

OPTIMASI PROSES MASERASI VANILI (*Vanilla planifolia* Andrews) HASIL MODIFIKASI PROSES KURING

[Maceration Process Optimization of Vanilli (*Vanilla Planifolia* Andrews)
from Modified Curing]

Dwi Setyaningsih¹⁾, Meika S. Rusli¹⁾, Melawati²⁾ dan Ika Mariska³⁾

¹⁾ Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fateta, IPB

²⁾ Alumni Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fateta, IPB

³⁾ Balai Penelitian Biologi dan Genetika Tanaman (Balit Biogen), Bogor

Diterima 15 September 2006 / Disetujui 2 November 2006

ABSTRACT

Modified cured vanilla was processed to vanilla extract by maceration method. The aim of this research were to optimize the method of maceration, type of vanilla bean with highest vanillin content, extraction solvent composition, and other variables that could optimize the vanillin content and characterize the extract from half dried cured vanilla. The optimization used response surface method with 2² factorial and 2³ factorial.

One step of maceration could extract vanillin (average 2.3 g/l) much more than two steps maceration (average 2.1 g/l). Vanillin content of the half dried cured vanilla (average 0.98 g/l) was higher than cured vanilla 1 and cured vanilla 2 (average 0.41 g/l and 0.32 g/l). The suitable ethanol-water composition for half dried cured vanilla was 7:3 (vanillin content 1.78 g/l).

The first optimization was conducted with two variables maceration time and sucrose concentrations. The maximum vanillin content of the first optimization was 4.5 g/l at maceration time of 15.9 days and sucrose concentration of 7.3 g. The second optimization used two variables: maceration time and glycerol concentrations. The maximum vanillin content of the second optimization was 3.8 g/l at maceration time of 22 days and glycerol concentration 19.9 ml. The third optimization process used three variables: maceration time, sucrose concentrations and glycerol concentrations. The maximum vanillin content of the third optimization was 3.4 g/l at maceration time of 12 days sucrose concentration of 7 g, and glycerol concentration 4.7 ml. The characteristic of vanilla extract resulted from half dried cured vanilla maceration were vanillin content (3.4-4.5 g/l), total acid (380-410 ml 0.1 N NaOH/l), total ash (1.3-3.4 g/l), total soluble ash (0.8-2.9 g/l), alkalinity of total ash (462.6-536.7), alkalinity of soluble ash (139.1-216.5), and lead number (4.5-4.6).

Key words : *Vanilla planifolia*, Optimization, vanilla ekstrak

PENDAHULUAN

Vanili (*Vanilla planifolia* Andrews) merupakan tanaman yang memiliki nilai ekonomis tinggi. Luas areal perkebunan vanili di Indonesia pada tahun 2003 adalah 15.922 ha dengan jumlah produksi 2.375 ton (Departemen Pertanian, 2004). Luas perkebunan vanili bertambah 781 ha per tahun dan produktifitas meningkat rata-rata sebesar 99,6 ton per tahun (Sajuti et al., 2002). Harga vanili basah diperdagangkan pada kisaran Rp 80.000-300.000 per kilogram pada bulan Februari 2005. Harga vanili kering ditingkat pedagang pengumpul pada bulan Maret 2005 adalah Rp 1.400.000 per kilogram. Sedangkan harga ekstrak vanili pada bulan November 2005 adalah US\$ 30-60 per galon. Harga ekstrak vanili alami memang jauh lebih mahal dibandingkan dengan vanili sintetik yang hanya US\$ 10-15 per galon (Schultz, 2005). Namun demikian, menurut Dignum (2002),

penggunaan vanili sintetik tidak dapat menggantikan ekstrak alami karena ekstrak vanili alami memiliki lebih dari 100 komponen volatil yang membuat flavor ekstraknya sangat kompleks.

Modifikasi proses kuring dengan perlakuan perendaman buah segar dalam butanol 0,3 M dan sistein 0,001 M selama 2 jam menghasilkan aktivitas enzim, kadar vanillin dan kadar gula yang lebih tinggi dibandingkan Metode Balitro II. Kadar vanillin tertinggi terjadi pada pengeringan hari ke-5 (2,8%, standar 1,2%) dengan kadar air sekitar 70% (Setyaningsih, 2006)

Pada penelitian ini, vanili kering hasil modifikasi proses kuring diolah menjadi ekstrak vanili dengan metode maserasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan cara maserasi, jenis vanili yang memiliki kadar vanillin tertinggi, komposisi pelarut (etanol :air) yang sesuai, variabel yang mampu mengoptimalkan kadar vanillin ekstrak dan karakteristik ekstrak vanili setengah kering.

