

Pengaruh Beberapa Jenis Praperlakuan Terhadap Peningkatan Rendemen Hidrodistilasi Minyak Atsiri Gaharu

Hendri Aldrat^{1*}, Khoerunnisa¹, Karina Wandani¹, Supandi^{1,2}, M. Yanis Musdja^{1,3}

¹. Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Kertamukti No. 5, Pisangan, Ciputat, Tangerang Selatan 15419, Indonesia

². Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy and Science, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. HAMKA, Jakarta 13460, Indonesia

³. Department of Clinical and Community Pharmacy, STIKes Widya Darma Husada, Jl. Pajajaran No.1, Pamulang Barat, Kota Tangerang Selatan 15417, Indonesia

*Corresponding author: hendri@uinjkt.ac.id

Received: 20 May 2025; Accepted: 18 June 2025

Abstract: Agarwood essential oil (*minyak atsiri gaharu* or *minyak gaharu*) has the potential to be developed as aromatherapy to help reduce stress, but its availability in nature is not abundant, so effective efforts are needed to get optimal results. Although various pretreatments before hydrodistillation are known to enhance the yield of agarwood oil, no comparative study using the same sample has been reported to date. This research aims to compare the yield and profile of agarwood oil compounds obtained from maceration, microwave, ultrasonic and fermentation using *ragi tapai* and *ragi tempe* pretreatments. The research was carried out by pretreatment extraction, distillation of agarwood powder, identification of essential oil compounds via Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS), and hedonic tests. The distillation results showed that pretreatment yeast *tapai* fermentation had the highest percentage yield of agarwood oil at 0.050% followed by *Fusarium sp* fermentation (0.036%), ultrasonic (0.034%), microwave (0.030%), maceration (0.024%), control (0.018%) and *ragi tempe* (0.002%). Six compounds were consistently found in each sample, such as α -agarofuran, neoisolongifolene, α -santalol, δ -guaiene, dihydrocolumellarin, and hexadecanoic acid. The most sesquiterpene compounds were obtained from pretreatment using *tempeh* yeast. Based on the research results, it is known that maceration, microwave, ultrasonic and fermentation pretreatments can increase the yield and influence the compound profile of agarwood oil.

Keywords: fermentation, GC-MS, maceration, microwave, *Fusarium sp.*, pretreatment, *ragi tapai*, *ragi tempe*, ultrasonic

Abstrak: Minyak atsiri gaharu (*minyak gaharu*, *agarwood oil*) memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai aromaterapi namun ketersediaannya di alam tidak melimpah sehingga diperlukan upaya yang efektif untuk mendapatkan hasil optimal. Salah satu cara untuk meningkatkan rendemen minyak gaharu adalah dengan memberikan perlakuan tertentu sebelum pelaksanaan hidrodistilasi yang disebut dengan praperlakuan (*pretreatment*) seperti perendaman, *microwave*, ultrasonik dan fermentasi menggunakan mikroba (*Fusarium sp*, *ragi tapai*, *ragi tempe*). Sejauh ini belum ada laporan mengevaluasi penggunaan berbagai praperlakuan menggunakan sampel yang sama agar hasilnya dapat dibandingkan. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan rendemen dan profil senyawa minyak gaharu yang diperoleh dari praperlakuan maserasi, *microwave*, ultrasonik, dan fermentasi sebelum pelaksanaan hidrodistilasi. Selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa minyak atsiri melalui *Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS)*, serta uji hedonik. Hasil distilasi menunjukkan bahwa *praperlakuan* fermentasi *ragi tapai* memiliki persentase rendemen minyak gaharu tertinggi sebesar 0,050% diikuti fermentasi *Fusarium sp.* (0,036%), penggunaan ultrasonik (0,034%), *microwave* (0,030%), maserasi (0,024%), kontrol (0,018%) dan *ragi tempe* (0,002%). Ada enam senyawa yang konsisten muncul dalam semua perlakuan yakni α -agarofuran, neoisolongifolene, α -santalol, δ -guaiene, dihydrocolumellarin, hexadecanoic acid. Kandungan seskuiterpen yang terbanyak diperoleh dari praperlakuan

menggunakan ragi tempe. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa praperlakuan maserasi, *microwave*, ultrasonik dan fermentasi dapat meningkatkan rendemen dan mempengaruhi profil senyawa minyak gaharu.

Kata kunci: Fermentasi, GCMS, maserasi, *microwave*, minyak gaharu, praperlakuan (*pretreatment*), ragi tapai, ragi tempe, ultrasonik
DOI: 10.15408/pbsj.v7i1.49005

1. PENDAHULUAN

Gaharu merupakan produk hutan bukan kayu yang terjadi akibat adanya respon patologis dari pohon yang berada di dalam famili Thymelaeaceae yang bernilai tinggi sepanjang zaman. Indonesia merupakan salah satu dari beberapa negara penghasil dan pengeksport gaharu di samping negara lain seperti Thailand, Kamboja, Malaysia, Cina dan Vietnam (López-Sampson and Page, 2018). Aroma gaharu yang unik telah menjadikan resin wangi ini tidak hanya sebagai pewangi tetapi aroma bernilai budaya dan religi selama ribuan tahun sehingga kebutuhannya sinambung sepanjang zaman dan bahkan meningkat pada beberapa dekade ini.

