



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN SEDERHANA

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten Sederhana kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Sudarto, SH, Tembalang, Semarang Indonesia (WNI)

Untuk Invensi dengan Judul : PROSES EKSTRAKSI VANILIN DARI POLONG VANILA KERING

Inventor : Dr. Eng. Vita Paramita, ST, MM, M.Eng
Mohamad Endy Yulianto, ST, MT.
Sri Nugroho, ST, MT, PhD.
dr. Budhi Surastri Soejoto, M.Si. Med

Tanggal Penerimaan : 10 Januari 2017

Nomor Paten : IDS000002246

Tanggal Pemberian : 01 April 2019

Perlindungan Paten Sederhana untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 10 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 23 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten Sederhana ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



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

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

(12) PATEN INDONESIA

(11) IDS000002246 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 01 April 2019

51) Klasifikasi IPC⁸ : B 01J 20/00, G 01N 30/00, C 07B 37/00

21) No. Permohonan Paten : S00201700145

2) Tanggal Penerimaan: 10 Januari 2017

Data Prioritas :

(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

Tanggal Pengumuman: 13 April 2017

Dokumen Pembanding:

PENGARUH PEMANASAN BERBASIS GELOMBANG MIKRO
DALAM PROSES EKSTRAKSI ENZIMATIS VANILIN PADA
POLONG VANILA Vita Paramita*, Wahyuningsih, Mohammad
dy Yulianto, Oktavian Dita Ratnasari PSD III Teknik Kimia,
Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro Jl. Prof. Sudarto, SH,
Tembalang, Semarang 50275, 2016
KARAKTERISTIK CAIRAN RUMEN, JENIS, DAN JUMLAH
ROBIA DALAM RUMEN SAPI JAWA DAN PERANAKAN
OLE CHARACTERISTICS OF THE RUMEN FLUIDS, TYPE
NUMBER OF RUMINAL MICROBES IN JAVA AND ONGOLE
BULLS Endang Purbowati*, Edy Rianto, Wayan Sukarya
Christina Maria Sri Lestari, dan Retno Adiwiranti Fakultas
dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Kampus drh.
Koesoemowardojo, Tembalang, Semarang, 50275, 2014
and ultrasound-assisted extraction of vanillin and its
highperformance liquid chromatography in Vanilla

015-03-25 (seluruh dokumen)

012-05-02 (seluruh dokumen)

006-08-17 (seluruh dokumen)

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat
Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Sudarto, SH, Tembalang, Semarang Indonesia (WNI)

(72) Nama Inventor :
Dr. Eng. Vita Paramita, ST, MM, M.Eng, ID
Mohamad Endy Yulianto, ST, MT., ID
Sri Nugroho, ST, MT, PhD, ID
dr. Budhi Surastrri Soejoto, M.Si. Med, ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Drs. Said Nafik, M.Si.

Jumlah Klaim : 2

PROSES EKSTRAKSI VANILIN DARI POLONG VANILA KERING

Invensi ini berhubungan dengan proses ekstraksi vanilin dari polong vanila kering. Lebih khusus, invensi ini berhubungan dengan proses ekstraksi vanilin dengan menggunakan pelarut organik dalam produksi vanilin sehingga akan dapat dihasilkan vanilin yang bebas alkohol dan sehat secara alami. Disamping itu, melalui proses dari invensi ini akan dapat mereduksi biaya produksi dengan memanfaatkan enzim yang diisolasi dari rumen sapi. Obesitas dihasilkan invensi ini menyediakan proses ekstraksi baru untuk produksi vanilin sehat alami dengan mereduksi biaya produksi, yaitu dengan menggunakan enzim yang diisolasi dari rumen sapi, yaitu protease, merupakan peluang yang sangat terbuka lebar untuk enzim sapi memiliki berbagai macam enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang hidup di dalamnya, antara lain amilase, glikosida (glukosidase, xilosidase), enzim pendegradasi dinding sel tanaman (selulase, pektinase), amilase, protease dan lain-lain. Dengan proses perwujudan invensi ini, dihasilkan produk dengan peningkatan kadar vanilin secara atraktif menggunakan enzim protease dengan suhu 12 gram. Semakin tinggi temperatur yang digunakan, maka fraksi volum vanilin dalam ekstrak semakin tinggi yang menunjukkan semakin banyak vanilin terekstrak.

Deskripsi

PROSES EKSTRAKSI VANILIN DARI POLONG VANILA KERING

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan proses ekstraksi vanilin dari polong vanila kering. Lebih khusus, invensi ini berhubungan dengan proses ekstraksi tanpa pelarut organik dalam produksi vanilin sehingga akan dapat dihasilkan vanilin yang bebas alkohol dan sehat secara alami. Disamping itu melalui proses dari invensi ini akan dapat mereduksi biaya produksi dengan memanfaatkan enzim yang diisolasi dari rumen sapi.

15

Latar Belakang Invensi

Aroma dan rasa vanilin hasil ekstrak dari polong vanila memberikan rasa dan aroma sedap-menyenangkan yang tidak dapat ditiru dengan produk sintetis hasil modifikasi proses apapun. Selain itu, ketersediaan produk vanilin alami dibatasi oleh rumitnya perlakuan tanaman vanila sebelum panen dan perlakuan polong vanila sesudah panen. Hal tersebut menjadi penyebab utama sangat mahalnya harga vanilin alami (Sinha et al., 2008). Pembentukan senyawa vanilin alami memerlukan tahapan proses yang lebih rumit dibandingkan dengan tahapan yang telah dipaparkan selama ini (Ruiz-Terán et al., 2001; Odoux, 2000; Odoux et al., 2003a,b).