METODOLOGI

Bahan dan alat

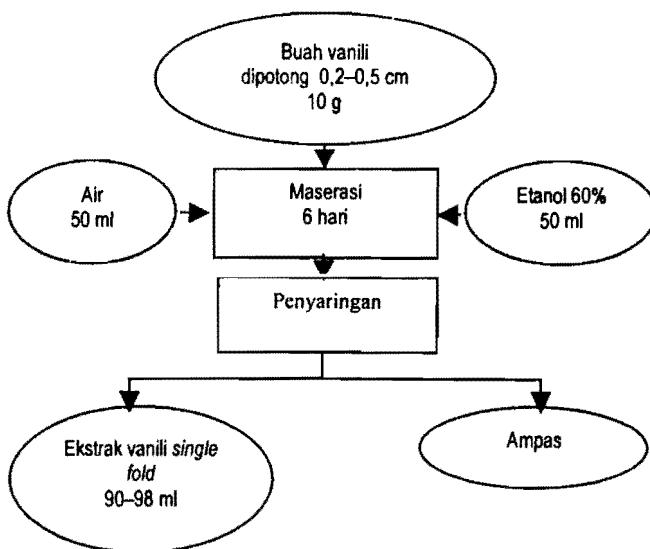
Bahan baku yang digunakan adalah buah vanili segar (*Vanilla planifolia* Andrews) yang berumur 6-8 bulan. Buah tersebut diperoleh dari Sulawesi dan Lampung. Bahan kimia yang digunakan adalah larutan butanol 0,3 M dan sistein 0,001 M, gliserin murni 96%, larutan gliserin 48%, sukrosa, vanillin standar, NaOH 0,1 N, HCl 0,1 N, Na₂EDTA 0,025N, NaCH₃COO 0,1 N, CH₃COOH 0,1 N, Pb(CH₃COO)₂, *xylenol orange*, indikator PP, indikator *methyl orange*, etanol p.a, etanol teknis 60%, metanol p.a, air bebas ion HPLC grade, dan asam asetat glasial p.a.

Bak perendam, rak penirisan, kain hitam, kotak peram yang dilengkapi lampu putih 18 watt, termometer, *waterbath*, oven, pipet 200 µl, pipet 1000 µl, pipet 10 ml, spektrofotometer (Shimadzu), HPLC, GC-MS, pH meter, neraca analitik, *millipore* 0,45 µm, cawan aluminium, cawan porselin, tanur, destilasi alkohol, desikator, *filter flask*, pompa vakum, buret, pisau, botol 100 ml, jar dan peralatan gelas.

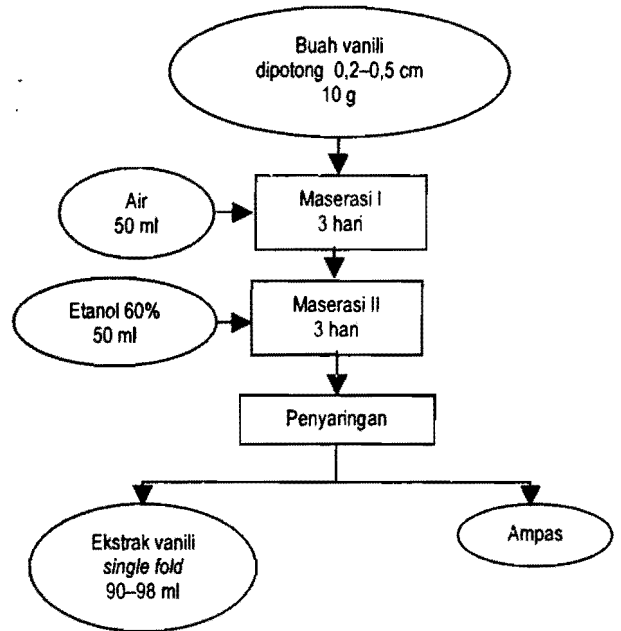
Metode

Penelitian pendahuluan

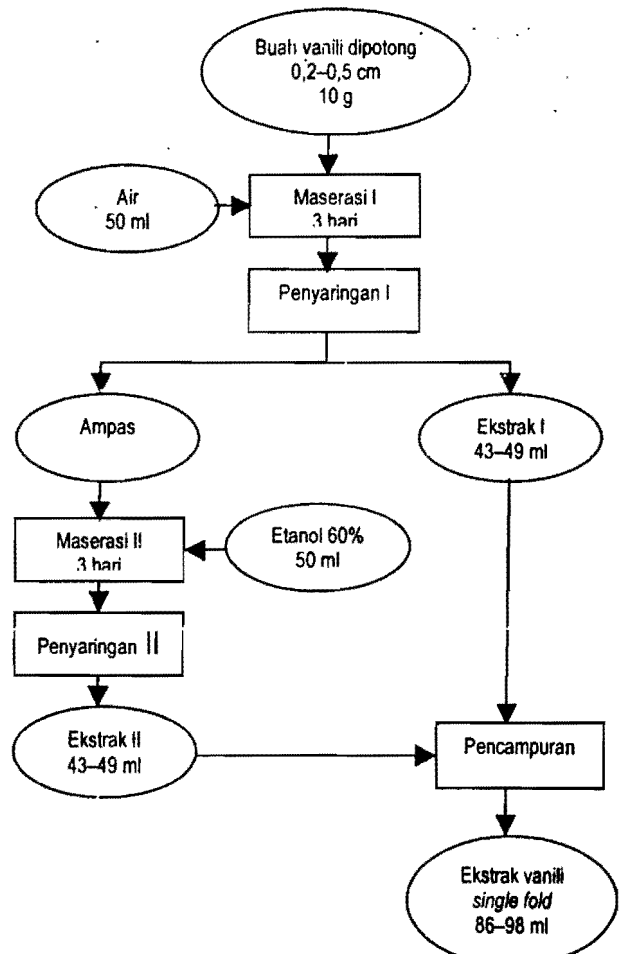
Pada penelitian pendahuluan dilakukan pemilihan cara maserasi yaitu maserasi satu tahap (Gambar 1), maserasi dua tahap dengan satu kali penyaringan (Gambar 2) dan maserasi dua tahap dengan dua kali penyaringan (Gambar 3). Kemudian dilanjutkan dengan pemilihan jenis bahan yang akan digunakan pada proses optimasi yaitu vanili setengah kering, vanili kering 1, dan vanili kering 2 serta pemilihan komposisi pelarut (etanol : air).