Eksplorasi yang besar-besaran dari sumber alamiah gaharu di hutan mengakibatkan ketersediaan gaharu ini semakin lama semakin langka. Tidak semua pohon liar ada gaharunya, oleh karena itu penebangan pohon bisa saja sia-sia dilakukan oleh pencari gaharu (Liu *et al.*, 2013). Aroma wangi gaharu berasal dari resin yang dihasilkan akibat respon patologis genus *Aquilaria*, *Gyrinops* dan *Gonystylus* (López-Sampson and Page, 2018). Pada awalnya, hanya *Aquilaria* yang masuk ke dalam CITES Appendix II, namun sekarang sudah masuk *Gyrinops* dan *Gonystylus* (Thompson, Lim and Turjaman, 2022). Setiap tanaman yang masuk ke dalam list CITES tersebut perlu diawasi perdagangannya secara internasional agar tidak punah.

Tidak hanya sebagai pewangi, gaharu tradisional dalam pengobatan Tiongkok kuno sebagai obat untuk gangguan pencernaan dan ginjal (Peeraphong, 2021). Kajian aktivitas farmakologi juga telah dilaporkan yang menunjukkan bahwa kandungan benzylacetone dan jincoheremol dilaporkan memiliki efek penenang atau sedatif sehingga di masa mendatang dapat berpotensi sebagai kandidat obat psikotropika baru (Chen *et al.*, 2022). Tidak hanya itu, efek antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri dari gaharu juga telah dilaporkan pada penelitian terbaru (Xie *et al.*, 2024). Berbagai efek farmakologis yang telah dilaporkan tentunya akan membuka pintu untuk penggunaan gaharu di masa mendatang sebagai salah satu pilihan terapi yang berdasarkan pada bukti-bukti ilmiah.

Oleh karena nilai gaharu ini tinggi di pasaran dunia, maka diperlukan strategi agar kuantitas minyak atsirinya dapat meningkat selama proses hidrodistilasi. Strategi yang dikembangkan sejauh ini adalah adanya *pretreatment* atau praperlakuan sebelum proses pelaksanaan distilasi (Jok *et al.*, 2014). Proses perendaman sampai berbulan-bulan adalah salah satu contoh praperlakuan klasik yang sudah dikenal ratusan tahun yang lalu (Hai, Truc and Trung, 2021). Proses terkini yang dikembangkan untuk praperlakuan untuk meningkatkan rendemen minyak atsiri seperti ultrasonik dan *microwave* (Yu *et al.*, 2021). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penambahan *Fusarium* sp. (Hardiansyah, Afghani and Arreneuz, 2015), ragi tapai (Fauziah, Satria and Yuniarti, 2022), *Rhizopus* sp. (Jabbar, Jayuska and Burhanuddin, 2015) ke dalam serbuk gaharu ternyata dapat merubah komponen kimiawinya setelah difermentasi dibandingkan dengan kontrol.

Praperlakuan terhadap gaharu menggunakan *microwave* sebelum hidrodistilasi telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya pada daya 800 W (Radzi and Kasim, 2020) dan 300 W oleh tim kami (Adelia, 2020) selama masing-masing tiga menit dapat meningkatkan rendemen dari hidrodistilasi. Akan tetapi perbedaan sampel gaharu tentu saja akan memengaruhi jumlah rendemen minyak gaharu. Sejauh ini belum dilaporkan bagaimana hasilnya jika praperlakuan menggunakan *microwave*, ultrasonik dan mikroba digunakan pada satu jenis sampel saja sehingga memudahkan untuk evaluasi karakteristik komponen dan rendemennya. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek dari perbedaan proses praperlakuan sebelum pelaksanaan hidrodistilasi serbuk gaharu terhadap rendemen minyak

gaharu yang dilanjutkan dengan analisa perbandingan komponen minyak gaharu menggunakan GCMS. Tidak hanya itu, uji hedonik juga dilakukan untuk mengetahui apakah perbedaan proses praperlakuan memberikan aroma yang berbeda terhadap responden.

2. METODE

2.1 Bahan dan peralatan

Bahan yang digunakan pada kajian ini adalah gaharu mutu kemedangan yang telah diserbuk berasal dari penyuling dan eksportir gaharu di Desa Bukit, Kabupaten Banyuasin, Sumatera Selatan pada bulan Januari 2023. Media PDA (Merck) dan PDB (Himedia) steril disiapkan mengikuti prosedur standar pada kemasannya. *Fusarium* sp. diperoleh dari Balitro Bogor, ragi tapai (merk Kereta Kencana) dan ragi tempe (merk Raprima) diperoleh dari pedagang di Pasar Ciputat, Tangerang Selatan, air untuk perendaman dan penyulingan digunakan Aqua™. Bahan-bahan pelarut seperti metanol, etanol digunakan kualitas p.a atau HPLC grade dari Merck Millipore. Peralatan yang digunakan adalah timbangan berbagai ukuran, *microwave* (Cosmos), ultrasonik (Elmasonic S100H), Clevenger Apparatus set yang dimodifikasi, pH meter (Sartorius PB-10), mantel pemanas (Barnstead Electrothermal), berbagai ukuran vial dan peralatan gelas lainnya, sentrifus (Eppendorf 5417R), aneka jenis tube (0,5 – 1,5 mL), GCMS (Agilent Technologies 7890A dan 5975 C). GCMS dijalankan dengan kondisi mengikuti penelitian sebelumnya (Defiza *et al.*, 2023).