Paten CN103713066A mengungkapkan suatu metode untuk mengekstraksi dan mendeteksi vanilin, metil vanilin, etil vanilin dan kumarin dalam susu bubuk serta mengklaim bahwa metode ini memiliki keunggulan efisiensi ekstraksi yang tinggi, penentuan kualitatif dan kuantitatif yang akurat, sensitivitas tinggi dan hasil yang akurat. Namun, langkah-langkah yang digunakan melibatkan penggunaan methanol sebagai pelarut, dimana

hal tersebut merupakan isu yang dihindari di Indonesia dengan menghindari penggunaan alkohol sebagai bahan pelarut dalam makanan.

Paten CN102430395A menjelaskan mengenai suatu metode untuk memanfaatkan vanilin menjadi membran penyerap (*absorber*) yang croos-linking dengan kitosan. Metode ini mengadopsi teknologi gelombang mikro yang berbeda dari teori pemanasan normal, dan membran penyerap dapat dengan mudah dipisahkan dari air limbah untuk dapat didaur ulang. Proses ini memberikan gambaran kelebihan penggunaan pemanasan gelombang mikro dibandingkan dengan proses pemanasan konvensional.

Paten WO2013166642A1 ini membahas suatu proses untuk menghasilkan vanillin maupun turunan vanilin dengan melakukan reaksi satu langkah yang dimulai dari guaiacol atau turunan guaiacol dan setidaknya dengan suatu superasam. Penemuan ini bermaksud untuk menghasilkan vanilin secara sintetis menggunakan bantuan asam. Kekurangan metode ini adalah pemanfaatan asam dalam proses reaksi. Jika diaplikasikan dalam skala industri, maka kemungkinan pencemaran lingkungan terhadap penggunaan asam ataupun superasam dapat meningkat.

Paten JP2006213692 melakukan proses generasi zat alkilasi melalui iradiasi microwave dari garam tetraalkylammonium dan mensintesis turunan vanilin menggunakan agen alkilasi untuk reaksi. Proses sintesis ini berlangsung tanpa pelarut dan dalam waktu singkat dengan sebelumnya mencampur 3,4-dihidroksibenzaldehida, garam tetraalkilammonium dan alkali. Namun kekurangan dari metode ini adalah hanya dihasilkannya sebuah senyawa spesifik dari turunan vanilin. Sementara itu, vanilin alami yang diekstrak dari polong vanilla memberikan nuansa aroma manis yang dihasilkan juga oleh glukosa yang terkandung dalam polong vanilla tersebut secara alami (Paramita et al., 2019).

Aroma dan rasa alami vanilla yang lembut namun kuat aroma dan rasa yang paling disukai pada industri makanan, berasal dari senyawa-senyawa oleoresin yang diekstrak dari polong *Vanilla*



planifolia Andrews matang. Lebih dari 12.000 ton vanilin (komponen utama aroma-rasa vanila) diproduksi per tahun di seluruh dunia, dengan kurang dari 1% diproduksi vanilin alami. Sisanya merupakan vanilin sintetis yang diproduksi melalui proses kimia dengan harga yang jauh lebih murah. Harga vanilin alami berada pada rentang antara Rp 12.000.000,- hingga Rp 40.000.000,- tiap kilogram. Hal ini berlawanan dengan harga vanilin sintetis yang kurang dari Rp 150.000,- tiap kilogram (Lomascolo et al., 1999; Muheim and Lerch, 1999).

10 Ruiz-Terán et al. (2001) menyatakan bahwa penggunaan enzim dapat meningkatkan yield dan produktivitas vanilin karena reaksi enzimatis menggantikan proses mikrobial yang terjadi dalam degradasi jaringan pada pemeraman tradisional. Hal ini ditunjukkan dengan peningkatan konversi glukovanilin menjadi 15 vanilin sebesar 3,13 kali ketika Viscozyme dan Celluclast diterapkan. Namun penggunaan enzim komersial akan menyebabkan biaya produksi akan semakin membengkak.

Dampak ekonomis invensi ini antara lain: (i) mendorong terlaksananya program kemadirian bangsa dan kedaulatan pangan, 20 terutama produksi vanilin alami, (ii) penguasaan teknologi hidrolisa-ekstraksi gelombang mikro menjadi daya tarik investasi yang menjanjikan bagi kalangan industri makanan maupun farmasi untuk melakukan komersialisasi produksi vanilin alami, (iii) pemanfaatan enzim bersumber dari rumen sapi akan mendorong 25 optimalisasi potensi peternakan Indonesia, (iv) perkembangan produksi vanilin alami akan membuka lapangan kerja baru dan mengembalikan kejayaan produksi vanila, (v) peningkatan daya saing dengan pemanfaatan bahan baku lokal dan menghasilkan produk bermutu, dan (vi) tersedianya teknologi yang handal dan 30 murah untuk produksi vanilin alami sehingga pemberdayaan petani akan berkembang dalam bidang budidaya vanila.