Gambar 1. Maserasi satu tahap



Gambar 2. Maserasi 2 tahap 1 kali penyaringan



Gambar 3. Maserasi dua tahap dengan dua kali penyaringan

Penelitian utama

Penelitian utama adalah mencari variabel optimum (waktu maserasi, sukrosa, dan gliserin) yang dapat memaksimalkan kadar vanillin dalam ekstrak vanili *single fold*. Pencarian variabel optimum ini menggunakan metode response surface dengan rancangan percobaan 2² faktorial dan 2³ faktorial. Variabel pada proses optimasi satu adalah waktu maserasi dan konsentrasi sukrosa. Variabel proses optimasi dua adalah waktu maserasi dan gliserin. Variabel pada proses optimasi tiga adalah waktu maserasi, sukrosa dan gliserin. Setiap variabel divariasikan pada dua level yaitu level rendah (-1), dan level tinggi (+1). Interval variabel dapat dilihat pada Tabel 1, Tabel 2, dan Tabel 3.

Tabel 1. Variabel independen yang digunakan dalam model statistik 1

Variabel	Kode	Optimasi maserasi dengan penambahan sukrosa		
		Rendah (-1)	Sedang (0)	Tinggi (+1)
Waktu (hari)	X ₁	7	14	21
Sukrosa (g)	X ₂	3,5	7	10,5

Tabel 2. Variabel independen yang digunakan dalam model statistik 2

Variabel	Kode	Optimasi maserasi dengan penambahan gliserin		
		Rendah (-1)	Sedang (0)	Tinggi (+1)
Waktu (hari)	X ₁	7	14	21
Gliserin 48% (ml)	X ₂	7	14	21

Tabel 3. Variabel independen yang digunakan dalam model statistik 3

Variabel	Kode	Optimasi maserasi dengan penambahan sukrosa dan gliserin		
		Rendah (-1)	Sedang (0)	Tinggi (+1)
Waktu (hari)	X ₁	8	12	16
Sukrosa (g)	X ₂	4	7	10
Gliserin 99.6% (ml)	X ₃	2	4	6

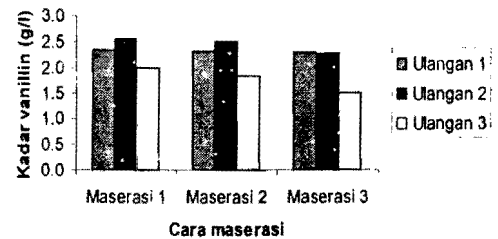
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian pendahuluan

Penentuan cara maserasi

Tahap pertama adalah mencari cara maserasi yang menghasilkan ekstrak dengan kadar vanillin tinggi. Tiga cara maserasi yang dipilih adalah maserasi satu tahap, maserasi dua tahap dengan satu kali penyaringan dan maserasi dua tahap dengan dua kali penyaringan. Maserasi dilakukan pada suhu ruang untuk mencegah penguapan pelarut. Menurut Kenichi dan Masanori

(1990), maserasi lebih baik dilakukan pada suhu 20-30°C. Grafik perbandingan kadar vanillin hasil ketiga cara maserasi di atas dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Perbandingan kadar vanillin tiga cara maserasi.

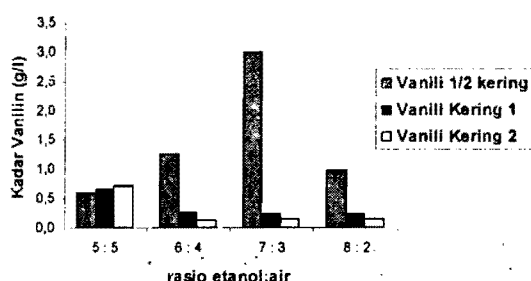
Berdasarkan Gambar 4 diketahui bahwa, cara maserasi satu tahap mampu mengekstrak vanillin lebih tinggi (rata-rata 2,3 g/l) dibandingkan cara maserasi dua tahap dengan satu kali penyaringan (rata-rata 2,2 g/l) dan cara maserasi dua tahap dengan dua kali penyaringan (rata-rata 2,0 g/l). Maserasi satu tahap mampu mengekstrak vanillin lebih banyak dibandingkan maserasi dua tahap karena pada maserasi satu tahap etanol dan air ditambahkan secara bersama-sama. Dengan cara ini, penetrasi pelarut ke dalam bahan akan berjalan sempurna. Kelebihan lain maserasi satu tahap adalah mampu menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan maserasi dua tahap karena pada maserasi satu tahap penyaringan dilakukan satu kali. Volume ekstrak akan berpengaruh terhadap perhitungan kadar vanillin yang dinyatakan dalam µg/g berat kering. Volume ekstrak berbanding lurus dengan kadar vanillin. Maserasi satu tahap juga mampu mencegah pertumbuhan jamur pada saat proses maserasi. Di lingkungan yang kurang bersih, jamur dapat tumbuh pada saat maserasi dengan pelarut 100% air. Jamur ini menimbulkan aroma buah busuk dan menyebabkan tidak lerekraknya vanillin. Berdasarkan kelebihan tersebut, cara maserasi satu tahap akan digunakan pada penelitian utama.