2.2 Persiapan sampel

Sampel gaharu yang diperoleh dari eksportir gaharu dihaluskan ditimbang masing-masing 500 gram dan menggunakan volume total 2,5 liter air untuk setiap perlakuan dalam botol berwarna kuning tua. Sampel dibagi menjadi enam kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari dua kali percobaan (duplo).

2.3 Praperlakuan sampel

Sampel dibagi menjadi enam kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari dua kali percobaan (duplo). Adapun pembagian kelompoknya adalah kelompok kontrol (GK), praperlakuan maserasi (GM), praperlakuan menggunakan *microwave* (GMV), praperlakuan menggunakan ultrasonik (GUS), praperlakuan fermentasi menggunakan *Fusarium* sp. (GFU), praperlakuan fermentasi menggunakan ragi tempe (GTE), praperlakuan fermentasi menggunakan ragi tapai (GTA). Sampel kontrol (GK) hanya direndam semalaman sebelum dilakukan hidrodistilasi.

a. Kontrol (GK)

Sampel direndam dengan air semalaman, lalu pada esok pagi sampel tersebut disuling menggunakan Clevenger Apparatus selama 24 jam. Minyak atsiri yang ada pada distilat dipisahkan dan disimpan dalam wadah kedap tertutup cahaya untuk selanjutnya dianalisa.

b. Praperlakuan maserasi (GM)

Serbuk gaharu direndam dengan air selama 4 minggu pada suhu ruang. Selanjutnya dilakukan hidrodistilasi mengikuti protokol selanjutnya pada artikel ini.

c. Praperlakuan menggunakan microwave (GMV)

Serbuk gaharu direndam dengan air dimasukkan ke dalam *microwave* dan diberikan daya 800 kW selama 3 menit dan diulangi 3 kali. Selanjutnya didinginkan dan disimpan selama 4 minggu sebelum dilakukan hidrodistilasi.

d. Praperlakuan menggunakan ultrasonik (GUS)

Serbuk gaharu dimasukkan ke dalam gelas kimia kemudian dilakukan ultrasonikasi dengan frekuensi 44-48 KHz, selama 30 menit pada suhu 30°C diberi kode GUS. Kemudian dipindahkan ke dalam botol maserasi, disimpan selama 4 minggu pada suhu kamar sebelum dilakukan hidrodistilasi (GUS).

*e. Praperlakuan fermentasi dengan *Fusarium* sp. (GFU)*

Biakan *Fusarium* sp. diperoleh dari Bapak Dr. Soekamto, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO) Bogor. Selanjutnya biakan jamur itu digoreskan ke cawan Petri yang berisi media PDA dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang. Kemudian, inokulan tersebut dipindahkan ke 100 mL media PDB dan dikultur selama 48 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang. Setelah itu, semua kultur dimasukkan ke dalam botol kaca gelap yang telah berisi 250 gram serbuk kayu gaharu dan diisi air sampai hampir penuh dan dilakukan fermentasi selama empat minggu pada suhu ruang (Hardiansyah, Afghani, & Arreneuz, 2015).

f. Praperlakuan menggunakan ragi tempe (GTE)

Serbuk gaharu direndam dengan air ditaburi dengan ragi tempe sebanyak 50 gram (10% dari berat sampel) (Hardiansyah, Afghani and Arreneuz, 2015), diaduk rata dan kemudian disimpan dalam keadaan tertutup selama 4 minggu pada suhu kamar.

g. Praperlakuan menggunakan ragi tapai (GTA)

Serbuk gaharu direndam dengan air ditaburi dengan ragi tapai sebanyak 50 gram (10% dari berat sampel) (Jabbar, Jayuska and Burhanuddin, 2015), diaduk rata kemudian disimpan dalam keadaan tertutup selama 4 minggu pada suhu kamar.

2.3 Pengukuran pH

Nilai pH diperoleh dari pengukuran pH air rendaman sampel pada minggu ke 0 sampai ke 4 tiap-tiap minggu. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan pH meter (Jok, Che Radzi, & Ku Hamid, 2014).

2.4 Penyulingan serbuk gaharu

Penyulingan dengan metode hidrodistilasi dilakukan setelah empat minggu dengan menggunakan Clevenger apparatus selama 24 jam. Kemudian diukur rendemen setiap perlakuan setelah dipisahkan dari air. Organoleptik minyak gaharu diamati dan dicatat sebagai data (Huda *et al.*, 2017).