Selama ini, belum ada invensi yang menelaah teknologi ekstraksi gelombang mikro berbasis rumen untuk produksi vanilin alami sehat sebagai alternatif peningkatan laju hidrolisa- 35 ekstraksi secara simultan. Umumnya, lebih banyak dikembangkan

proses sintesis vanilin yang lebih hemat biaya dan waktu proses, namun aroma yang dihasilkan tidak sependan dengan aroma yang dihasilkan oleh vanilin alami hasil ekstraksi dari polong vanila.

5

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1 merupakan skema alat bioekstraktor gelombang mikro dari invensi ini.

10 Gambar 2 merupakan desain detail teknik bioekstraktor gelombang mikro dari invensi ini.

Gambar 3 merupakan grafik hubungan kadar vanilin sebagai fungsi waktu pada temperatur 30 °C sebagai salah satu perwujudan dari invensi ini.

15 Gambar 4 merupakan grafik hubungan kadar vanilin sebagai fungsi waktu pada temperatur 40 °C sebagai salah satu perwujudan dari invensi ini.

Gambar 5 merupakan grafik hubungan kadar vanilin sebagai fungsi waktu pada temperatur 50 °C sebagai salah satu perwujudan
20 dari invensi ini.

Uraian Singkat Invensi

25 Tujuan dari invensi ini adalah untuk menyediakan proses ekstraksi tanpa pelarut organik dalam produksi vanilin sehingga akan dapat dihasilkan vanilin yang bebas alkohol dan sehat secara alami. Disamping itu melalui proses dari invensi ini akan dapat mereduksi biaya produksi dengan memanfaatkan enzim yang
30 diisolasi dari rumen sapi, yang dapat mencakup selulase, protease, glukosidase. Rumen sapi memiliki berbagai macam enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang hidup di dalamnya, antara lain enzim pendegradasi glikosida (glukosidase, xilosidase), enzim pendegradasi dinding sel tanaman (selulase,
35 pektinase), amilase, protease dan lain-lain. Dalam proses



perwujudan invensi ini, dihasilkan produk dengan peningkatan kadar vanilin secara atraktif menggunakan enzim protease dengan perbandingan terhadap polong vanilla kering sebesar 1:50.

Selanjutnya proses ekstraksi dari invensi ini dicirikan oleh tahapan sebagai berikut:

- a. Menimbang polong vanilla kering;
- b. Memotong polong vanilla kering sampai dengan ukuran maksimal 1 cm dari poin a;
- c. Menghaluskan potongan polong vanilla kering dari poin b;
- 10 d. Memasukkan polong yang telah halus ke dalam bioekstraktor, dimana bioekstraktor tersebut telah diisi air suling dengan perbandingan 10:1 terhadap polong vanilla kering pada pH 4,5 dan temperatur operasi 50°C;
- e. Menambahkan enzim protease yang telah diisolasi dari
15 rumen sapi dengan perbandingan 1:50 terhadap polong vanilla kering ke dalam bioreaktor;
- f. Mengekstraksi vanilin dalam bioreaktor tersebut selama 30 menit; dan
- g. Menyaring vanilin yang telah terekstraksi dalam bioreaktor
20 dengan penyaring kain 100 mesh.

Uraian Lengkap Invensi

Sebagaimana yang telah dikemukakan pada latar belakang
25 invensi bahwa hidrolisa-ekstraksi vanilin dilakukan secara simultan. Bahan baku yang digunakan dalam invensi dari polong vanilla kering melalui teknik enzimatis gelombang mikro berbasis rumen untuk meningkatkan perolehan vanilin.

Gambar 1 merujuk pada desain 3 dimensi alat bioekstraktor
30 terintegrasi gelombang mikro. Bioekstraktor berbantuan gelombang mikro dirancang untuk skala laboratorium berkapasitas 19 L. Alat ini terdiri dari empat bagian, yaitu pengumpan, bioreaktor (tangki berpengaduk), pemanas berbasis gelombang mikro, dan panel kontrol.



Gambar 2 merujuk pada desain detail teknik alat bioekstraktor terintegrasi gelombang mikro. Untuk memastikan pemanasan gelombang mikro yang memadai, dimensi bioreaktor dibuat pada ketinggian 10 cm dan diameter 50 cm. Gelombang mikro dihasilkan dari oven *microwave* komersial, yang menggunakan frekuensi 2,450 MHz dengan panjang gelombang 12 cm. Penghasil gelombang mikro ini dilengkapi dengan kipas pendingin yang ditempatkan di bagian atas ekstraktor untuk mencegah agar ekstraktor tidak terlalu panas, terutama pada bagian tutup.

10 Panel kontrol adalah kotak yang dilengkapi dengan *relay*, lampu on-off, dan pengontrol variabel, seperti suhu dan kecepatan pengaduk.

Hasil analisa kadar vanilin yang diekstraksi pada temperatur 30 °C merujuk Gambar 3. Kadar vanilin yang diekstrak dengan penambahan protease sebesar 6 gram terhadap 600 gram polong vanilla kering memberikan hasil yang relatif tinggi sebagai fungsi waktu setiap 10 menit. Namun, terjadi penurunan kadar vanilin dari 312,6 mg/L saat menit ke-50 menjadi 134,1 mg/L saat menit ke-60. Penurunan ini mengindikasikan adanya degradasi vanilin menjadi senyawa yang lain. Sementara itu, memodifikasi penambahan enzim menjadi 12 gr, maupun mengganti enzim dengan selulase baik dengan jumlah yang sama (12 gr) maupun 2 kali lipat dengan massa lebih tinggi (24 gr) justru menghasilkan kadar vanilin yang semakin kecil.

