

## Kemajuan Terkini dalam Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari Biji-Bijian (Review)

### Recent Advances in the Extraction of Bioactive Compounds from Grains (Review)

Mahreni\*, Renung Reningtyas, Mifta Aulia Ikhsan

*Universitas Pembangunan Nasional Veteran Yogyakarta, Yogyakarta, 55283, Indonesia*

#### Artikel histori :

Diterima 6 Juni 2024  
Diterima dalam revisi 18 Juni 2024  
Diterima 8 Juli 2024  
Online 23 Juli 2024

**ABSTRAK:** Pertambahan populasi dunia dan masalah lingkungan merupakan isu yang terus berkembang dan memerlukan solusi. Pertambahan populasi dunia harus di ikuti dengan penyediaan pangan seperti karbohidrat, protein dan lemak yang mencukupi. Isu lingkungan memerlukan proses penyediaan pangan yang hijau dan berkelanjutan. Dalam makalah ini membahas proses ekstraksi hijau menggunakan enzim sebagai usaha untuk memenuhi kebutuhan pangan dengan meminimasi dampak kesehatan dan lingkungan yang disebabkan oleh penggunaan pelarut organik seperti yang digunakan di dalam ekstraksi konvensional. Bahasan meliputi review kemajuan terkini ekstraksi padat cair, keuntungan dan kelemahan ekstraksi konvensional dan ekstraksi enzimatik, dasar pemilihan enzim, dan peranan enzim dalam proses ekstraksi padat-cair. Data diperoleh dari hasil review jurnal yang membahas mengenai ekstraksi padat-cair baik ekstraksi konvensional dan ekstraksi modern saat ini yang fokus pada ekstraksi menggunakan enzim sebagai alternative untuk menggantikan pelarut organik.

**Kata Kunci:** Biji-bijian; bioaktif; ekstraksi; enzimatik; pelarut organik

**ABSTRACT:** The increase in world population and environmental problems are issues that continue to grow and require solutions. The increase in world population must be accompanied by adequate food supplies such as carbohydrates and proteins. Environmental issues require a green and sustainable food supply process. This paper discusses the green extraction process using enzymes as an effort to meet food needs by minimizing health and environmental impacts caused by the use of organic solvents such as those used in conventional extraction. The discussion includes a review of the recent advanced of solid-liquid extraction, the advantages and disadvantages of conventional extraction and enzymatic extraction, the basis for selecting enzymes, and the role of enzymes in the solid-liquid extraction process. Data were obtained from a review of journals which discuss solid-liquid extraction, both conventional extraction and modern extraction, which focuses on extraction using enzymes as an alternative to replace organic solvents.

**Keywords:** Bioactive; enzymatic; extraction; grains; organic solvent

#### 1. Pendahuluan

Tujuan review ini untuk menjelaskan mengenai perkembangan teknologi ekstraksi bahan aktif yang terkandung di dalam biji bijian. Bahan aktif yang terkandung di dalam biji bijian meliputi komponen komponen yang termasuk di dalam golongan karbohidrat, lemak, dan protein. Bahan aktif ini memiliki fungsi esensial seperti fungsi sebagai nutrisi, sebagai anti oksidan, anti inflamasi, anti uv, sebagai preservative (pengawet) dan fungsi lain yang sangat bermanfaat untuk kesehatan, sehingga banyak dibutuhkan oleh industri makanan, obat dan kosmetik seperti yang dilaporkan oleh (Nayak et al, 2024).

Ekstraksi padat cair merupakan proses yang digunakan untuk memisahkan komponen nutrisi dan komponen aktif dari bahan berbentuk padat seperti biji bijian, dedaunan atau mineral (padat) menggunakan pelarut yang sesuai. Adapun faktor faktor yang mempengaruhi efisiensi ekstraksi adalah: (1) Luas permukaan kontak antara padatan dan pelarut, (2) kesesuaian polaritas pelarut dan solute (bahan aktif/zat terlarut), (3) kelarutan solute (zat terlarut) di dalam pelarut (dipengaruhi oleh suhu dan tekanan dan sifat solute dan jenis pelarut), (4) koefisien distribusi solute di dalam pelarut, (5) perbedaan suhu didih solute dan palarut, (5) harga pelarut, (6) waktu ekstraksi, dan toksisitas pelarut dituliskan oleh (Punvichai et al, 2024).

\* Corresponding author

Email Address: mahreni@upnyk.ac.id

Polaritas pelarut memegang peranan penting di dalam ekstraksi dan dijadikan sebagai dasar di dalam memilih pelarut. Pelarut polar dapat melarutkan komponen polar dan sebaliknya. Ekstraksi padat-cair menggunakan pelarut telah lama digunakan sebagai salah satu metode ekstraksi untuk memperoleh minyak dari biji bijian seperti yang telah dilakukan oleh banyak peneliti diantaranya oleh (Zhua et al., 2024; Liu et al., 2024; Liu et al., 2023; Sorita G.D et al., 2024) mengekstrak minyak berturut turut dari biji *Camellia oleifera*, Jagung, *Sapium sebiferum*, dan biji *Macauba*. Minyak dari biji jambu (Rengga, W. D. P et al., 2019), ekstraksi minyak dari rempah rempah (Jahe) (Elvianto D.D et al., 2024) ekstraksi Pektin dari kulit pisang kapok (Ristianingsih et al., 2021) dan kulit buah Apel (Subagyo dan Achmad., 2010).

Ekstraksi menggunakan pelarut mempunyai banyak kelemahan karena pelarut yang digunakan adalah bahan bahan yang mempunyai sifat toksik sehingga dikhawatirkan akan berdampak negatif terhadap keamanan kesehatan apabila ekstrak akan dikonsumsi sebagai bahan pangan. Kelemahan yang kedua pelarut yang digunakan harus dipisahkan kembali dari bahan ekstrak memerlukan proses lanjutan yaitu distilasi pelarut yang memerlukan energi tinggi. Sebagian pelarut yang menguap akan masuk ke lingkungan dan menambah beban pencemaran lingkungan. Kelemahan lain ekstraksi menggunakan pelarut dilaporkan oleh (Deng et al, 2022) bahwa ekstraksi pelarut konvensional memiliki kelemahan yaitu efisiensi yang rendah, waktu yang lama, dan konsumsi pelarut yang besar, serta dapat berdampak negatif terhadap kualitas lipid seperti oksidasi karena waktu ekstraksi yang lama dan suhu yang tinggi. Dampak buruk terhadap lingkungan akibat teknologi ekstraksi menggunakan pelarut organik seperti n-heksana, kloroform, dan eter mengarahkan peneliti untuk mengembangkan teknologi ekstraksi baru yaitu teknologi hijau. Teknologi baru yang kini dikembangkan adalah ekstraksi enzimatis di dalam pelarut air pada suhu rendah, diakui sebagai teknologi ramah lingkungan yang ideal untuk ekstraksi minyak dari biji tanaman yang mengandung minyak (Gao et al., 2024).