2.5 Analisa komponen penyusun minyak gaharu dengan GCMS

Komponen-komponen yang ada pada minyak gaharu merupakan komponen yang mudah menguap, oleh karena itu untuk analisisnya digunakan GCMS. Sejumlah 1µL minyak gaharu digunakan untuk analisis dengan kondisi peralatan sebagaimana dideskripsikan pada penelitian sebelumnya (Umar *et al.*, 2012).

2.6 Uji hedonik

Uji hedonik dilakukan terhadap 40 panelis, baik panelis tidak terlatih maupun panelis terlatih (penjual parfum), dipilih secara acak, laki-laki atau perempuan berusia 17-50 tahun (Surjanto *et al.*, 2019). Semua minyak atsiri hasil hidrodistilasi di atas (ada tujuh jenis termasuk kontrol) diujikan ke panelis untuk dicium aromanya. Uji hedonik ini telah mendapatkan persetujuan Komite Etik (*Ethical Approval*) FIKES UIN Syarif Hidayatullah no. Un.01/F.10/KP.01.1/KE.SP/ 10.08.007/2023 sebelum dilakukan kepada panelis.

Uji hedonik dilakukan dengan meminta panelis mencium aroma minyak gaharu yang diberikan kepada mereka dan kemudian respon kesukaan mereka terhadap aroma tersebut diukur menggunakan skala Likert 1-5 dari sangat tidak suka sampai kepada sangat suka sesuai dengan kriteria yang ditetapkan oleh penelitian sebelumnya (Surjanto et.al., 2019). Nilai signifikan dari data tersebut diuji dengan analisis univariat dan kemudian diteruskan dengan uji Post Hoc Duncan untuk mencari tahu sampel yang disukai oleh responden. Analisis ini dikerjakan dengan perangkat lunak SPSS versi 23. Batas penolakan pada skala numerik ≤ 3 , yaitu sejauh mana sampel dianggap tidak disukai oleh panelis (Surjanto et al., 2019).

3. HASIL DAN DISKUSI

Hasil pengamatan yang dilakukan terhadap minyak gaharu yang dihasilkan selama penelitian ini menunjukkan bahwa minyak gaharu yang dihasilkan beraroma khas kayu, berwarna dari kecoklatan sampai kehijauan. Minyak gaharu yang mengalami proses praperlakuan selama 4 minggu umumnya beraroma sedikit asam dibandingkan dengan direndam semalam lalu difermentasi (GK). Aroma itu segera menghilang setelah dioleskan beberapa menit. Aroma setelah itu tercium wangi sebagaimana layaknya aroma minyak gaharu.

pH air rendaman sampel

Pengukuran pH perendaman sampel gaharu dilakukan pada minggu 0, 1, 2, 3 dan 4 setelah sampel dimaserasi atau difermentasi kecuali sampel kontrol (GK). Hasil pengukuran pH yang diperoleh dari tiga kali pengukuran berulang ditunjukkan pada tabel dan grafik di bawah ini.

Tabel 1. pH hasil rendaman serbuk gaharu dengan berbagai variasi praperlakuan.

Sampel	Minggu ke- (pH)				
	0	1	2	3	4
GM	6,64	6,68	7,17	7,56	7,59
GMV	7,44	7,08	7,17	7,54	7,1
GUS	6,73	7,35	7,52	7,47	7,08
GFU	6,54	7,09	7,52	7,45	7,64
GTE	6,09	4,32	4,39	4,27	4,41
GTA	6,15	4,19	5,18	4,51	3,79

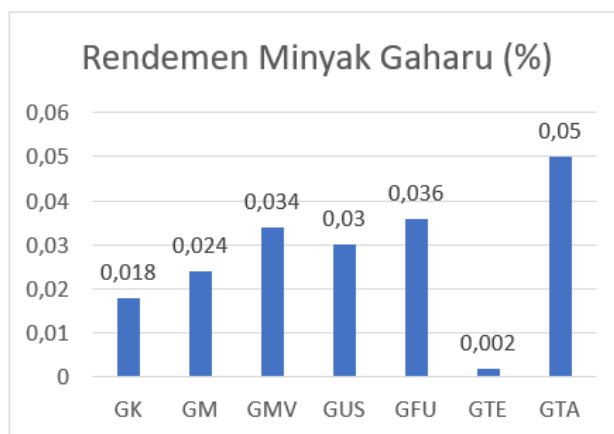
Keterangan: GM: praperlakuan maserasi; GMV: praperlakuan menggunakan *microwave*; GUS: praperlakuan menggunakan ultrasonik, GFU: praperlakuan fermentasi menggunakan *Fusarium* sp.; GTE: praperlakuan fermentasi menggunakan ragi tempe, GTA: praperlakuan fermentasi menggunakan ragi tapai.

