |
| Literatur (%)     | 3 | 3.0800  | 0.0000 | 0.0000  |
| Difference        | 3 | -1.0322 | 0.0246 | 0.0142  |

95% CI for mean difference: (-1.0932, -0.9711)  
 T-Test of mean difference = 0 (vs ≠ 0): T-Value = -72.75 P-Value = 0.000

| ↓ | C1                | C2            | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 |
|---|-------------------|---------------|----|----|----|----|----|
|   | Hasil Analisa (%) | Literatur (%) |    |    |    |    |    |
| 1 | 2.08              | 3.08          |    |    |    |    |    |
| 2 | 2.03              | 3.08          |    |    |    |    |    |
| 3 | 2.03              | 3.08          |    |    |    |    |    |
| 4 |                   |               |    |    |    |    |    |
| 5 |                   |               |    |    |    |    |    |

## Lampiran 9. Hasil Verifikasi *Paired T-Test* Data Optimasi

### 9.1 *T-Test* Rendemen

Paired T for Prediksi - Verifikasi

|            | N | Mean   | StDev | SE Mean |
|------------|---|--------|-------|---------|
| Prediksi   | 3 | 23.360 | 0.000 | 0.000   |
| Verifikasi | 3 | 23.867 | 0.340 | 0.196   |
| Difference | 3 | -0.507 | 0.340 | 0.196   |

95% CI for mean difference: (-1.352, 0.338)  
 T-Test of mean difference = 0 (vs ≠ 0): T-Value = -2.58 P-Value = 0.123

| ↓ | C1       | C2         | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 |
|---|----------|------------|----|----|----|----|----|----|
|   | Prediksi | Verifikasi |    |    |    |    |    |    |
| 1 | 23.36    | 23.48      |    |    |    |    |    |    |
| 2 | 23.36    | 24.12      |    |    |    |    |    |    |
| 3 | 23.36    | 24.00      |    |    |    |    |    |    |
| 4 |          |            |    |    |    |    |    |    |
| 5 |          |            |    |    |    |    |    |    |

### 9.2 *T-Test* Kadar Total Pektin

Paired T for Prediksi - Verifikasi

|            | N | Mean    | StDev  | SE Mean |
|------------|---|---------|--------|---------|
| Prediksi   | 3 | 20.9000 | 0.0000 | 0.0000  |
| Verifikasi | 3 | 21.0067 | 0.0503 | 0.0291  |
| Difference | 3 | -0.1067 | 0.0503 | 0.0291  |

95% CI for mean difference: (-0.2317, 0.0184)  
 T-Test of mean difference = 0 (vs ≠ 0): T-Value = -3.67 P-Value = 0.067

| ↓ | C1       | C2         | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 |
|---|----------|------------|----|----|----|----|----|----|
|   | Prediksi | Verifikasi |    |    |    |    |    |    |
| 1 | 20.90    | 21.06      |    |    |    |    |    |    |
| 2 | 20.90    | 21.00      |    |    |    |    |    |    |
| 3 | 20.90    | 20.96      |    |    |    |    |    |    |
| 4 |          |            |    |    |    |    |    |    |
| 5 |          |            |    |    |    |    |    |    |

### 9.3 *T-Test* Derajat Amidasi

Paired T for Prediksi - Verifikasi

|            | N | Mean   | StDev | SE Mean |
|------------|---|--------|-------|---------|
| Prediksi   | 3 | 34.220 | 0.000 | 0.000   |
| Verifikasi | 3 | 34.147 | 0.414 | 0.239   |
| Difference | 3 | 0.073  | 0.414 | 0.239   |

95% CI for mean difference: (-0.954, 1.101)  
 T-Test of mean difference = 0 (vs ≠ 0): T-Value = 0.31 P-Value = 0.788

Worksheet 1 \*\*\*

| ↓ | C1       | C2         | C3 | C4 | C5 | C6 | C7 | C8 | C9 |
|---|----------|------------|----|----|----|----|----|----|----|
|   | Prediksi | Verifikasi |    |    |    |    |    |    |    |
| 1 | 34.22    | 34.36      |    |    |    |    |    |    |    |
| 2 | 34.22    | 33.67      |    |    |    |    |    |    |    |
| 3 | 34.22    | 34.41      |    |    |    |    |    |    |    |
| 4 |          |            |    |    |    |    |    |    |    |
| 5 |          |            |    |    |    |    |    |    |    |