Usaha untuk mengembangkan proses ekstraksi yang ramah lingkungan, tidak berdampak pada kesehatan dan ekonomis penting untuk dilakukan, salah satunya adalah usaha untuk mengikuti perkembangan proses ekstraksi terbaru. Beberapa teknologi ekstraksi yang akan dibahas di dalam makalah ini adalah ekstraksi konvensional (hanya menggunakan pelarut), ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibantu gelombang ultra sonik, ekstraksi pelarut dibantu gelombang mikro, pelarut dibantu surfaktan dan ekstraksi enzimatis dibantu gelombang ultrasonic atau gelombang mikro

Perkembangan teknologi di bidang ekstraksi didorong oleh meningkatnya permintaan dunia akan sumber daya berkelanjutan dan terbarukan, maka teknologi inovatif untuk ekstraksi bahan aktif baik yang dapat dikonsumsi maupun bahan yang tidak untuk dikonsumsi dari biomassa padat menjadi penting. Tinjauan ini menggali teknologi yang menjanjikan, memberikan gambaran ekstraksi padat-cair dengan pendekatan ramah lingkungan. Enzim memiliki

peranan yang sangat penting di dalam ekstraksi padat-cair karena enzim dapat menjadi suatu media yang dapat mempercepat proses ekstraksi dan sekaligus dapat meningkatkan rendemen ekstrak dan dapat menurunkan suhu ekstraksi. Dengan adanya enzim peranan pelarut organik dapat digantikan oleh air dan menjadikan proses ekstraksi menjadi ramah lingkungan, aman untuk kesehatan dan tidak menghasilkan limbah pelarut. Di dalam praktek ekstraksi menggunakan bantuan enzim masih memerlukan bantuan ultrasonik dan gelombang mikro secara simultan untuk mengisolasi senyawa bioaktif dari biomassa dengan tujuan untuk meningkatkan efisiensi dan mempertahankan aktivitas bahan aktif (Wang, et al 2024).

Laporan penelitian yang telah dilakukan oleh Amulya & Rayees ul Islam., (2023). Ekstraksi dengan bantuan enzim telah terbukti meningkatkan hasil dan kualitas antosianin yang diekstraksi dari bahan tanaman, termasuk buah-buahan dan sayuran. Dibandingkan dengan metode ekstraksi tradisional, seperti ekstraksi pelarut, ekstraksi dengan bantuan enzim memiliki beberapa keunggulan, termasuk pengurangan waktu ekstraksi, konsumsi pelarut yang lebih rendah, dan peningkatan kualitas senyawa yang diekstraksi.

Tinjauan ini mengeksplorasi mengenai perkembangan metode ekstraksi enzimatis dengan bantuan getaran ultrasonik dan gelombang mikro. Bahasan lebih dalam mengenai efek sinergis antara ekstraksi enzimatis dengan bantuan energi ultrasonik dan gelombang mikro dengan tujuan untuk mengoptimalkan hasil ekstraksi, meningkatkan selektivitas bahan ekstrak, dan mengurangi konsumsi energi secara keseluruhan. Selain itu, sifat enzim sebagai biokatalis selaras dengan prinsip kimia ramah lingkungan, sehingga memposisikannya sebagai alternatif berkelanjutan dibandingkan pelarut organik (Guo et al., 2024; Petcharat et al., 2024; Yang et al., 2024; Khaled et al., 2024; Naghdi et al., 2023; Hahna et al., 2012; Wang et al., 2023; Lolli et al., 2023; Jiao et al., 2024; Wang et al., 2024).

## 2. Perkembangan Teknologi Ekstraksi

### 2.1. Ekstraksi Menggunakan Pelarut Organik

Ekstraksi menggunakan pelarut organik telah dilakukan di dalam laporan penelitian (Kaufmann et al., 2024). Ekstraksi dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan senyawa Aldehida aromatik vanillin, Syringaldehyde, dan p-hidroksibenzaldehida dari hasil hidrolisis lignin dari kayu. Pelarut yang digunakan untuk memisahkan Aldehyde dikelompokkan berdasarkan golongan Ester, Eter, Terpen, dan Terpenoid, dan 1-Oktanol untuk memisahkan aldehida aromatik vanilin, p-hidroksibenzaldehida, dan siringaldehyde dari larutan asam. Ekstraksi pelarut dilakukan pada suhu 25 dan 50° C. Dari beberapa jenis pelarut yang digunakan pelarut dengan kinerja terbaik diberikan oleh Ester Butil Asetat dengan efisiensi ekstraksi masing-masing sebesar 96,53 % untuk p-hidroksibenzaldehida, dan > 95 % dan > 93 % untuk vanilin dan syringaldehyde. Ekstraksi menggunakan pelarut organik juga telah dilakukan untuk memisahkan senyawa aktif dari fase padat dengan efisiensi tinggi yaitu pemungutan Pektin dari kulit dan ampas apel (Subagyo & Achmad, 2010), pemungutan pektin dari kulit buah coklat (Susilowati et al., 2013), dan ekstraksi minyak

atsiri jahe (*Zingiber officinale*) dengan proses distilasi kukus (Elvianto et al., 2024). Proses ekstraksi menggunakan pelarut organik memerlukan proses lanjutan yaitu memisahkan pelarut dari hasil ekstrak atau distilasi pelarut. Pada proses distilasi memerlukan energi dan suhu yang tinggi diatas suhu campuran (pelarut-hasil ekstrak). Kondisi suhu yang tinggi (di atas 80°C) akan merusak komponen aktif terutama komponen aktif dari bahan alam sehingga dapat menurunkan aktifitas seperti aktifitas aktioksidan dan aktifitas sebagai obat untuk senyawa fenolik.

Teknologi ekstraksi terus berkembang dengan memadukan potensi surfaktan ke dalam proses ekstraksi sebagai zat yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Ekstraksi pelarut menggunakan bantuan surfaktan telah dilakukan oleh (Yadav et al. 2023) sebagai solusi ekstraksi yang lebih efisien dan ekonomis dibandingkan dengan ekstraksi menggunakan pelarut organik tanpa bantuan surfaktan. Perkembangan selanjutnya ekstraksi dengan bantuan surfaktan dan gelombang ultrasonik telah dilaporkan oleh (Delgado et al, 2023) untuk mengekstrak pektin dari *pulp* gula buah bit. Dalam penelitian ini menggunakan surfaktan sintesis PEG 4000 dan surfaktan alami Saponin. Ekstraksi menggunakan bantuan surfaktan terus dikembangkan menggunakan surfaktan non ionik oleh (Sazdani et al, 2023) untuk memisahkan polifenol dari *pomace* anggur merah. Dalam hal ini surfaktan hanya sebagai bahan tambahan yang dapat mempercepat ekstraksi karena surfaktan sifatnya amfipilik. Sifat amfipilik ini dapat mendisintegrasikan dinding sel bahan padat (biomassa) sehingga memudahkan pelarut kontak dengan bahan yang akan diekstrak.

## 2.2. Ekstraksi Menggunakan Surfaktan dalam Pelarut Air

Metode ekstraksi berbasis surfaktan adalah pendekatan baru untuk ekstraksi komponen aktif seperti polifenol dari matriks padat yang efektif. Pemilihan jenis surfaktan sangat penting karena surfaktan dengan basis petroleum mempunyai toksisitas terhadap manusia. Oleh karena itu teknik ekstraksi dengan bantuan surfaktan telah dilakukan oleh para peneliti diantaranya menggunakan surfaktan non ionik berbasis bahan alam seperti surfaktan berbasis glukosa/protein yang tidak beracun. Karena biokompatibilitas, stabilitas, dan toksisitasnya yang rendah, surfaktan non-ionik memainkan peran penting dalam industri farmasi, kosmetik, dan makanan. Sejumlah surfaktan non-ionik telah digunakan untuk ekstraksi dan menunjukkan efisiensi yang lebih besar dalam ekstraksi polifenol dari bahan tanaman dibandingkan dengan ekstraksi dengan pelarut air dan pelarut organik (Krstonošić et al, 2024).