Hasil pengukuran pH rendaman sampel menggunakan praperlakuan maserasi, *microwave*, ultrasonik dan fermentasi menggunakan *Fusarium* sp. menunjukkan bahwa kondisi pHnya condong ke arah basa. Seharusnya kultur *Fusarium* menjadi lebih asam karena kultur tersebut akan menghasilkan asam-asam organik seperti asam sitrat, asam tartarat, asam suksinat tergantung kandungan mineral dari medianya (Bhattacharjee et al., 2023). Fermentasi dengan menggunakan mikroba ragi tapai dan ragi tempe cenderung berada pada kondisi asam oleh karena terjadi pelepasan asam-asam organik ke lingkungan kultur yang mengakibatkan terjadinya penurunan pH (Ary Yusen Pratama and Rima Nur Febriani, 2013; Mohamed and Yusof, 2021). Praperlakuan dengan perendaman menunjukkan terjadi peningkatan pH rendaman serbuk gaharu pada minggu ke-2, 3, dan 4. Peningkatan pH pada rendaman gaharu erat kaitannya dengan pembentuk basa dari mineral seperti ion K^+ atau Na^+ yang berinteraksi dengan ion hidroksi dari air (Jok, Che Radzi and Ku Hamid, 2014).

Rendemen minyak atsiri gaharu

Pembentuk resin gaharu terjadi pada *interxylary phloem* dan jari-jari *xylem* (Liu *et al.*, 2019). Proses pembentukan resin ini berasal dari butir pati (*starch grain*) sel parenkim yang menghasilkan produk intermediet fenol dan polisakarida sebelum terbentuk resin gaharu. Adanya proses praperlakuan menyebabkan proses ekstraksi minyak atsiri gaharu dengan hidrodistilasi lebih mudah dan cepat. Proses hidrodistilasi merupakan proses ekstraksi minyak atsiri menggunakan pemanasan yang mengakibatkan minyak atsiri menguap bersama air. Jika proses penguapan itu terhalang oleh sel-sel kayu tentunya minyak atsiri akan tertahan dan tidak berhasil disuling. Proses praperlakuan yang dilakukan merupakan bagian dari upaya untuk menghilangkan hambatan tersebut selama proses hidrodistilasi sehingga rendemennya dapat diperoleh lebih tinggi.

Hasil perhitungan rendemen (b/b, w/w) dari berbagai praperlakuan dalam kajian kali ini dapat dilihat pada Gambar 1 yang menunjukkan bahwa praperlakuan dapat mempengaruhi rendemen minyak atsiri gaharu berturut-turut dari yang tertinggi yakni menggunakan ragi tapai (0,050%), fermentasi menggunakan *Fusarium sp.* (0,036%), penggunaan *microwave* (0,034%), *Fusarium sp.* (0,030%), maserasi (0,024%), kontrol (0,018) dan ragi tempe (0,002). Hasil ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa praperlakuan dapat meningkatkan rendemen minyak gaharu seperti yang dilaporkan sebelumnya untuk praperlakuan (Navarrete *et al.*, 2011; Radzi and Kasim, 2020; Defiza *et al.*, 2023), ultrasonikasi dari kulit jeruk (Yu *et al.*, 2021), dan penggunaan ragi tapai (Fauziah, Satria and Yuniarti, 2022). Praperlakuan menggunakan ragi tempe ternyata sebaliknya, rendemennya menjadi lebih rendah dibandingkan dengan kontrol menyarankan kemungkinan ada mikroorganisme tertentu dalam tempe yang dapat menurunkan rendemen minyak gaharu.



Gambar 1. Rendemen minyak gaharu hasil hidrodistilasi dengan berbagai praperlakuan. Keterangan: GK: kontrol tanpa praperlakuan. GM: praperlakuan maserasi; GMV: praperlakuan menggunakan *microwave*; GUS: praperlakuan menggunakan ultrasonik, GFU: praperlakuan fermentasi menggunakan *Fusarium sp.*; GTE: praperlakuan fermentasi menggunakan ragi tempe, GTA: praperlakuan fermentasi menggunakan ragi tapai.

Praperlakuan menggunakan ragi tapai memperlihatkan hasil tertinggi rendemen hidrodistilasi minyak gaharu dibandingkan yang lain. Ragi tapai dalam hal ini dapat membuat serbuk kayu menjadi lebih lunak karena adanya kemampuan amilolitik dari mikroba-mikroba yang ada pada ragi tersebut seperti *Aspergillus oryzae*, *Saccharomyces cerevisiae* (Yamane *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2016). Proses fermentasi dapat meningkatkan rendemen minyak gaharu mungkin erat kaitannya dengan penghancuran dinding sel lignoselulosa secara enzimatik (Dörsam *et al.*, 2017). Dinding sel kayu gaharu dapat menjadi *carbon source* bagi *Fusarium sp.* (Ali *et al.*, 2016; Dörsam *et al.*, 2017) dan ragi tapai karena *Fusarium* juga yang memiliki kemampuan memetabolisme selulosa dan lignin (Hikam, Yulianti and Ginanjar, 2021) sehingga membantu membuat kayu menjadi lunak dan menyebabkan minyak atsiri lepas ke air dan menguap bersama uap air dalam proses hidrodistilasi. Rendemen yang diperoleh dari praperlakuan *Fusarium* kali ini hasilnya lebih rendah dari penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa perbedaan sampel gaharu yang digunakan akan memengaruhi rendemen hidrodistilasi (Defiza *et al.*,

2024).