25 Gambar 4 merujuk pada hasil analisa kadar vanilin yang diperoleh melalui proses ekstraksi vanilin yang dikondisikan pada temperatur 40 °C. Dengan perlakuan penambahan enzim yang sama terhadap temperatur 30 °C, diperoleh kadar vanilin dengan nilai yang lebih rendah, yaitu pada rentang 39,0-189,4 mg/L.

30 Gambar 5 merupakan hasil analisa kadar vanilin yang diperoleh melalui proses ekstraksi vanilin yang dikondisikan pada temperatur 50 °C. Meskipun diperoleh hasil secara umum di bawah 200 mg/L, namun penambahan protease 12 gram pada lama waktu ekstraksi 30 menit dapat menghasilkan ekstrak kadar

35 vanilin yang tertinggi, yaitu sebesar 405,6 mg/L. Hal ini dapat



dijelaskan adanya pengaruh temperature 50 °C yang merupakan temperatur optimal untuk aktivitas enzim protease.

Masalah yang terjadi pada produksi vanilin secara hidrolisa-ekstraksi melalui proses termokimia gelombang mikro adalah hidrolisis secara langsung dari polong vanilla kering yang melibatkan tambahan fasa padat (mesokarp). Oleh karena itu, pengaruh komposisi air terhadap pengeluaran vanilin dari mesokarp juga menentukan kecepatan hidrolisis. Vanilin akan lebih mudah keluar dari fasa padat bila disekelilingnya adalah fasa akuatik (air), terlebih lagi bila fasa di sekelilingnya adalah fasa organik, maka pengeluaran vanilin dari fasa padat menjadi lebih mudah. Namun, penggunaan fasa organik untuk bahan pangan di Indonesia terkendala pada isu pangan halal, sehingga penggunaan pelarut organik pada makanan diusahakan untuk dihindari. Contoh penimbangan dalam proses ekstraksi vanilin dari polong vanilla kering akan diuraikan dalam percobaan di bawah adalah sebesar 600 gr.

Proses percepatan enzim menggunakan gelombang mikro merupakan langkah terobosan penting di dalam enzimologi. Kondisi protonasi termal gelombang mikro terhadap rantai asam amino pada enzim merupakan hal penting, karena enzim akan mengingat kondisi ionisasi dari larutan akuatik sebelum proses dehidrasi (*enzyme's pH memory*). Oleh karena itu, perlakuan terhadap pH akan menghasilkan laju hidrolisa yang lebih cepat. Sedangkan partisi tiga fasa dengan gelombang mikro terhadap protease menyebabkan naiknya kekuatan katalitik di dalam buffer akuatik. Proses partisi tiga fasa berpotensi menghasilkan enzim dengan kekuatan katalitik yang lebih baik. Untuk memperoleh hasil yang diinginkan, maka polong vanilla kering diperkecil ukurannya maksimal 1 cm menggunakan pisau.

Selanjutnya polong vanilla kering yang telah dipotong, dihaluskan menggunakan blender. Hal ini dilakukan untuk memperluas permukaan sehingga dapat meningkatkan laju hidrolisa melalui proses perlakuan gelombang mikro terhadap pH enzim, meningkatkan stabilitas dan fleksibilitas protease dan partisi



tiga fasa. Ekstraktor gelombang mikro akan meningkatkan laju perpindahan massa, sehingga yield vanilin akan meningkat, selain mereduksi waktu ekstraksi. Mekanisme pemanasan gelombang mikro yang unik, menyebabkan tidak ada panas yang hilang. Pemanasan menggunakan gelombang mikro berdasarkan tumbukan langsung dengan pelarut dan diatur oleh dua fenomena yang berlangsung simultan yaitu konduksi ionik dan rotasi dipol. Konduksi ionik mengacu pada migrasi elektrophoretik ion yang berpengaruh terhadap perubahan medan listrik. Resistansi yang ditimbulkan reaktan terhadap proses migrasi ion akan menghasilkan friksi dan dapat memanaskan reaktan. Rotasi dipol merupakan pengaturan kembali dipol molekul akibat medan listrik yang berubah cepat, sehingga proses pemanasan berlangsung cepat. Konsepnya, radiasi gelombang mikro akan melewati bahan yang direaksikan dan protease yang diaktivasi. Molekul-molekul tersebut akan menyerap energi elektromagnetik (pemanasan dielektrik). Molekul yang bersifat elektrik dipol (*electric dipoles*), memiliki muatan negatif dan positif pada masing-masing sisi. Kehadiran medan elektrik yang berubah-ubah dan diinduksikan melalui gelombang mikro mengakibatkan masing-masing sisi akan berputar untuk saling mensejajarkan diri. Pergerakan molekul akan menciptakan panas seiring dengan timbulnya gesekan antar molekul. Energi panas yang dihasilkan tersebut berfungsi sebagai agen pemanasan bahan dalam aktivasi enzim dan menaikkan energi kinetik reaksi.