Surfaktan non ionik yang telah digunakan sebagai media ekstraksi adalah Triton X-114 (TX-114) dan Genapol X-080 (GX-080) telah digunakan di dalam ekstraksi papain dari getah pepaya segar oleh (Giacomo et al, 2022). Giacomo et al., 2022 mengembangkan platform untuk memperoleh enzim papain langsung dari lateks pepaya segar dengan

metode yang aman, berbiaya rendah dan sederhana. Surfaktan yang digunakan dalam ekstraksi enzim papain dapat menghindari operasi pengeringan lateks yang sering menyebabkan hilangnya aktivitas enzim.

Ekstraksi menggunakan surfaktan di dalam pelarut air dianggap sebagai salah satu media ekstraksi ramah lingkungan karena air digunakan sebagai pelarut utama menggantikan pelarut organik. Selain itu, surfaktan yang digunakan untuk ekstraksi tetap berada dalam ekstrak akhir sebagai bagian integralnya (berfungsi sebagai zat pelarut). Oleh karena itu, larutan surfaktan berair dapat mempermudah prosedur ekstraksi karena tahap pemurnian menjadi lebih mudah dan sederhana dapat mengeleminasi penguapan pelarut. Surfaktan non-ionik dikenal sebagai reagen yang relatif tidak beracun dan tidak berbahaya dengan stabilitas dan kompatibilitas yang baik (Sazdani et al., 2023). Penelitian lain yang dilakukan oleh (Ji Li et al. 2022) menggunakan surfaktan untuk meningkatkan efisiensi perolehan alginat dari alga coklat. Dalam penelitian ini, digunakan tiga surfaktan yang berbeda, yaitu SDS (Sodium Lauril Sulfat), CTAB, dan Triton X. Kondisi optimal didapatkan pada konsentrasi SDS (3,0 g/L), CTAB (0,8 g/L), dan TritonX-100 (1,25 mL/L). Pada konsentrasi tersebut peningkatan efisiensi berturut turut sebesar 79,5%, 127,2% dan 102,0%.

## 2.3. Ekstraksi Menggunakan Surfaktan dengan Bantuan Gelombang Mikro

Ekstraksi menggunakan surfaktan dengan bantuan gelombang mikro telah dilakukan oleh (Wang et al, 2022). Surfaktan berfungsi untuk mengikat baik komponen aktif polar (hidropilik) maupun non polar (hidropobik) di dalam matriks. dilakukan untuk ekstraksi simultan fitokimia hidrofilik dan hidrofobik dari matriks tanaman, seperti asam fenolik, kumarin, bisepoksi lignan, dan fenilpropanoid dari batang *Acanthopanax senticosus*. Dalam penelitian ini dipilih surfaktan alami Saponin dan etanol sebagai di dalam pelarut air. Pada kondisi optimal rasio padatan cair 43 mL/g, konsentrasi surfaktan 0,8% (g/mL), waktu ekstraksi 15 menit, daya gelombang mikro 470 W, dan suhu sistem 60 °C, didapatkan hasil ekstraksi 1,34 kali lipat lebih tinggi dibandingkan metode ekstraksi berbantuan ultrasonik (Et-UAE) berbasis etanol tanpa surfaktan.

## 3. Ekstraksi Enzimatis

Enzim adalah biokatalis yang sangat spesifik. Bahan utama enzim adalah protein dan aktifator yang disebut *co*-faktor. *Co*-faktor dapat berupa kation anorganik atau organik. Enzim memiliki sifat seperti protein, antara lain bekerja dengan baik pada suhu dan pH optimum, Peranan enzim di dalam ekstraksi telah dilaporkan oleh (Sanz et al, 2022) di dalam proses ekstraksi hemiselulosa dari jerami menggunakan enzim Endo-Xilanase. Jerami mengandung selulosa, hemiselulosa, dan lignin. Hemiselulosa dan selulosa adalah karbohidrat memiliki banyak fungsi dan di dalam ekstraksi harus dipisahkan dari komponen yang bukan

karbohidrat yaitu lignin. Pemisahan selulosa dan hemiselulosa dari biomasa dihambat oleh adanya lignin yang mempunyai peranan sebagai komponen pengikat selulosa dan hemiselulosa. Untuk mendapatkan selulosa dan hemiselulosa lignin harus dipisahkan, tetapi lignin adalah senyawa kimia yang sulit untuk didegradasi. Laporan penelitian yang dilakukan oleh (Sanz et al, 2022) menyimpulkan bahwa ekstraksi biomasa menggunakan pelarut organik tidak cukup untuk menghasilkan ekstrak maksimal. Salah satu cara untuk meningkatkan hasil ekstraksi adalah dengan menerapkan kondisi yang lebih ekstrim, misalnya konsentrasi NaOH yang lebih tinggi dan/atau suhu/tekanan tinggi. Namun, opsi ini kurang hemat biaya dan tidak berkelanjutan. Sehingga dipilih ekstraksi hemiselulosa dengan bantuan enzim. Ekstraksi menggunakan enzim dilakukan pada kondisi suhu dan pH optimum dimana aktifitas enzim maksimal. Ekstraksi enzimatis menggunakan air sebagai pelarut.

Peranan enzim di dalam ekstraksi adalah sebagai biokatalis yang dapat mendegradasi lignin melalui reaksi hidrolisis lignin. Lignin yang sudah terhidrolisis mempermudah untuk dapat melemahkan interaksi lignin-hemiselulosa. Dapat disimpulkan bahwa Enzim Endo-Xilanase berperan sebagai biokatalis untuk menghidrolisis lignin didalam jerami sehingga mempermudah hemiselulosa untuk lepas dari ikatan lignin dan selulosa.