Penggunaan ragi tempe dalam proses praperlakuan menunjukkan bahwa terjadi penurunan rendemen minyak gaharu dibandingkan dengan kontrol. Penurunan rendemen ini boleh jadi ada kaitannya dengan komposisi mikroba yang ada pada ragi tempe yang dapat mengakibatkan degradasi senyawa-senyawa atsiri yang dalam hal ini khususnya dari seskuiterpen. Ragi tempe yang ada di pasaran secara umum terdiri dari *Rhizopus* yang khususnya dari Jawa teridentifikasi sebagai *R. arrhizus*, *R. delemar*, dan *R. microsporus* (Sjamsuridzal *et al.*, 2021). Tidak hanya *Rhizopus*, ragi tempe tentu saja mengandung mikroba-mikroba lain yang boleh jadi berperan mendegradasi minyak atsiri tersebut. Praperlakuan lain dengan perendaman merupakan metode klasik untuk meningkatkan rendemen minyak gaharu. Meskipun tidak ada mikroba yang dimasukkan ke dalam rendaman, secara alamiah mikroba tertentu akan hidup jika lingkungan dan nutrisinya sesuai. Oleh karena itu proses perendaman boleh dikatakan sebagai fermentasi alami yang dalam hal ini rendemennya masih lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa praperlakuan sama sekali.

Proses praperlakuan menggunakan *microwave* dan ultrasonik juga dapat meningkatkan rendemen minyak gaharu jika dibandingkan dengan kontrol. Praperlakuan dengan menggunakan gelombang mikro dapat mendorong proses pemecahan dinding sel melalui getaran gelombang mikro (Veggi, Martinez and Meireles, 2013), sedangkan penggunaan ultrasonik mengakibatkan kerusakan tekstur sistim seluler sehingga dapat meningkatkan penetrasi cairan pelarut ke dalam membran (Liu *et al.*, 2019). Temuan ini juga konsisten dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa penggunaan gelombang mikro (*microwave*) (Taharuddin, Yusuf and Dewi, 2020), dan ultrasonik (Yu *et al.*, 2021) dapat meningkatkan proses ekstraksi minyak atsiri dibandingkan dengan kontrol.

Hasil kajian ini menunjukkan bahwa praperlakuan perendaman, menggunakan mikroba (ragi tapai, *Fusarium* sp.) dan fisika (*microwave*, ultrasonik) dapat meningkatkan rendemen minyak gaharu dibandingkan dengan kontrol. Metode praperlakuan menggunakan mikroba di atas, akan lebih praktis digunakan oleh penyuling dengan skala UMKM dibandingkan dengan menggunakan alat-alat seperti *microwave* dan ultrasonik.

Komponen volatil minyak gaharu

Komponen-komponen yang ada pada minyak atsiri gaharu dianalisa menggunakan GCMS. Adapun hasil analisa yang diambil adalah yang memiliki nilai quality $\geq 80\%$ dan minimal 0.1% persentase kadar relatif sebagaimana yang disarankan pada kajian sebelumnya (Jok, Radzi and Hamid, 2015).

Bau harum yang muncul pada minyak gaharu tak lepas dari kontribusi senyawa-senyawa *volatile* (mudah menguap) seperti seskuiterpenoid yang terdeteksi menggunakan GCMS. Komponen-komponen senyawa-senyawa terpen yang ada pada gaharu, juga bisa dijumpai pada spesies tanaman lain yang menandakan bahwa senyawa-senyawa terpen ini penting dalam evolusi tumbuhan mulai dari tingkat rendah sampai tinggi bahkan sampai kepada mikroba (Avalos *et al.*, 2022; Hoshino, 2024). Aktivitas-aktivitas biologis komponen *volatile* seperti antimikroba seskuiterpen lumut hati (Komala *et al.*, 2010), antiviral dan antimalaria telah dilaporkan dalam berbagai penelitian sebelumnya. Pada penelitian ini, meskipun rendemen minyak atsiri dari tempe itu rendah, ternyata jumlah senyawa terpen yang dihasilkan justru tinggi (21 senyawa), kemudian, maserasi (19), fermentasi menggunakan *Fusarium* sp. (16), *microwave* (15), fermentasi menggunakan ragi tapai (15), ultrasonik (12), dan kontrol (10). Beragamnya kandungan seskuiterpenoid dari senyawa dari fermentasi ragi tempe mungkin ada kaitan dengan kemampuan ragi tersebut melakukan biotransformasi senyawa-senyawa yang terkandung pada serbuk gaharu.