Dengan demikian perlu pengembangan bioekstraktor termokimia gelombang mikro menggunakan pelarut fasa akuatik (air) dalam satu tahap berupa tangki berpengaduk. Bioekstraktor terintegrasi gelombang mikro merupakan alat utama yang digunakan dalam invensi ini. Hidrolisa-ekstraksi dilakukan dalam bioekstraktor dengan air sebagai pereaksi dan pelarut. Makin banyak vanilin yang berhasil dikeluarkan, maka semakin banyak terseretnya fasa diluen ke fasa kontinyu. Jadi, konsentrasi air juga berpengaruh terhadap pengeluaran vanilin disamping meningkatkan luas permukaan antara kedua fasa melalui pembentukan emulsi. Emulsi harus sedemikian rupa sehingga menghasilkan luas permukaan yang



besar. Selain itu, bagaimana mengoptimalkan kondisi proses supaya kemampuan spesifik enzim protease dalam mendegradasi struktur dinding sel tanaman. Sebelum umpan dan pelarut dimasukkan ke dalam ekstraktor, ekstraktor juga dikondisikan pada temperatur yang diinginkan. Volume air yang ditambahkan dalam proses ekstraksi setara dengan perbandingan berat terhadap polong vanilla kering sebesar 10:1.

Untuk mereduksi biaya produksi, pemanfaatan enzim yang diisolasi dari rumen sapi, seperti selulase, protease, glukosidase merupakan peluang yang sangat terbuka lebar untuk dikembangkan (Budiansyah et al., 2010; Yulianto et al., 2011; Hartati et al., 2011). Rumen sapi memiliki berbagai macam enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang hidup di dalamnya, antara lain enzim pendegradasi glikosida (glukosidase, xilosidase), enzim pendegradasi dinding sel tanaman (selulase, pektinase), amilase, protease dan lain-lain (Lee et al., 1999). Enzim hasil isolasi rumen sapi memiliki kelebihan dibandingkan enzim komersial, diantaranya, lebih stabil pada suhu tinggi, aktivitas spesifik dan pH optimum lebih tinggi, serta biaya produksi lebih rendah (Budiansyah et al., 2010; Heim, 2011). Enzim protease ditambahkan ke dalam polong vanilla dengan rasio berat 1:50 dan pH larutan diatur pada pH 4,5 menggunakan larutan buffer fosfat. Pengukuran aktivitas protease dilakukan menurut metode Murachi dengan menggunakan kasein 1% sebagai substrat. Sebanyak 5 gram enzim amobil ditambahkan kedalam 5 ml substrat. Kedalam campuran reaksi ditambahkan 1 ml larutan TCA 30%. Panaskan campuran pada temperatur 50°C selama 20 menit. Protein yang terkoagulasi dipisahkan dan filtratnya diukur adsorbansinya pada panjang gelombang 280 nm. Unit aktivitas protease dinyatakan sebagai jumlah enzim yang menyebabkan kenaikan absorbansi pada panjang gelombang 280 nm yang setara dengan 1 µg tirosin/ml enzim/20 menit. Tabel 1 menunjukkan aktivitas protease (0,75 g tirosin/ml enzim/20 menit) yang lebih besar dibandingkan dengan aktivitas selulase (0,24 µmol glukosa dalam

1 menit), maka invensi ini lebih memfokuskan terhadap penggunaan enzim protease.

Tabel 1. Hasil analisa aktivitas enzim protease dan selulase

Jenis Enzim	Aktivitas Enzim
Enzim Protease (μg tirosin/ml enzim/20 menit)	$0,7503 \pm 0,0046$
Enzim Selulase (μmol glukosa dalam 1 menit)	$0,2357 \pm 0,0012$

5

Perhitungan waktu ekstraksi ($t = 0$) dimulai ketika pengaduk mulai dijalankan pada putaran yang diinginkan. Selama ekstraksi berlangsung, sejumlah sampel diambil setiap 10 menit merujuk. Hasil-hasil ini dapat dilihat pada gambar 3, 4 dan 5.

Sampel diambil dan campuran disaring untuk memisahkan biomass yang tidak terlarut menggunakan penyaring dengan ukuran 100 mesh. Filtrat yang diperoleh dianalisa meliputi analisa kadar vanilin menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Konsentrasi vanilin dianalisa dengan menggunakan HPLC Alliance 2695 yang dilengkapi dengan Photodiode Array Detector 2996 (Water Corporation, USA). Kolom yang digunakan adalah Symmetry C18, 5 μm , 150 $\times$ 4,6 mm. Standar vanilin digunakan untuk menyiapkan kurva standar. Sampel sebanyak 1 mL disentrifugasi pada 13.000 rpm selama 10 menit dan filtrat dipisahkan. Filtrat yang dipisahkan (10 μL) kemudian disuntikkan ke HPLC. Laju aliran sampel selama analisis adalah 1 ml/menit dengan menggunakan campuran air yang didemineralisasi dan metanol dengan rasio 60:40 sebagai fase gerak selama 10 menit. Hasil-hasil ini dapat dilihat pada gambar 3, 4 dan 5.