Ekstraksi minyak biji melon secara enzimatis telah dilakukan (Zhang et al., 2024). Penelitian tersebut bertujuan untuk membandingkan tiga metode ekstraksi yaitu dengan menggunakan sokhlet, pengepresan dingin, dan menggunakan enzim. Enzim yang digunakan adalah protease (dari *Bacillus amyloliquefaciens*) dan enzim selulase (dari *Trichoderma reesei*) dalam pelarut air. Tujuan penelitian ini untuk mengevaluasi sifat fisikokimia ekstrak dan stabilitas oksidatifnya. Minyak biji melon mengandung asam linoleat (53,6 %–70,8 %, b/b), *squalene* (101,1–164,7 mg/100 g), dan  $\beta$ -sitosterol (119,5–291,9 mg/100 g). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemilihan metode ekstraksi tidak mengubah komposisi asam lemak di dalam ekstrak minyak, namun berdampak pada sifat fisikokimia, kandungan senyawa bioaktif dan stabilitas oksidatif minyak. Secara khusus, minyak biji melon yang diperoleh melalui ekstraksi enzimatis menunjukkan kandungan tokoferol yang lebih tinggi dan stabilitas oksidatif yang lebih baik dibandingkan dengan minyak yang diperoleh dari dua metode ekstraksi lainnya. Secara keseluruhan, ekstraksi enzimatis merupakan metode ekstraksi minyak yang menjanjikan dan dapat menjadi alternatif untuk produksi minyak biji melon berkualitas tinggi. Stabilitas oksidatif tertinggi dalam minyak yang diekstraksi menggunakan enzim dapat dikaitkan dengan ekstraksi senyawa antioksidan fenolik selama hidrolisis enzimatis. Selama ekstraksi enzimatis, dinding sel tanaman dihidrolisis, membuat senyawa bioaktivitas lebih mudah untuk diekstraksi dan dilepaskan dari matriks tanaman. Selain itu, banyak penelitian sebelumnya telah menunjukkan dan melaporkan bahwa ekstraksi enzimatis adalah metode yang efektif dalam ekstraksi senyawa bioaktivitas fenolik. Dalam penelitian ini,

terlihat bahwa minyak yang diekstraksi menggunakan bantuan enzim memiliki stabilitas oksidatif tertinggi.

### 3.1. Ekstraksi Enzimatis dengan Bantuan Ultrasonik

Ekstraksi menggunakan enzim memiliki banyak kelebihan dan yang paling utama adalah dapat menghasilkan komponen bioaktif yang stabil dan dapat mengurangi biaya bahan kimia (pelarut organik). Kelemahan ekstraksi enzimatis adalah berkaitan dengan kenaikan viskositas larutan. Kenaikan viskositas berpengaruh kepada kecepatan perpindahan masa secara difusi dari fase padat ke fase cair. Oleh karena itu beberapa penelitian ekstraksi bioaktif secara enzimatis dibantu gelombang ultrasonik. Patil et al. (2024) telah melakukan ekstraksi senyawa bioaktif fenolik dari kulit buah delima menggunakan enzim selulase (SAE0020). Kulit buah delima mengandung senyawa aktif fenolik termasuk asam galat dan asam elagat (*ellagic acid*). Penelitian dilakukan bertujuan untuk mengoptimalkan ekstraksi fenolik total (TPC) dan kapasitas antioksidannya dari kulit buah delima menggunakan berbagai pendekatan yang melibatkan enzim dan dengan bantuan gelombang ultrasonik. Ekstraksi enzimatis berbantuan ultrasonik menggabungkan perlakuan ultrasonik dan enzimatis. Pada kondisi ekstraksi selama 25 menit menghasilkan senyawa fenol total tertinggi. Peranan ultrasonik dalam ekstraksi dijelaskan oleh (Shen et al, 2023).

Gelombang ultrasonik bersifat mekanis dan dapat merambat melalui benda padat, cair, dan media gas. Teknologi ultrasonik telah diterapkan pada berbagai bidang, diantaranya teknologi ultrasonik intensitas tinggi, beroperasi pada frekuensi berkisar antara 20 hingga 100 kHz dan tingkat daya substansial berkisar antara 10 hingga 1000 W/cm<sup>2</sup>. Ultrasonik intensitas tinggi dicirikan oleh kemampuan destruktifnya, yang merupakan metode yang efektif untuk mempercepat reaksi kimia dengan kavitasi. Ledakan gelembung kavitasi melepaskan energi yang dapat menimbulkan berbagai macam efek seperti ekstraksi, penghancuran, dan emulsifikasi. Jadi gelombang ultra sonik membantu mempercepat ekstraksi melalui gelembung gelembung yang dihasilkan oleh kavitasi yang diciptakan oleh gelombang ultrasonik. Sel biomasa yang dikenai gelombang ultra sonik pecah dan membebaskan komponen aktif keluar dinding sel masuk ke dalam fasa cair.

Kekuatan ultrasonik adalah penggunaan energi ultrasonik untuk proses kimia. Ultrasonik menggunakan efek termal, efek mekanis dan efek kavitasi untuk mengekstrak komponen bioaktif. Selama aksi ultrasonik, dinding sel dihancurkan, sekaligus mempercepat pelepasan dan difusi komponen dalam sel. Efek termal ultrasonik mengacu pada fenomena dimana energi getaran ultrasonik diserap oleh medium dan diubah menjadi panas. Akibatnya suhu media meningkat. Efek mekanik gelombang ultrasonik mengacu pada fenomena gelombang ultrasonik yang dikenakan ke dalam media akan menginduksi getaran partikel di dalam media sesuai dengan gelombang mekanik dan meningkatkan kecepatan gerakan partikel dan perpindahan masa menjadi semakin cepat. sehingga dapat meningkatkan penetrasi pelarut ke dalam sel, yang mengarah pada peningkatan perpindahan massa. Selain itu, gelombang ultrasonik

mengganggu dinding sel, memfasilitasi pelepasan isi seluler. Oleh karena itu, fragmentasi sel dan perpindahan massa yang efektif dianggap sebagai dua faktor yang menyebabkan peningkatan produksi menggunakan bantuan ultrasonik (Shen et al., 2023).

### 3.3. Hasil Review Ekstraksi Enzimatis

Salah satu tujuan utama ekstraksi enzimatis adalah menggantikan pelarut organik dengan menggunakan air. Hasil review ekstraksi menggunakan enzim dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Biji bijian yang diekstraksi menggunakan enzim