Penentuan jenis bahan dan komposisi pelarut

Tahap kedua penelitian pendahuluan adalah memilih jenis bahan dan komposisi pelarut (etanol : air). Jenis bahan yang dimaksud adalah vanili setengah kering, vanili kering 1 dan vanili kering 2. Vanili setengah kering adalah vanili yang diperoleh dari hasil pengeringan hari ke-5 (pengeringan pada suhu 40°C, tiga jam per hari selama lima hari). Vanili setengah kering memiliki kadar air sekitar 70%, berwarna coklat mengkilat, berminyak, polong penuh berisi, tidak lentur, aroma khas vanili dan sedikit aroma buah segar, bentuk polong utuh, panjang antara 12-20 cm. Vanili kering 1 adalah vanili yang diperoleh setelah proses pengeringan selama 10 hari (pengeringan lima hari pertama pada suhu 40°C selama tiga jam per hari dan pengeringan lima hari kedua pada suhu 60°C selama tiga jam per hari). Vanili kering 1 memiliki kadar air sekitar 25%,

berwarna hitam mengkilat, berminyak, lentur, aroma khas vanili, bentuk polong utuh, penuh, berisi, dan panjang antara 12-19 cm. Vanili kering 2 adalah vanili kering yang diperoleh dari hasil pengeringan selama 7-8 hari (pengeringan lima hari pertama pada suhu 40°C selama tiga jam per hari dan pengeringan kedua pada suhu 60°C, enam jam per hari selama 2-3 hari). Jenis bahan ketiga ini memiliki kadar air 18-20%, berwarna hitam mengkilat, berminyak, agak kaku, aroma khas vanili, bentuk polong utuh, berisi, dan panjang antara 12-19 cm.

Masing-masing jenis bahan dimaserasi selama enam hari pada suhu ruang dengan cara maserasi satu tahap. Komposisi pelarut (etanol : air) dicoba mulai dari 5:5, 6:4, 7:3 sampai 8:2. Grafik kadar vanillin hasil maserasi pada beberapa komposisi pelarut dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Kadar vanillin masing-masing jenis bahan

Penelitian utama

Optimasi satu

Optimasi satu adalah optimasi proses maserasi dengan penambahan sukrosa. Variabel pada optimasi ini adalah waktu maserasi dan banyaknya sukrosa yang ditambahkan. Matrik orde pertama optimasi satu dapat dilihat pada Tabel 4. Analisis varian orde pertama dapat dilihat pada Tabel 5.

Model orde pertama dari variabel kode untuk optimasi satu adalah sebagai berikut :

$$Y = 1504,25 + 78,0185 X_1 - 30,2660 X_2$$

Berdasarkan analisis varian diketahui bahwa, efek kuadrat lebih signifikan dibanding efek linier dengan F hitung sebesar 308,9. Hal ini mengindikasikan bahwa interval variabel yang dipilih telah mendekati titik optimum. Empat titik observasi (*central composite design*) perlu ditambahkan untuk mendapatkan lokasi titik optimum yang tepat. Matrik orde kedua proses optimasi satu dapat dilihat pada Tabel 6. Grafik permukaan respon dan kontur hasil dari optimasi satu dapat dilihat di Gambar 6 dan 7.

Tabel 4. Matrik orde pertama proses optimasi satu

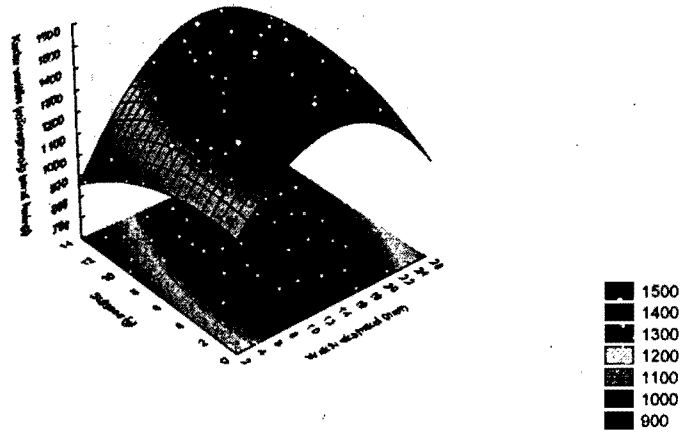
Variabel kode		Variabel asli		Respon	
X1 (hari)	X2 (g)	X1 (hari)	X2 (g)	Y (µg/g)	Y (g/l)
-1	-1	7	3,5	1343,725	3,977
1	-1	21	3,5	1431,160	4,236
-1	1	7	10,5	1214,591	3,595
1	1	21	10,5	1439,230	4,259
0	0	14	7	1491,691	4,415
0	0	14	7	1509,178	4,466
0	0	14	7	1511,868	4,474