Klaim

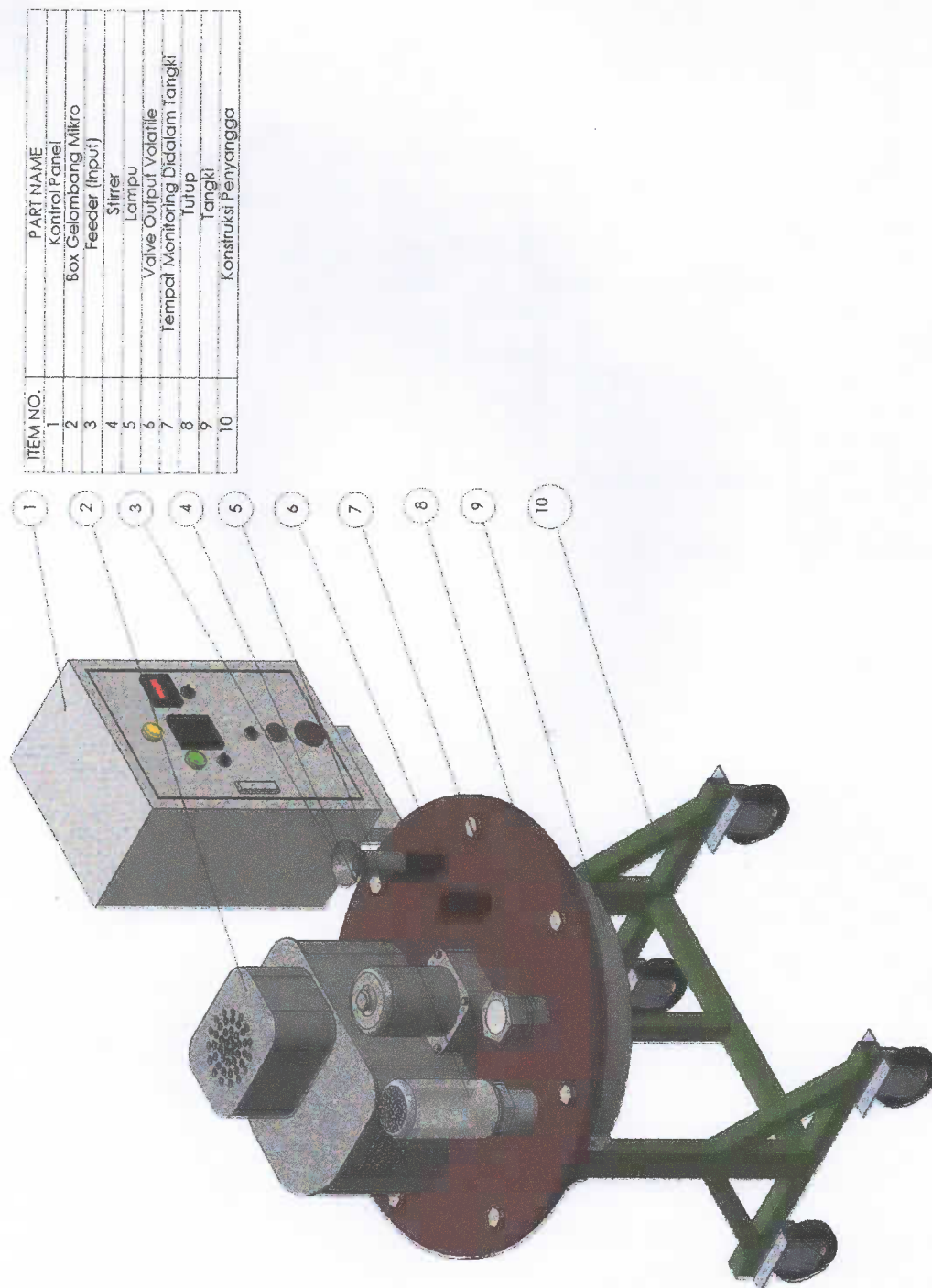
1. Proses ekstraksi vanilin dari polong vanilla kering tanpa menggunakan pelarut organik yang terdiri atas:

- 5 h. Menimbang polong vanilla kering;
- i. Memotong polong vanilla kering sampai dengan ukuran maksimal 1 cm dari poin a;
- j. Menghaluskan potongan polong vanilla kering dari poin b;
- 10 k. Memasukkan polong yang telah halus ke dalam bioekstraktor, dimana bioekstraktor tersebut telah diisi air suling dengan perbandingan 10:1 terhadap polong vanilla kering pada pH 4,5 dan temperatur operasi 50°C;
- 15 l. Menambahkan enzim protease yang telah diisolasi dari rumen sapi dengan perbandingan 1:50 terhadap polong vanilla kering ke dalam bioreaktor;
- m. Mengekstraksi vanilin dalam bioreaktor tersebut selama 30 menit; dan
- n. Menyaring vanilin yang telah terekstraksi dalam bioreaktor dengan penyaring kain 100 mesh.

20 2. Vanilin yang diekstraksi sebagaimana yang diungkapkan dalam klaim 1.