| Nama biji         | Kegunaan                          | Jenis enzim/Rendemen %/Perlakuan Awal/Kondisi ekstraksi   | Pustaka              |
|-------------------|-----------------------------------|---|----------------------|
| Camellia oleifera | Minyak rambut                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Enzim protease, amilase, dan karbohidrase. Protease asam (500.000 U/g), protease netral (50.000 U/g), papain (100.000 U/g), <math>\alpha</math>-amilase suhu sedang (10.000 U/g), <math>\alpha</math>-amilase jamur (8600 U/g), selulase (11.000 U/g), hemiselulase (50.000 U/g), pektinase (300.000 U/g)/</li> <li>Rendemen 66,94±0,70.</li> <li>Perlakuan awal: Biji digiling dengan kecepatan tinggi selama 5 menit dan disimpan pada suhu 4 °C untuk percobaan.</li> <li>Konsentrasi enzim 400 U/g biji. Pemanasan di dalam penangas air mendidih selama 10 menit. Campuran reaksi disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit, dan lapisan atas minyak bening dikumpulkan untuk menghitung rendemen</li> </ul> | Zhua et al., 2024.   |
| Jagung            | Untuk pangan dan kosmetik         | <ul style="list-style-type: none"> <li>Protease dan L-sistein, L-sistein dapat mempercepat pemisahan dan hidrolisis protein ketika protease digunakan bersamaan dengan L-sistein</li> <li>Rendemen 65,18</li> <li>Perlakuan awal: Perendaman selama 30 jam pada suhu 50°C. dalam larutan asam laktat maksimal 0,45% dan dilanjutkan dengan penggilingan dan ekstraksi enzimatis</li> <li>pH = 6,4 pada suhu ruangan, kadar protease 480 U/g, kadar -sistein 0,45 g</li> </ul>   | Liu et al., 2024.    |
| Sapium sebiferum  | Minyak untuk biodiesel non pangan | <ul style="list-style-type: none"> <li>Proteinase netral</li> <li>Rendemen 84,22 ± 3,17</li> <li>Perlakuan awal: Perendaman biji di dalam larutan enzim, Menggunakan beberapa macam enzim (alfa Glukosidase, alfa amilase, hemiselulase, selulase, pektinase, pankrelipase dan protease netral).</li> <li>Muatan enzim 2,95 %, waktu inkubasi 3 jam, rasio air-padatan 8 mL/g, 39 menit waktu USG, daya USG 485 W, dan suhu USG 50 °C</li> </ul>  | Liu et al., 2023.    |
| .Biji Macauba     | Pengganti minyak sawit            | <ul style="list-style-type: none"> <li>Enzim Selulase, protease, fosfolipase, amilase, glukamilase, dan pektinase.</li> <li>Rendemen 88,6</li> <li>Kondisi terbaik pektinase (pada pH 5,5 dan 50°C) menunjukkan efisiensi tertinggi (88,6 %). Minyak menunjukkan kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi, terutama asam oleat dan linoleat, dengan nilai nutrisi yang sangat baik. Dibuktikan dengan indeks anti-aterogenisitas dan anti-trombogenesis</li> </ul>  | Sorita et al., 2024. |
| Kacang tanah      |                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Selulase dan atau pektinase</li> <li>Rendemen minyak yang lebih tinggi (&gt;44%) dan laju pelepasan protein (&gt;76%)</li> <li>Perlakuan pendahuluan menggunakan gelombang mikro dapat merusak struktur dinding sel kacang tanah, meningkatkan porositas bahan mentah, mempercepat efisiensi hidrolisis enzimatis, dan meningkatkan hasil ekstrak (minyak).</li> <li>Kondisi ekstraksi pH 4,2. suhu (50 °C, 150 putaran/menit, 1 jam)</li> </ul>   | Gao et al., 2024.    |

**Tabel 1.** Lanjutan

| Nama biji                                   | Kegunaan   | Jenis enzim/Rendemen %/Perlakuan Awal/Kondisi ekstraksi  | Pustaka              |
|---|--|--|----------------------|
| Biji Quinoa                                 | Antioksidan bermanfaat (polifenol)                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>Jenis enzim: Proteinase</li> <li>Rendemen: 26,72</li> <li>Bantuan Ultra sonik kondisi terbaik dicapai pada kondisi berikut: daya, 400 W; waktu, 210 menit; pH, 10,0; suhu, 50 °C;</li> </ul>  | Yang et al., 2024.   |
| Limbah Biomasa pembuatan bir                | Asam ferulat (FA) sebagai antioksidan, antibakteri, anti inflamasi | <ul style="list-style-type: none"> <li>Enzim selulase dan <i>xylanase</i></li> <li>Rendemen: 43,33</li> <li>Kondisi terbaik pH 5,27; suhu 60°C dan enzim 1,72%, waktu ekstraksi 22 jam</li> <li>Perlakuan pendahuluan menggunakan autoklaf dan ultra sonik</li> </ul>  | Khaled et al., 2023. |
| Buah kacapiring kering                      |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Enzim yang digunakan: Cellic CTec3 dan Alcalase 2,4 L (1%, v/berat bubuk buah kacapiring.</li> <li>Rendemen: 18,65%.</li> <li>Perlakuan awal: Buah kacapiring digiling hingga menjadi bubuk 40 mesh. Bubuk buah kacapiring (50 g) didispersikan ke dalam 60% (v/v) etanol (300 mL). Kemudian suspensi tersebut dikenakan dengan USG pada daya ultrasonik yang berbeda (0 W, 120 W, 240 W, 360 W, 480 W, 560 W) untuk durasi berbeda (0 menit, 15 menit, 30 menit, 45 menit, 60 menit). Suspensi kemudian disentrifugasi</li> <li>Kondisi optimal diperoleh minyak 18,65% pada suhu 51°C, waktu inkubasi 120 menit.</li> </ul> | Wang et al., 2023.   |
| Biji rami                                   |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Menggunakan campuran enzim yang terdiri dari pektinase dan hemiselulase (1/1/1, b/b/b)</li> <li>Rendemen minyak mencapai maksimum sebesar 23,32 % pada daya ultrasonik 200 W dan waktu ultrasonik 30 menit</li> </ul>   | Zhang et al., 2024.  |
| Kulit kayu <i>Quillaja saponaria molina</i> | Saponin glikosida triterpen, imuno- adjuvan alternatif baru.       | <ul style="list-style-type: none"> <li>Enzim yang digunakan adalah enzim dengan kode P (EC 3.2.1.15, memiliki aktivitas 30 U/mg) and T (EC 3.2.1.20, memiliki aktivitas 252 U/mg)</li> <li>Waktu optimal inkubasi menggunakan pelarut ditetapkan (71,084 menit) dosis enzim 275,887 U, dan waktu ekstraksi 20,254 menit, menghasilkan QS-21 sebesar 1,97 x 5,778 mg/g.</li> </ul>  | Gao et al., 2022.    |

Dari hasil review yang ditampilkan pada Tabel 1 di atas, ekstraksi secara enzimatis biomasa terutama biji-bijian/buah/limbah buah dapat digambarkan dengan lebih jelas dalam bentuk diagram alir seperti pada Gambar 1. (Liu et al., 2023; Gao et al., 2024; Wang et al., 2023; Lolli et al., 2023; Gao et al., 2022).

### 3.2. Dasar pemilihan Jenis Enzim

Hasil kajian dari beberapa laporan penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa enzim yang digunakan di dalam ekstraksi enzimatis merupakan enzim tunggal dan lebih banyak menggunakan campuran dari beberapa jenis enzim. Faktor yang dipertimbangkan disesuaikan dengan jenis senyawa aktif yang akan dipisahkan dari matrik padatan dan komposisi biomasa padat yang akan diekstrak. Penelitian yang telah dilakukan oleh (Zhua et al., 2024) mengekstrak minyak biji *Camelia oliofera* menggunakan enzim protease, amilase dan karbohidrase. Enzim protease yang digunakan adalah pretease yang merupakan protease