Tabel 5. Analisis varian untuk orde pertama proses optimasi satu

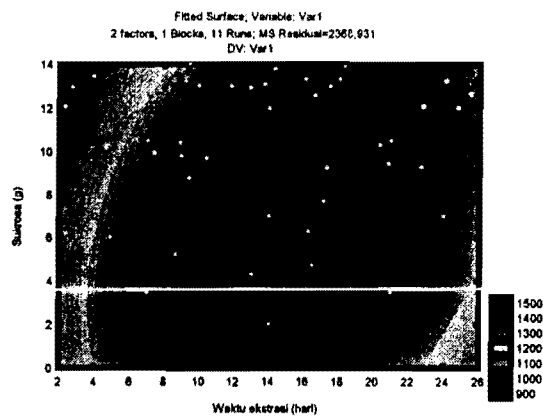
Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	Total Regres	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	28012	0,4000	116,7	0,0085
Quadratic	1	37079	0,5294	308,9	0,0032
Crossproduct	1	4706,234404	0,0672	308,9	0,0246
Total Regress	4	69797	0,9966	145,4	0,0068

Tabel 6. Matrik orde dua proses optimasi satu

Variabel kode		Variabel asli		Respon	
X1 (hari)	X2 (g)	X1 (hari)	X2 (g)	Y ($\mu\text{g/g}$)	Y (g/l)
-1	-1	7	3,5	1343,725	3,977
1	-1	21	3,5	1431,160	4,236
-1	1	7	10,5	1214,591	3,595
1	1	21	10,5	1439,230	4,259
0	0	14	7	1491,691	4,415
0	0	14	7	1509,178	4,466
0	0	14	7	1511,868	4,474
1.414	0	24	7	1318,167	3,901
-1.414	0	4	7	1258,981	3,726
0	1,414	14	12	1483,620	4,391
0	-1,414	14	2	1441,921	4,267



Gambar 6. Surface respon optimasi 1



Gambar 7. Kontur optimasi 1

Berdasarkan analisis varian (ANOVA) orde dua, Pengaruh kuadrat signifikan pada tingkat kepercayaan 95% dengan nilai signifikan sebesar 99,62%. X_1 dan X_1^2 signifikan dengan nilai signifikan sebesar 99,60% dan 99,86%. X_2 dan interaksi antara

X_1X_2 tidak signifikan dengan nilai signifikan sebesar 86,75% dan 89,12%.

Dengan memperhatikan bentuk kontur yang memusat, dapat diketahui bahwa titik optimum sudah dicapai. Berdasarkan hasil *running* program SAS dapat diketahui bahwa, titik optimum diperoleh dari respon

waktu maserasi 15,9 hari dan sukrosa sebanyak 7,3 g dengan kadar vanillin rata-rata yang terekstrak sebanyak 1509,08 mikrogram/g berat kering atau sama dengan 4,5 g/l. Kadar vanillin ekstrak hasil optimasi satu 1,5 kali lebih tinggi dibandingkan kadar vanillin ekstrak dari buah hasil pengeringan Balitro II tanpa penambahan sukrosa (Kontrol). Persamaan matematis untuk optimasi satu adalah :

$$Y = 1014,0697 + 60,4666X_1 + 7,1871X_2 - 2,2591X_1^2 + 1,4000X_1X_2 - 2,0687X_2^2$$

keterangan:

Y = kadar vanillin (mikrogram/ml)

X₁ = waktu maserasi (hari)

X₂ = sukrosa (g).

R² = 89,04%

Optimasi dua

Variabel pada optimasi dua adalah waktu maserasi dan banyaknya larutan gliserin 48% yang ditambahkan. Matrik orde pertama proses optimasi dua dapat dilihat pada Tabel 7. Analisis varian orde pertama dapat dilihat pada Tabel 8.

Berdasarkan analisis varian, diketahui bahwa efek linier lebih signifikan dibandingkan efek kuadratik dengan nilai F hitung sebesar 1266,5. Hal ini mengindikasikan bahwa interval variabel yang dipilih belum mendekati titik optimum. Matrik orde kedua proses optimasi dua dapat dilihat pada Tabel 9. Grafik permukaan respon dan kontur optimasi dua dapat dilihat pada Gambar 8 dan 9.

Tabel 7. Matrik orde pertama proses optimasi dua

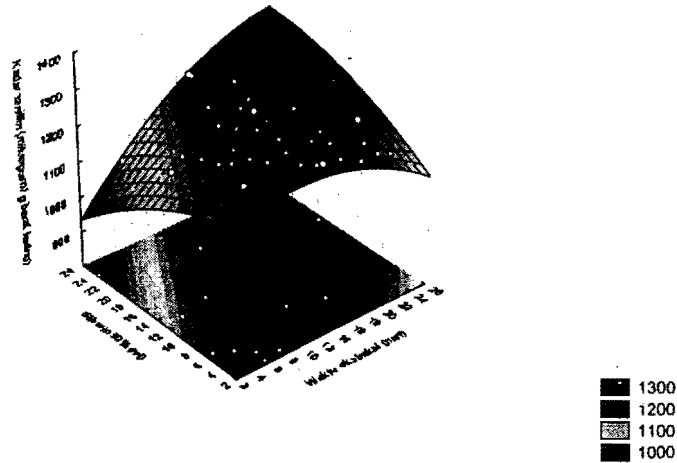
Variabel kode		Variabel asli		Respon	
X1 (ml)	X2 (hari)	X1 (ml)	X2 (hari)	Y (µg/g)	Y (g/l)
-1	-1	7	7	1215,936	3,599
-1	1	7	21	1254,945	3,714
1	-1	21	7	1074,696	3,181
1	1	21	21	1280,503	3,790
0	0	14	14	1257,636	3,722
0	0	14	14	1260,326	3,730
0	0	14	14	1263,016	3,738