Abstrak**PROSES EKSTRAKSI VANILIN DARI POLONG VANILA KERING**

5 Invensi ini berhubungan dengan proses ekstraksi vanilin dari polong vanila kering. Lebih khusus, invensi ini berhubungan dengan proses ekstraksi tanpa pelarut organik dalam produksi vanilin sehingga akan dapat dihasilkan vanilin yang bebas alkohol dan sehat secara alami. Disamping itu melalui proses
10 dari invensi ini akan dapat mereduksi biaya produksi dengan memanfaatkan enzim yang diisolasi dari rumen sapi. Obyek yang dihasilkan invensi ini menyediakan proses ekstraksi baru untuk produksi vanilin sehat alami dengan mereduksi biaya produksi, pemanfaatan enzim yang diisolasi dari rumen sapi, yaitu
15 protease, merupakan peluang yang sangat terbuka lebar untuk dikembangkan. Rumen sapi memiliki berbagai macam enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang hidup di dalamnya, antara lain enzim pendegradasi glikosida (glukosidase, xilosidase), enzim pendegradasi dinding sel tanaman (selulase, pektinase),
20 amilase, protease dan lain-lain. Dengan proses perwujudan invensi ini, dihasilkan produk dengan peningkatan kadar vanilin secara atraktif menggunakan enzim protease sebesar 12 gram. Semakin tinggi temperatur yang digunakan, maka fraksi volum vanilin dalam ekstrak semakin tinggi yang menunjukkan semakin
25 banyak vanilin terekstrak.

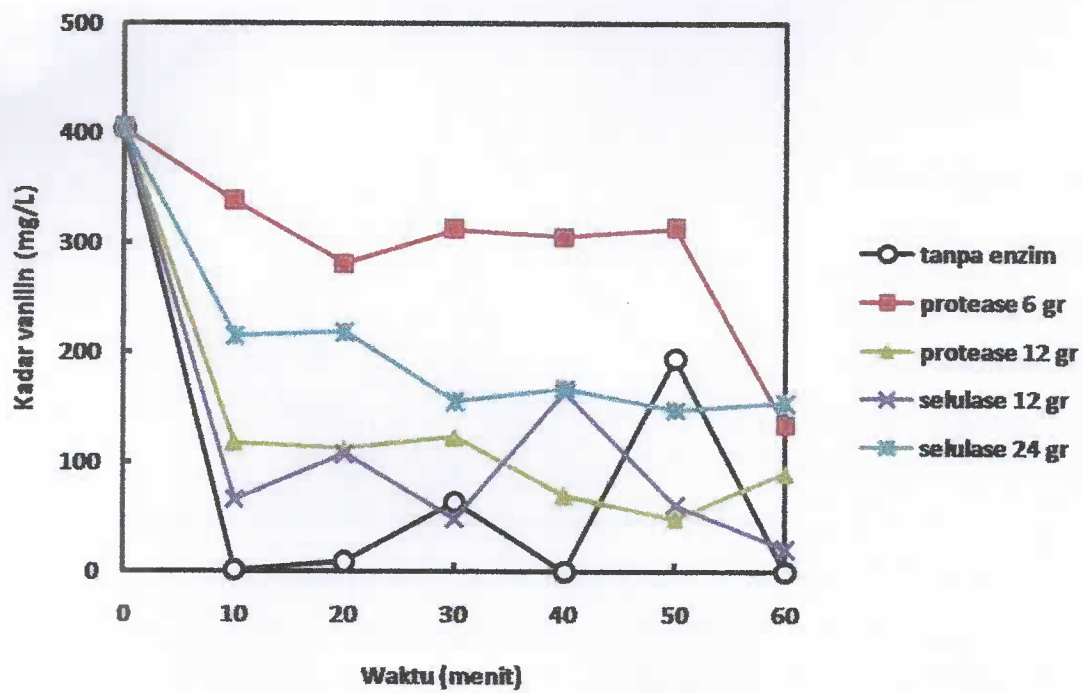


ITEM NO.	PART NAME
1	Kontrol Panel
2	Box Gelombang Mikro
3	Feeder (Input)
4	Stirrer
5	Lampu
6	Valve Output Volatile
7	Tempat Monitoring Didalam Tangki
8	Tutup
9	Tangki
10	Konstruksi Penyangga

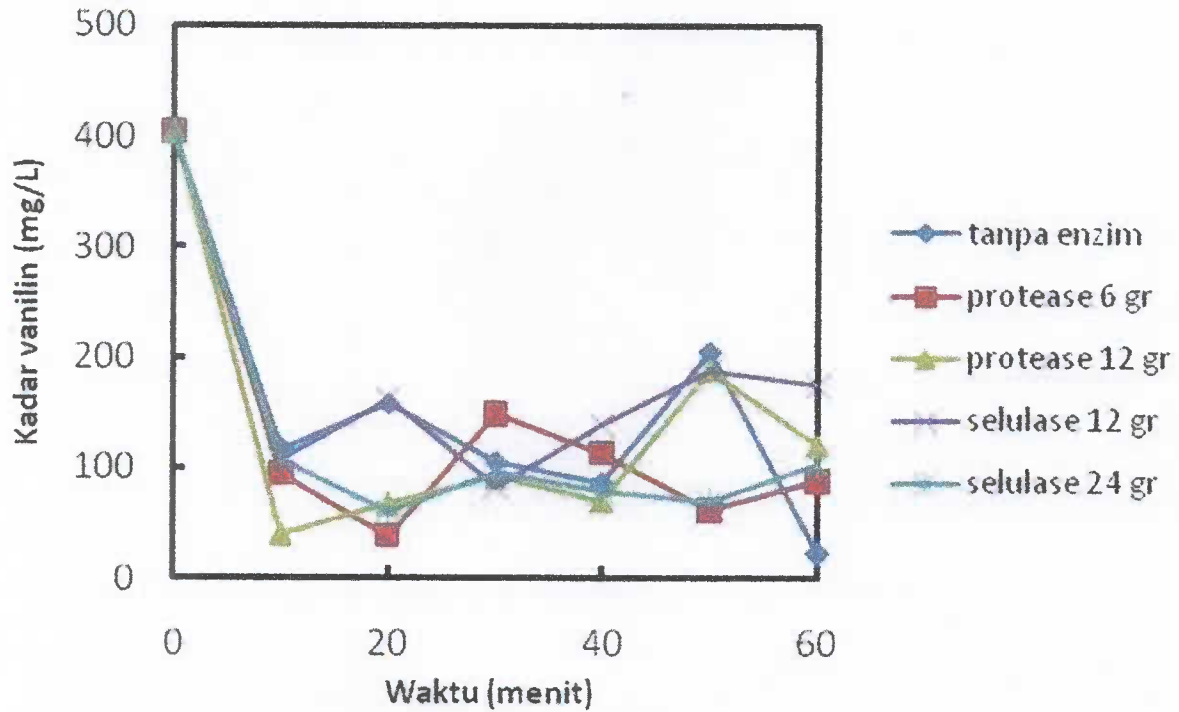
Gambar 1. Skema 3 dimensi alat bioekstraktor gelombang mikro