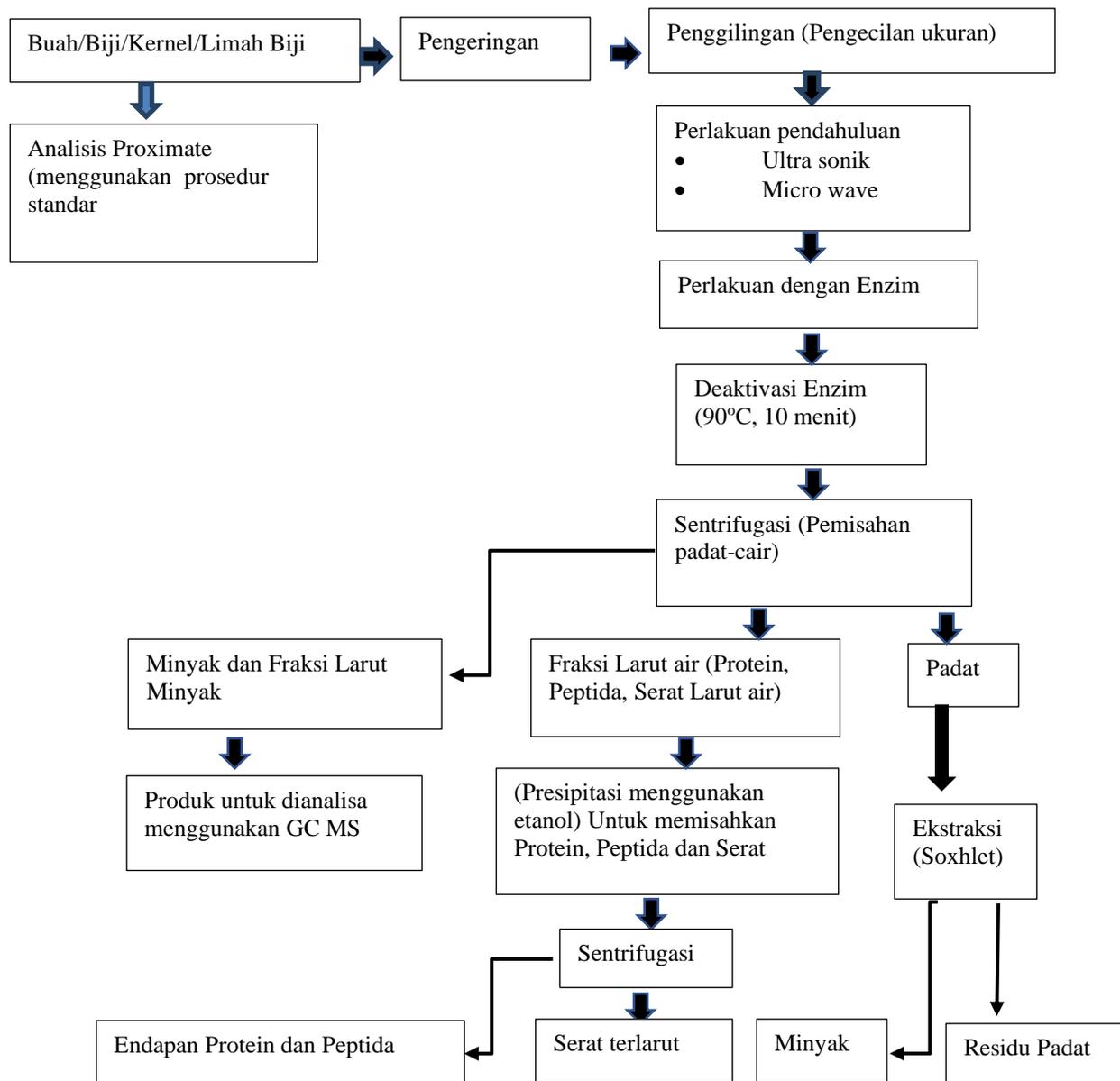
asam dan protease netral. Pemilihan enzim didasarkan kepada komponen utama biji *Camellia oleifera*. Dipilih empat enzim protease termasuk protease asam, Alcalase 2,4 L, protease netral, dan papain. Enzim yang lain dari golongan enzim amilase termasuk  $\alpha$ -amilase suhu sedang dan  $\alpha$ -amilase jamur, dan tiga karbohidrat termasuk selulase, hemiselulase, dan pektinase, dipilih untuk ekstraksi minyak dari kernel biji *Camellia oleifera*.

Peranan dan fungsi enzim di dalam ekstraksi enzimatis minyak biji *Camellia oleifera* untuk mengganggu struktur sel biji minyak, sehingga meningkatkan fluiditas minyak di dalam jaringan dan terlepas dari sel yang mengandung minyak. Oleh karena itu, sangat penting untuk memiliki pemahaman komprehensif tentang komposisi sel biji minyak untuk pemilihan enzim yang tepat. *Camellia oleifera* sebagai tanaman penghasil minyak yang berbeda memiliki komposisi yang berbeda-beda. *Camellia oleifera* dikenal dengan kandungan minyaknya yang tinggi. Kandungan minyak XL210, GY12, dan L34–22–1 masing-masing

adalah  $41,24 \pm 0,06\%$ ,  $35,25 \pm 0,07\%$ , dan  $37,07 \pm 0,07\%$ . Kernel biji *Camellia oleifera* juga mengandung protein dan pati yang tinggi.

Campuran enzim terpilih berperan penting dalam proses ekstraksi minyak dengan mendegradasi protein, pati, selulosa, dan pektin. Degradasi ini menyebabkan rusaknya integritas struktural dinding sel serta jaringan protein dan

pati yang mengelilingi minyak sehingga minyak dengan mudah keluar dari sel dan masuk ke fase air. Peneliti lain melaporkan hasil penelitian ekstraksi minyak dari biji *Sapium* sebiferum menggunakan enzim Proteinase netral menghasilkan rendemen minyak sebesar yang tinggi mencapai 84,22 % (Mapholi et al, 2023).



**Gambar 1.** Diagram alir ekstraksi enzimatik berbagai biomassa dengan perlakuan awal yang berbeda sesuai dengan karakteristik biomassa dan fokus target ekstrak.

Tabel 1, Menunjukkan bahwa ekstraksi menggunakan enzim telah dilakukan untuk ekstraksi bioaktif di dalam bijibijian dengan tujuan untuk memisahkan dari fase padat. Dasar

pemilihan enzim adalah tergantung kepada sifat fisika-kimia bahan aktif. Tetapi melihat jenis enzim yang digunakan hampir semuanya menggunakan enzim campuran dari

protease, selulase, pektinase, Hampir tidak ada yang menggunakan enzim lipase. Mengapa menggunakan enzim protease karena minyak yang ada di dalam bijibijian terbungkus oleh molekul protein. Untuk memudahkan mengeluarkan minyak dari bijibijian akan lebih sepat dengan cara mendestruksi protein secara kimia menggunakan biokatalis (enzim).

Gambar 1 dapat menjelaskan ekstraksi enzimatis secara umum. Sebelum dilakukan ekstraksi bijibijian dianalisis proksimat dengan tujuan untuk mengetahui komposisi komponen komponen yang ada di dalam bijibijian. Tahap selanjutnya adalah mengeringkan bijibijian untuk mengurangi kadar air. Biji yang sudah kering digiling untuk memperluas permukaan. Pada ekstraksi enzimatis, biji dengan ukuran (60-200 mesh) dicampur dengan air kemudian dilakukan perlakuan dengan menggunakan gelombang ultra sonik atau gelombang mikro sebelum ditambahkan enzim. Selanjutnya dilakukan ekstraksi enzimatis pada waktu tertentu, Hasil ekstraksi adalah ekstrak (fase cair) dan residu (fase padat). Sebelum pemisahan fase padat dan cair dilakukan deaktivasi enzim untuk menghentikan proses reaksi enzimatis. Tahap pemisahan setelah deaktivasi enzim menggunakan sentrifugasi. Hasil sentrifugasi ada tiga lapisan yaitu lapisan minyak, air dan padatan. Fase minyak dapat dipisahkan dari fase air dan fase padat karena minyak tidak larut di dalam air. Selanjutnya fase cair (air) dipisahkan dari fase padat. Di dalam fase minyak ada minyak dan zat yang larut di dalam minyak. Di dalam fase air ada air, peptida, dan protein larut air juga serat larut air. Pemisahan protein dilakukan dengan cara pengendapan menggunakan etanol sehingga protein akan mengendap dan dapat dipisahkan menggunakan sentrifugasi. Hasil sentrifugasi adalah protein dan pentida (padat) dan serat terlarut air. Residu masih mengandung minyak walaupun dalam jumlah kecil. Minyak masih dapat dipisahkan dengan menggunakan sochlet akan dihasilkan minyak dan residu akhir.