Tabel 8. Analisis varian orde pertama proses optimasi dua

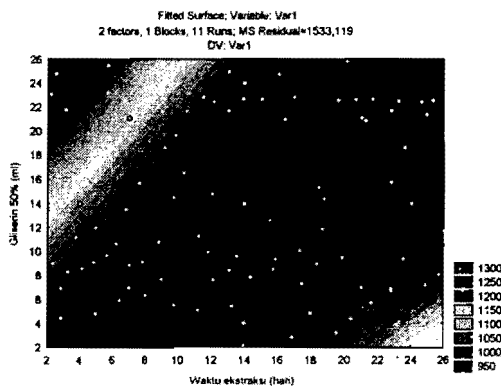
Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	Total Regres	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	18329	0,6057	1266,5	0,0008
Quadratic	1	4963,003947	0,1640	685,9	0,0015
Crossproduct	1	6955,393201	0,2298	961,2	0,0010
Total Regress	4	30248	0,9995	1045,0	0,0010

Tabel 9. Matrik orde dua proses optimasi dua

Variabel kode		Variabel asli		Respon	
X1 (ml)	X2 (hari)	X1 (ml)	X2 (hari)	Y (µg/g)	Y (g/l)
-1	-1	7	7	1215,936	3,599
-1	1	7	21	1254,945	3,714
1	-1	21	7	1074,696	3,181
1	1	21	21	1280,503	3,790
0	0	14	14	1257,636	3,722
0	0	14	14	1260,326	3,730
0	0	14	14	1263,016	3,738
0	1,414	14	24	1245,529	3,686
0	-1,414	14	4	1197,104	3,543
1,414	0	24	14	1250,910	3,702
-1,414	0	4	14	1240,149	3,670



Gambar 8. Surface optimasi 2



Gambar 9. Kontur optimasi 2

Berdasarkan hasil analisis varian (ANOVA) orde kedua, setelah ditambah titik CCD, pengaruh linier tetap lebih signifikan dibanding pengaruh kuadratik dengan nilai signifikan 96,03%. Model linier yang diperoleh dari variabel kode adalah sebagai berikut :

$$Y = 1260,33 - 28,9205X_1 + 61,2040X_2$$

Dimana :

Y = kadar vanillin (mikrogram/ml)

X₁ = gliserin (ml)

X₂ = waktu maserasi (hari)

R² = 99,95%

Dari persamaan linier diketahui bahwa gliserin memberikan pengaruh negatif terhadap respon. Perlu dilakukan metode *steepest ascent* untuk mencari selang interval X₁ dan X₂ yang mendekati titik optimum. Dari bentuk kontur, dapat diketahui bahwa titik optimum belum dicapai. Nilai maksimum didapat dari hasil respon waktu maserasi 22,01 hari dan gliserin sebanyak 19,98 ml dengan nilai kadar vanillin sebesar 1290,93 mikrogram/g berat kering atau sama dengan 3,79 g/l. Nilai ini 1,2 kali lebih tinggi dibandingkan kadar vanillin ekstrak dari buah vanili hasil pengeringan Balitro II tanpa penambahan gliserin (kontrol). Titik optimum

kemungkinan besar dapat dicapai jika waktu maserasi ditambah dan konsentrasi gliserin dikurangi.

Optimasi tiga

Optimasi tiga adalah proses optimasi maserasi dengan tiga variabel yaitu waktu maserasi, konsentrasi sukrosa dan konsentrasi gliserin. Level tinggi variabel sukrosa dan gliserin ditentukan berdasarkan tinjauan pustaka (Purseglove et al., 1981). Gliserin digunakan dalam bentuk larutan murni 99,6%. Kadar vanillin diukur dengan menggunakan HPLC. Matrik orde pertama optimasi tiga dapat dilihat pada Tabel 10. Analisis Varian orde pertama dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 10. Matrik orde pertama proses optimasi tiga

Variabel Kode			Variabel Asli			Respon (ppm)	Respon (g/l)
X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃		
-1	-1	-1	8	4	2	2621	2,621
1	-1	-1	16	4	2	3226	3,226
-1	1	-1	8	10	2	3002	3,002
1	1	-1	16	10	2	2981	2,981
-1	-1	1	8	4	6	3098	3,098
1	-1	1	16	4	6	3084	3,084
-1	1	1	8	10	6	3219	3,219
1	1	1	16	10	6	2858	2,858
0	0	0	12	7	4	3351	3,351
0	0	0	12	7	4	3343	3,343
0	0	0	12	7	4	3597	3,597

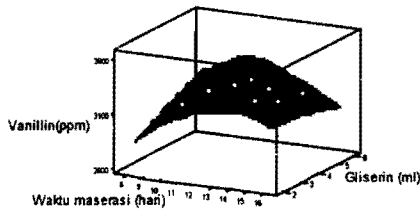
Berdasarkan analisis varian di atas, diketahui bahwa pengaruh kuadratik signifikan dengan nilai F hitung sebesar 22,37 sedangkan pengaruh linier tidak signifikan. Hal ini mengindikasikan bahwa variabel yang dipilih telah mendekati titik optimum. Grafik *surface* dan kontur dapat dilihat pada Gambar 10, 11 dan 12. Model orde pertama dari variabel kode adalah sebagai berikut,

$$Y = 3430,33 + 26,1250X_1 + 3,87500X_2 + 53,6250X_3 - 419,208X_1X_1 - 121,625X_1X_2$$

$$- 119,875X_1X_3 - 30,1250X_2X_3$$

Dimana :