Hasil dari analisis GCMS menunjukkan bahwa ada enam senyawa yang konsisten dijumpai pada setiap perlakuan yakni α -agarofuran, *neoisolongifolene*, α -santalol, δ -guaiene, dihydrocolumellarin, dan *hexadecanoic acid*. Senyawa α -agarofuran yang muncul dalam analisis GCMS kajian ini juga dilaporkan konsisten muncul pada gaharu yang berasal dari Vietnam (*A. crassna*), Indonesia, Malaysia,

Myanmar, dan Kamboja (Ma *et al.*, 2021). Senyawa α -santalol yang terdeteksi dalam kajian ini konsisten dengan laporan sebelumnya untuk gaharu dari Indonesia (Faizal *et al.*, 2017), pada laporan yang sama hanya terdapat pada gaharu dari Vietnam dan Myanmar (Ma *et al.*, 2021), menyarankan bahwa keragaman komponen senyawa gaharu bisa bervariasi satu sama lainnya. walaupun berbeda lokasi dan spesies. Senyawa *dihydrocolumellarin* belum pernah dilaporkan pada penelitian sebelumnya terdapat pada *Aquilaria* ataupun *Gyrinops*. Adapun senyawa α -agarofuran, γ -guaiene, dan α -santalol dilaporkan dijumpai juga pada *A. crassna* di kawasan Vietnam (Jung and Lee, 2022) dan asam hexadecanoic acid dilaporkan pada *A. sinensis* dari Vietnam (Wang *et al.*, 2018). Senyawa *dihydrocolumellarin* dan *longifolene* terdeteksi pada *Aquilaria* di Malaysia (Sun *et al.*, 2020).

Senyawa monoterpen ocimene dijumpai pada sampel dengan praperlakuan maserasi (GM), *Fusarium* sp. (GFU) dan kontrol saja. Ada dua senyawa khas dari gaharu yakni kelompok seskuiterpen dan senyawa-senyawa turunan 2-(2-phenylethyl)chromone (Liao *et al.*, 2016), namun senyawa dari *chromone* ini tidak terdeteksi pada semua perlakuan yang menunjukkan bahwa gaharu yang digunakan berkualitas kemedangan. Akan tetapi dideteksi senyawa N-(chroman-7-yl)acetamide pada praperlakuan ragi tapai yang senyawa ini belum pernah dilaporkan diproduksi secara alamiah oleh tumbuhan. Keberadaan senyawa tersebut terjadi bisa diakibatkan karena proses biotransformasi yang disebabkan oleh enzim-enzim yang terdapat ragi tempe atau kontaminan dari ragi tempe tersebut. Kajian lebih lanjut diperlukan untuk memastikan mekanisme terjadinya senyawa tersebut.

Tabel 2. Komponen-komponen minyak gaharu yang konsisten muncul pada seluruh praperlakuan gaharu

Senyawa	Persentase Relatif Area (%)						
	GK	GM	GMV	GUS	GFU	GTE	GTA
α -Agarofuran	1,55	1,42	1,13	1,55	1,45	1,53	1,17
Neoisolongifolene	6,34	7,64	5,97	6,53	6,96	8,75	8,56
α -Santalol	0,98	1,59	1,79	1,58	1,06	0,87	1,48
δ -Guaiene	1,93	1,69	1,96	1,6	1,7	0,48	4,8
Dihydrocolumellarin	8,78	7,88	7,28	5,52	7,87	7,83	7,68
Hexadecanoic acid	3,29	3,24	7,76	5,04	6,57	3,68	8,49

Keterangan: GK: kontrol tanpa praperlakuan, GM: praperlakuan maserasi; GMV: praperlakuan menggunakan *microwave*; GUS: praperlakuan menggunakan, GFU: praperlakuan fermentasi menggunakan *Fusarium* sp.; GTE: praperlakuan fermentasi menggunakan ragi tempe, GTA: praperlakuan fermentasi menggunakan ragi tapai.

Senyawa-senyawa dari asam-asam lemak juga terdeteksi pada minyak gaharu, ada tiga jenis yang terdeteksi yakni asam tetradekanoat (*tetradecanoic acid*), asam heksadekanoat, dan asam oleat sebagaimana pada Tabel 3. Aktivitas dari lipase mikroorganisme ini dapat menyebabkan terjadinya hidrolisis trigliserida dan membentuk asam lemak bebas (Chandra *et al.*, 2020). Praperlakuan menggunakan ragi tapai menunjukkan hasil yang tinggi. Keberadaan mikroba seperti *Rhizopus*, *Aspegillus*, *Lactobacillus*, dan *Fusarium* dalam fermentasi serbuk gaharu tentu saja ada andilnya terhadap peningkatan jumlah asam lemak pada minyak gaharu (Hasan, Shah and Hameed, 2006), terkecuali dalam hal ini pada ragi tempe. Proses pembebasan asam lemak juga bisa terjadi dengan menggunakan praperlakuan cara fisika (*microwave* dan ultrasonik) yang hasilnya juga lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol dengan mekanisme yang berbeda. Teknik *microwave* menyebabkan terjadinya pemanasan yang cepat yang diiringi dengan kerusakan sel-sel tanaman sehingga mengakibatkan terjadinya pelepasan komponen-komponen dari sistim seluler (Chemat *et al.*, 2019). Sementara itu ultrasonik bekerja dengan cara deteksturasi matriks tanaman sehingga terjadi peningkatan pelepasan massa dari sistim seluler.

Asam tetradekanoat dilaporkan juga dijumpai pada gaharu dari spesies *Gyrinops walla* di India (Subasinghe, 2014). Asam heksadekanoat konsisten muncul dalam setiap perlakuan juga telah dilaporkan terdeteksi pada *A. crassna* (Ngan *et al.*, 2020), *A. sinensis* (Wang *et al.*, 2018), daun *A. malaccensis* dari Indonesia (Misrahanum, Zahira and Saidi, 2022) dan Malaysia (Zainurin *et al.*, 2018).