#### 4. Kesimpulan

Ekstraksi konvensional menggunakan pelarut organik seperti Ester, Eter, Keton, dan Etanol mempunyai banyak kekurangan. Terutama apabila digunakan untuk ekstraksi bahan aktif yang akan digunakan sebagai obat, kosmetik atau makanan. Ekstraksi menggunakan pelarut sangat tidak sesuai untuk tujuan penggunaan hasil ekstrak sebagai makanan mengingat sisa pelarut yang terbawa oleh ekstrak sifatnya beracun bagi tubuh. Teknologi ekstraksi konvensional secara perlahan ditingalkan dan teknologi ekstraksi enzimatis kini mendapat perhatian yang cukup besar walaupun masih ada beberapa hambatan diantaranya enzim masih mahal. Tetapi mengingat kebutuhan bahan pangan yang sehat dan berkelanjutan semakin meningkat, maka sangat penting untuk mengembangkan teknologi ekstraksi enzimatis, karena memiliki keunggulan dibandingkan dengan ekstraksi konvensional. Beberapa keuntungan diantaranya adalah: (1) Enzim adalah bahan aktif ramah lingkungan. (ii) Dengan menggunakan enzim, maka pelarut di dalam ekstraksi padat-cair dapat diganti

dengan air sehingga lebih sehat, ekonomis, dan efisien. (iii) Ekstraksi secara enzimatis tidak mengurangi aktifitas ekstrak karena kondisi operasi suhu rendah, tekanan rendah dan diperlukan dengan konsentrasi enzim berkisar antara 1 sampai dengan 2 % sangat menguntungkan dilihat dari sisi konsumsi bahan pengeksrak. (iv) Ekstraksi menggunakan enzim menaikkan rendemen bahan aktif (ekstrak) sampai 2x lipat dan dapat menjaga aktifitas. Ekstraksi menggunakan enzim masih memerlukan bantuan perlakuan pendahuluan seperti bantuan gelombang ultra sonik dan gelombang mikro. Peranan gelombang ultra sonik dan gelombang mikro mempunyai peranan untuk mendestabilisasi dinding sel dan menurunkan viskositas larutan karena efek kavitasi dari gelombang ultrasonik. Efek kavitasi dapat menyebabkan fragmentasi dinding sel. Penurunan viskositas dan fragmentasi sel dapat meningkatkan kecepatan perpindahan masa solute ke dalam pelarut dianggap sebagai dua faktor yang menyebabkan peningkatan produksi menggunakan bantuan ultrasonik di dalam ekstraksi enzimatis.

#### Ucapan Terima kasih

Karya ilmiah ini menggunakan dana pribadi dan bantuan pustaka jurnal yang dilanggan oleh UPN "Veteran" Yogyakarta.

#### Daftar Pustaka

- Amulya PR & Rayees ul Islam. (2023). Optimization of enzyme-assisted extraction of anthocyanins from eggplant (*Solanum melongena L.*) peel. *Food Chemistry*: X (18), 100643. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100643>.
- Delgado, M. F., Mateos, E. d. A., Coca, M., Linares, J. C. L., Cubero, M. T. G., & Lucas, S. (2023). Enhancement of industrial pectin production from sugar beet pulp by the integration of surfactants in ultrasound-assisted extraction followed by diafiltration/ultrafiltration. *Industrial Crops & Products*, 194 (116304), 1-9.
- Elvianto D. D. & Hutasoit, G. F. (2024). Ekstraksi Minyak Atsiri Jahe (*Zingiber officinale*) dengan Proses Distilasi: Pengaruh Jenis Jahe dan Metode Distilasi. *Eksergi, Jurnal Ilmiah Teknik Kimia*, 21(2), 55-59.
- Gao, Y., Dong, Q., Zhao, S., Zhao, Y., Zhang, Y., Wang, H., Wang, Y., Wang, W., Wang, L., & Wang, H. (2022). Efficient ultrasound-assisted enzymatic method for extraction of immunostimulant QS-21 from *Quillaja saponaria* Molina. *Industrial Crops & Products*, 189(115807), 1-12.
- Gao, Y., Ding, Z., Liu, Y., & Xu, Y. J. (2024). Aqueous enzymatic extraction: A green, environmentally friendly and sustainable oil extraction technology. *Trends in Food Science & Technology*, 144 (104315), 1-17.
- Giacomo MD., Fernando Ariel Bertoni., María Victoria Rocha., Bibiana Beatriz Nerli., Fernanda Rodríguez. (2022). Cloud point extraction based on non-ionic surfactants: An ecofriendly tool for recovering papain from papaya latex. *Journal of Environmental Chemical*