- Y = kadar vanillin (ppm)
- X₁ = waktu maserasi (hari)
- X₂ = sukrosa (g)
- X₃ = gliserin murni 96% (ml)
- R² = 92,7%



Gambar 10. Surface optimasi tiga Dengan bantuan Minitab diketahui bahwa titik variabel optimum berada pada waktu maserasi 12

hari, sukrosa 7 g, dan gliserin 4,7 ml dengan kadar vanillin yang terekstrak sebanyak 3449,59 ppm atau sama dengan 3,4 g/l. Variabel sukrosa optimum pada konsentrasi 7% (b/v). Hal ini sesuai dengan hasil optimasi satu. Variabel gliserin optimum pada konsentrasi 4,7% (v/v). Hal ini juga mendukung hasil optimasi dua. Penambahan gliserin yang terlalu banyak dapat memperlambat proses ekstraksi. Penambahan sukrosa dan gliserin secara bersama-sama dalam jumlah yang tepat dapat mempercepat waktu ekstraksi

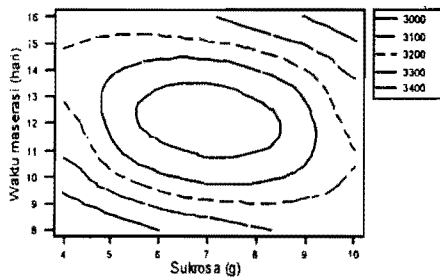
Karakteristik ekstrak buah setengah kering

Total asam

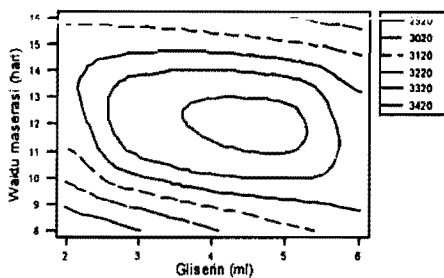
Adanya asam organik dapat digunakan untuk identifikasi keaslian ekstrak vanili karena asam-asam organik terbentuk selama proses curing (Herman et al., 1990). Menurut Purseglove et al., (1981), ekstrak vanili sedikitnya mengandung 20 jenis asam organik.

Tabel 11. Analisis varian orde pertama proses optimasi tiga

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression	7	652570	652570	93224	5.44	0.096
Linear	3	28585	28585	9528	0.56	0.679
Square	1	383423	383423	383423	22.37	0.018
Interaction	3	240561	240561	80187	4.68	0.119
Residual Error	3	51429	51429	17143		
Lack-of-Fit	1	9730	9730	9730	0.47	0.565
Pure Error	2	41699	41699	20849		
Total	10	703999				



Gambar 11. Kontur optimasi tiga kadar sukrosa



Gambar 12. Kontur optimasi tiga kadar gliserin

Berdasarkan hasil analisis GC-MS, asam asetat adalah asam yang paling dominan. Ekstrak vanili buah vanili setengah kering memiliki total asam 380 - 410 ml 0,1 N NaOH/l. Nilai ini sesuai dengan standar FDA.

Lead number

Prinsip analisis lead number adalah asam organik dari vanili diendapkan dengan Pb(CH₃COO)₂, dan kelebihan Pb ditentukan dengan titrasi chelometric dengan Na₂EDTA. Pembentukan kelat logam dengan EDTA dapat ditulis secara umum sebagai berikut:



Lead number sering digunakan untuk menentukan asam organik dalam ekstrak secara cepat. Lead number ekstrak dari buah vanili setengah kering adalah 4,5 - 4,6. Nilai lead number ini memenuhi persyaratan FDA yaitu sebesar 4,0 - 7,4. Kandungan senyawa organik yang rendah mengindikasikan adanya pencampuran.

Abu total

Abu berasal dari mineral-mineral yang dikandung dalam buah vanili seperti kalium, kalsium, klor, dan magnesium. Kandungan mineral pada buah vanili segar sekitar 0,02%. Kadar abu total ekstrak dari buah vanili setengah kering adalah 1,33 - 3,34 g/l.

Syarat minimal abu total yang ditetapkan oleh FDA adalah sebesar 2,20 – 4,32 g/l. Ekstrak vanili yang disaring dua kali memiliki kadar abu sebesar 1,33 g/l. Nilai ini lebih rendah dari persyarat FDA. Namun demikian, nilai ini 12 kali lebih besar jika dibandingkan dengan kadar abu ekstrak vanili sintetis (0,1 g/l). Nilai abu total sangat penting untuk identifikasi kemurniaan ekstrak vanili. Vanili sintetis biasanya hampir bebas dari abu.

Abu terlarut

Abu terlarut dihitung berdasarkan banyaknya abu yang larut dalam air panas. Abu terlarut ekstrak dari buah vanili setengah kering adalah 0,8 - 2,9 g/l. Persyaratan FDA untuk abu terlarut adalah sebesar 1,79 – 3,57 g/l. Ekstrak yang memiliki nilai abu total rendah juga akan memiliki nilai abu terlarut rendah. Menurut Reineccius (1994) lebih dari 80% abu total larut di dalam air.