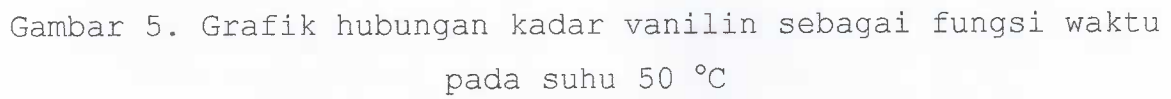
Gambar 2. Desain detail teknik bioekstraktor gelombang mikro



Gambar 3. Grafik hubungan kadar vanilin sebagai fungsi waktu pada suhu 30 °C



Gambar 4. Grafik hubungan kadar vanilin sebagai fungsi waktu pada suhu 40 °C



Gambar 5. Grafik hubungan kadar vanilin sebagai fungsi waktu pada suhu 50 °C

KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA RI
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
DIREKTORAT PATEN, DESAIN TATA LETAK SIRKUIT TERPADU DAN RAHASIA DAGANG
Jln. H.R. Rasuna Said, Kav. 8-9 Kuningan Jakarta Selatan 12940
Phone/Facs. (6221) 57905611; Website: www.dgip.go.id

INFORMASI BIAYA TAHUNAN

Nomor Paten : IDS000002246 Tanggal diberi : 01/04/2019 Jumlah Klaim : 2
Nomor Permohonan : S00201700145 IPAS Filing Date : 10/01/2017
Entitlement Date : 10/01/2017

Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 28 tahun 2019 tentang Jenis dan Tarif Atas Jenis Penerimaan negara Bukan Pajak Yang Berlaku Pada Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia, biaya tahunan yang harus dibayarkan adalah sebagaimana dalam tabel di bawah.

Biaya Tahunan Ke-	Periode Perlindungan	Batas Akhir Pembayaran	Biaya Dasar	Jml Klaim	Biaya Klaim	Total	Terlambat (Bulan)	Total Denda	Jumlah Pembayaran
1	10/01/2017-09/01/2018	30/09/2019	0	2	0	0	0	0	0
2	10/01/2018-09/01/2019	30/09/2019	0	2	0	0	0	0	0
3	10/01/2019-09/01/2020	30/09/2019	0	2	0	0	0	0	0
4	10/01/2020-09/01/2021	30/09/2019	0	2	0	0	0	0	0
5	10/01/2021-09/01/2022	11/12/2020	0	2	0	0	0	0	0
6	10/01/2022-09/01/2023	11/12/2021	1.650.000	2	100.000	1.750.000	0	0	1.750.000
7	10/01/2023-09/01/2024	11/12/2022	2.200.000	2	100.000	2.300.000	0	0	2.300.000
8	10/01/2024-09/01/2025	11/12/2023	2.750.000	2	100.000	2.850.000	0	0	2.850.000
9	10/01/2025-09/01/2026	11/12/2024	3.300.000	2	100.000	3.400.000	0	0	3.400.000
10	10/01/2026-09/01/2027	11/12/2025	3.850.000	2	100.000	3.950.000	0	0	3.950.000

Biaya yang harus dibayarkan untuk pertama kali hingga tanggal 27/08/2019 (tahun ke-1 s.d 4) adalah sebesar 0 

- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali wajib dilakukan paling lambat 6 (enam) bulan terhitung sejak tanggal diberi paten
- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali meliputi biaya tahunan untuk tahun pertama sejak tanggal penerimaan sampai dengan tahun diberi Paten ditambah biaya tahunan satu tahun berikutnya.
- Pembayaran biaya tahunan selanjutnya dilakukan paling lambat 1 (satu) bulan sebelum tanggal yang sama dengan Tanggal Penerimaan pada periode perlindungan tahun berikutnya.
- Permohonan penundaan pembayaran biaya tahunan akan diterima apabila diajukan paling lama 7 hari kerja sebelum tanggal jatuh tempo pembayaran biaya tahunan berikutnya, dan bukan merupakan pembayaran biaya tahunan pertama kali.
- Dalam hal biaya tahunan belum dibayarkan sampai dengan jangka waktu yang ditentukan, Paten dinyatakan dihapus