- Engineering (10), Issue 6, 108762. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108762>.
- Guo, X., Wu, B. C., Jiang, Y., Zhang, Y., Jiao, B., & Wang, Q. (2024). Improving enzyme accessibility in the aqueous enzymatic extraction process by microwave-induced porous cell walls to increase oil body and protein yields. *Food Hydrocolloids*, 147(109407), 1-10.
- Hahna, T., Lang, S., Ulbera, R., & Mufflera, K. (2012). Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae, *Process Biochemistry*, 47, 1691–1698.
- Jiao, X., Zhang, M., Zhang, M., Hao, L., & Wu, C. (2024). Ultrasound-assisted enzymatic extraction, structural characterization, and anticancer activity of polysaccharides from *Rosa roxburghii* Tratt fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*, 259(127926), 1-13.
- Kaufmann, A., Maier, L., & Kienberger, M. (2024). Solvent screening for the extraction of aromatic aldehydes. *Separation and Purification Technology*, 340(126780), 1-10.
- Khaled, W. A., Al-Shwafy., Chadni, M., Zamari, M. H. H. A., & Ioannou, I. (2023). Enzymatic extraction of ferulic acid from brewer's spent grain: Effect of physical pretreatments and optimization using design of experiments. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 51(102779),1-11.
- Krstonošić M.A., Darija Sazdanić., Dejan Ćirin., Nikola M aravić., Mira Mikulić., Jelena Cvejić., Veljko Krstono šić. (2-23). Aqueous solutions of non-ionic surfactant mixtures as mediums for green extraction of polyphenols from red grape pomace. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*. 33, 101069. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101069>.
- Li, J., Hao, X., Gana, W., van Loosdrecht, M. C. M., Wu, Y. (2022). Enhancing extraction of alginate like extracellular polymers (ALE) from flocculent sludge by surfactants. *Science of the Total Environment*, 837(155673), 1-9.
- Liu, Z., Liao, H., Wei, C., & Qi, Y. (2023). Application of an aqueous enzymatic-ultrasound cavitation method for the separation of Sapium sebiferum seed kernel oil *Ultrasonics Sonochemistry*, (101), 106704, 1-8.
- Liu, Z., Zhao, Y., Zheng, J., Wang, Z., Yan, X., & Zhang, T. (2024). Influence of enzymatic extraction on the properties of corn starch. *Food Bioscience*, 58(103775), 3-9.
- Lolli, V., Viscusi, P., Bonzanini, F., Conte, A., Fuso, A., Larocca, S., Leni, G., Caligiani, A. (2023). Oil and protein extraction from fruit seed and kernel by-products using a one pot enzymatic-assisted mild extraction. *Food Chemistry*, 19(100819), 1-9.
- Mapholi, Z. & Goosen, N. J. (2023). Optimization of fucoidan recovery by ultrasound-assisted enzymatic extraction from South African kelp, *Ecklonia maxima*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 101(106710), 1-16.
- Naghdi, S., Rezaei, M., Tabarsa, M., & Abdollahi, M. (2023) Ultrasonic-assisted enzymatic extraction of sulfated polysaccharide from Skipjack tuna by-products. *Ultrasonics Sonochemistry*, 95(106385), 1-10.
- Nidhi Nayak, Rohan Rajendrajai Bhujle, N.A. Nanje-Gowda, Snehasis Chakraborty, Kaliramesh Siliveru, Jeyamkondan Subbiah, Charles Brennan. (2024). *Heliyon* 10, e30921. 1-31. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30921>.
- Patil, N, Yadav, P, & Gogate, P. R. (2024). Ultrasound assisted intensified enzymatic extraction of total phenolic compounds from pomegranate peels. *Separation and Purification Technology*, 350(127967), 1-11.
- Petcharat, T., Sae-leaw, T., Benjakul, S., Quan T. H., Indriani, S., Phimolsiripol, Y., & Karnjanapratum, S. (2024). Extraction of Kratom (*Mitragyna speciosa*) leaf compounds by enzymatic hydrolysis-assisted process: Yield, characteristics and its cytotoxicity in cell lines *in vitro*. *Process Biochemistry*, 142, 212-222.
- Subagyo, P. & Achmad, Z. (2010). Pemungutan pektin dari kulit dan amapas apel secara ekstraksi. *Eksergi*, 10(2), 47-51.
- Rengga, W. D. P., Hartanto, D., Wibowo, B. T., & Setiawan, M. (2019). Extraction of cashew seed skin oil from the waste of cashew seed skin (*anacardium occidentale*) with ultrasonic aid. *Eksergi*, 16(1), 1-6.
- Ristianingsih, Y., Lestari, I., & Nandari, W. W. (2021). The effect of solvent and temperature on yield and pectin characteristics from kepok banana peels, *Eksergi*, 18(2), 37-42.
- Sanz, A. R., Fuciños, C., Torrado, A., & Rúa, M. L. (2022). Extraction of the wheat straw hemicellulose fraction assisted by commercial endo-xylanases. Role of the accessory enzyme activities. *Industrial Crops & Products*, 179(114655), 1-13.
- Sazdani, D., Krstonošić. M. A., Ćirin, D., Cvejić, J., Alamri, A., Galanakis, C. M., & Krstonosi, V. (2023). Non-ionic surfactants-mediated green extraction of polyphenols from red grape pomace. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 32(100439), 1-9.
- Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., Rashid, A, Xu, B., Liang, Q., Ma, H., & Ren, X. (2023). Review a comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 101(106646), 1-24.
- Sorita, G. D., Favaro, S. P., Rodrigues, D. d. S., Junior, W. P. d. S., Leal, W. G. d. O., Ambrosi, A., & Luccio, M. D. (2024). Aqueous enzymatic extraction of macauba (*Acrocomia aculeata*) pulp oil: A green and sustainable approach for high-quality oil production. *Food Research International*, 182(114160), 1-12.
- Susilowati, Munandar, S., Edahwati, L., & Harsini, T. (2013). Ekstraksi pektin dari kulit buah coklat dengan pelarut asam sitrat. *Eksergi*, 11(1), 27-30.

- Teerasak Punvichai, Jantarat Pipakdee, Hattipong Chaitham, Sirusa Kritsanapuntu, Chatchawan Chotimarkorn, Preeyabhorn Detarun. (2024). Factors affecting the quality of supercritical carbon dioxide extract from *Curcuma longa* Linn in Thailand: Antioxidant and lipid composition. *Food Chemistry Advances* 4, 100737. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100737>.
- Wang, D., Yuan, Y., Xie, T., Tang, G., Song, G, Li, L., Yuan, T., Zheng, F., & Gong, J. (2023). Ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction of gardenia fruits (*Gardenia jasminoides* Ellis) oil: Optimization and quality evaluation. *Industrial Crops & Products*, 191(116021), 1-11.
- Wang Y., Gangliang Huang., Hualiang Huang. (2024). Ultrasonic/enzymatic extraction, characteristics and comparison of leech peel polysaccharide. *Ultrasonics Sonochemistry*, 108, 106948. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.106948>.
- Wang, X. Y., Han, Z. T., Dong, Z. T., Zhang, T. H, Duan, J. W., Ai, L., & Xu, Y. Y. (2024). Atmospheric-pressure cold plasma-assisted enzymatic extraction of high-temperature soybean meal proteins and effects on protein structural and functional properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 92(103586), 1-10.
- Wang, Z., Pan, H., Xu, J, Chang, Y., Liu, C., Zhang, Y., Yang, H., Duan, C., Huang, J., & Fu Y. (2022). A sustainable and integrated natural surfactant mediated microwave-assisted extraction technique enhances the
- Zhuang, Z., Yang, G., & Zhuang, L. (2022). Exopolysaccharides matrix affects the process of extracellular electron transfer in electroactive biofilm. *Science of the Total Environment*, 806, 150713.
- extraction of phytochemicals from plants. *Industrial Crops & Products*, 184(115043), 1-11.
- Yadav, R. D., Khanpi, V. V., Dhamole, P. B., & Mandavgane, S. A. (2023). Integrated ultrasound-surfactant assisted extraction of lycopene from tomato peels. *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification*, 191(109474), 1-15.
- Yang, C., Liu, W., Zhu, X., Zhang, X., Wei, Y., Huang, J., Yang, F., & Yang, F. (2024). Ultrasound-assisted enzymatic digestion for efficient extraction of proteins from quinoa. *LWT. Food Science and Technology*, 194(115784), 1-13.
- Zhang, G., Li, Z., Guo, Z., & Charalampopoulos, D. (2024). Comparative extraction of melon seed (*Cucumis melo* L.) oil by conventional and enzymatic methods: Physicochemical properties and oxidative stability. *Journal of Agriculture and Food Research*, 16(101182), 1-8.
- Zhang, W., Yu, J., Wang, D., Han, X., Wang, T., & Yu, D. (2024). Ultrasonic-ethanol pretreatment assisted aqueous enzymatic extraction of hemp seed oil with low  $\Delta^9$ -THC. *Ultrasonics Sonochemistry*, 103(106766), 1-10.
- Zhua, F., Wua., Chen, B., Zhang, F., Chend, Y., Cao, F., Yue, P., Su, E. (2024). Development of an efficient procedure for preparing high quality *Camellia oleifera* seed oil by enzymatic extraction and demulsification. *Industrial Crops & Products*, 212(118392), 1-