Alkalinitas abu terlarut

Alkalinitas abu dinyatakan dalam ml 0,1 N asam/l. Nilai alkalinitas abu terlarut ekstrak dari buah

setengah kering adalah 139,1 - 216,5 ml 0.1 N HCl/l. Kedua nilai ini lebih kecil dari yang disyaratkan oleh FDA yaitu 220–400 ml 0,1 N asam/l.

Alkalinitas abu total

Alkalinitas abu total dihitung berdasarkan alkalinitas abu terlarut dan alkalinitas abu tidak terlarut. Nilai alkalinitas abu total ekstrak dari buah vanili setengah kering adalah 462,6 – 536,7 ml 0,1 N HCl/l.

Perbandingan karakteristik ekstrak dari buah setengah kering, kontrol (ekstrak dari buah kering yang dikeringkan dengan metode Balitro II tanpa penambahan sukrosa dan gliserin), dan standar FDA dapat dilihat pada Tabel 12.

Perlu dikaji penambahan waktu maserasi dan penurunan konsentrasi gliserol untuk mendapatkan kadar vanillin yang lebih tinggi. Juga perlu diteliti teknik-teknik untuk meningkatkan kadar vanillin ekstrak menggunakan bantuan gelombang mikro atau ultrasonik. Karakteristik ekstrak dari buah vanili setengah kering adalah kadar vanillin 3,4 - 4,5 g/l, total asam 380–410 ml 0,1 N NaOH/l, kadar abu 1,33 – 3,42 g/l, abu terlarut 0,81–2,91 g/l, alkalinitas abu total 462,6 - 536,7 ml 0,1 N

Tabel 12. Perbandingan karakteristik ekstrak

Karakteristik	Ekstrak vanili 1/2 kering	Kontrol	Standar FDA
Kadar vanilli (g/l)	3,7 - 4,5	3,2	1,1 - 3,5
Abu (g/l)	1,3 - 3,4	3,8	2,20 - 4,32
Abu terlarut (g/l)	0,8 - 2,9	3,2	1,79 - 3,57
Alkalinitas abu total (ml 0.1 N asam/l)	462,6-536,7	487,3	300 - 540
Alkalinitas abu terlarut (ml 0.1 N asam/l)	139,1 -216,5	277,1	220 - 400
Total asam (ml 0.1 NaOH/l)	380 - 410	600	300 - 520
Lead number	4,5 - 4,6	4,9	4,0 - 7,4

KESIMPULAN DAN SARAN

Cara maserasi satu tahap mampu mengekstrak vanillin (2,3 g/l) lebih tinggi dibandingkan dua tahap (2,2 g/l). Kadar vanillin buah vanili setengah kering (0,98 g/l) lebih tinggi dibandingkan kadar vanillin buah vanili kering 1 dan 2 (0,41 g/l dan 0,32 g/l). Komposisi etanol : air yang tepat untuk maserasi buah vanili setengah kering adalah 7:3 (kadar vanillin 1,78 g/l).

Proses optimasi satu telah mencapai optimum. Variabel yang mengoptimumkan kadar vanillin adalah waktu maserasi (15,9 hari) dan sukrosa (7,3 g) dengan kadar vanillin 1509,08 mikrog/g bk (4,5 g/l). Proses optimasi dua belum mencapai titik optimum. Kadar vanillin maksimal sebesar 1290,93 mikrog/g bk (3,8 g/l) dicapai dari variabel waktu ekstraksi 22 hari dan gliserin 48% sebanyak 19,9 ml. Optimasi tiga sudah mencapai titik optimum. Variabel yang mengoptimumkan kadar vanillin adalah waktu maserasi (12 hari), sukrosa (7 g) dan gliserin 96% (4,3 ml) dengan kadar vanillin ekstrak sebesar 3,4 g/l.

HCl/l, alkalinitas abu terlarut 139,1–216,5 ml 0,1 N HCl/l, dan lead number 4,5 -4,9. Sebagian besar nilai tersebut memenuhi syarat ekstrak vanili oleh FDA.

DAFTAR PUSTAKA

Departemen Pertanian. 2004. Statistik Perkebunan Indonesia. Vanili. Direktorat Jendral Bina Produksi Perkebunan. Jakarta.

Dignum, M. J. W. 2002. Biochemistry of the Processing of Vanilla Beans. Thesis. Leiden University.

Herman., Suryati A., Sofiah S. dan Iskandar R. 1990. Pembuatan Curing Buah Vanili. Balitro. Bogor

Kenichi dan Masanori. 1990. Production Vanilla Extract. <http://v3.espacenet.com/txtdoc?DB>

Purseglove, J. W., Brown, Green, dan Robbins. 1981. Spices Vol 2. Longman. London. New York.

- Reineccius, G. 1994.** Source Book of Flavours. Chapman & Hall. New York. London.
- Sajuti, R., Ilham., Swastika., Suhartini., Elizabeth dan Prasetyo. 2002.** Analisis Penawaran dan Permintaan Komoditas Lada dan Vanili. Pusat Penelitian dan Pengembangan Sosial Ekonomi Pertanian. Bogor.
- Setyaningsih, D. 2006.** Peranan Aktivitas Enzim β -Glukosidase pada Pembentukan Flavor Vanilla selama Proses Kuring. Disertasi Sekolah Pasca Sarjana (SPS). IPB. Bogor.
- Schultz, M. 2005.** Vanilla: Anything but Plain. <http://www.foodproductdesign.com/current/11051INI.html>.