Tabel 3. Perbandingan kandungan asam lemak minyak gaharu dengan berbagai praperlakuan

Asam Lemak	Persentase Relatif Area (%)						
	GK	GM	GMV	GUS	GFU	GTE	GTA
Tetradecanoid acid							2,15
Hexadecanoic acid	3,92	3,24	7,76	5,04	6,57	3,68	8,49
Oleic acid	1,72		1,85		1,4		1,32
Octadecanoic acid				1,23			

Keterangan: GK: kontrol tanpa praperlakuan, GM: praperlakuan maserasi; GMV: praperlakuan menggunakan *microwave*; GUS: praperlakuan menggunakan ultrasonik, GFU: praperlakuan fermentasi menggunakan *Fusarium* sp.; GTE: praperlakuan fermentasi menggunakan ragi tempe, GTA: praperlakuan fermentasi menggunakan ragi tapai.

Hasil uji hedonik minyak gaharu dari berbagai praperlakuan

Uji hedonik dilakukan untuk mengetahui apakah perbedaan praperlakuan akan mengakibatkan terjadinya perbedaan kesukaan responden terhadap variasi praperlakuan minyak gaharu. Hasil yang diperoleh ternyata uji hedonik dengan ANOVA tidak menunjukkan hasil yang signifikan yakni 0,086 yang artinya nilai tersebut besar dari 0,05. Hal tersebut menyarankan bahwa praperlakuan tidak mengakibatkan terjadinya perbedaan kesukaan pada responden. Tentu saja ini berarti bahwa variasi praperlakuan tidak mempengaruhi kualitas aroma dari minyak gaharu itu sendiri. Ketika dilanjutkan dengan Post Hoc Test Duncan, ternyata praperlakuan dengan menggunakan ragi tapai lebih disukai oleh responden. Responden memberikan tanggapan bahwa aromanya meskipun sedikit berbau asam tapi memiliki aroma manis ketika dibiarkan beberapa lama.

4. KESIMPULAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa bahwa praperlakuan menggunakan *microwave*, ultrasonik, fermentasi dengan menggunakan *Fusarium* sp., dan ragi tapai dapat meningkatkan rendemen hidrodistilasi minyak gaharu tanpa kehilangan kualitas aromanya setelah diuji hedonik. Meskipun tidak memengaruhi aroma, penggunaan ragi tempe dapat menurunkan rendemen minyak gaharu. Senyawa yang paling beragam dijumpai pada minyak gaharu dengan praperlakuan menggunakan ragi tempe. Penelitian berikutnya disarankan untuk menggunakan sampel yang lebih besar dan berasal dari wilayah lain di Indonesia agar diperoleh data yang lebih mewakili secara nasional. Aroma minyak gaharu fermentasi beraroma sedikit asam ketika pertama kali dicium, oleh karena itu disarankan juga dilakukan modifikasi perlakuan untuk gaharu fermentasi agar aromanya menjadi lebih baik.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini disokong oleh Travel Grant BOPTN LP2M UIN Syarif Hidayatullah Jakarta Tahun Anggaran 2023 atas nama Hendri Aldrat. Terima kasih kepada Bapak Dr. Soekamto atas pemberian biakan *Fusarium* sp. Terima kasih kepada Walid Rumbat atas bantuan pengukuran GCMS di Lab Farmasi FIKES UINJKT. Terima kasih diucapkan kepada Bapak Habib Budi Alim dari Palembang untuk sampel gaharunya.

6. REFERENSI

Ali, S.S. *et al.* (2016) 'Fungal-mediated consolidated bioprocessing: the potential of *Fusarium oxysporum* for the lignocellulosic ethanol industry', *AMB Express*. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13568-016-0185-0>.

- Ary Yusen Pratama and Rima Nur Febriani, dan S.G. (2013) 'Pengaruh Ragi Roti, Ragi Tempe, dan Lactobacillus Plantarum terhadap Total Asam Laktat dan pH pada Fermentasi Singkong', *Jurnal Teknik Pomits*, Vol. 2, No(1).
- Avalos, M. *et al.* (2022) 'Biosynthesis, evolution and ecology of microbial terpenoids', *Natural Product Reports*. Available at: <https://doi.org/10.1039/d1np00047k>.
- Bhattacharjee, A. *et al.* (2023) 'Fungal organic acid uptake of mineral-derived K is dependent on distance from carbon hotspot', *mBio*, 14(5). Available at: <https://doi.org/10.1128/MBIO.00956-23>.
- Chandra, P. *et al.* (2020) 'Microbial lipases and their industrial applications: A comprehensive review', *Microbial Cell Factories*. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01428-8>.
- Chemat, F. *et al.* (2019) 'Review of alternative solvents for green extraction of food and natural products: Panorama, principles, applications and prospects', *Molecules*. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules24163007>.
- Chen, X. *et al.* (2022) 'Chemical Composition and Potential Properties in Mental Illness (Anxiety, Depression and Insomnia) of Agarwood Essential Oil: A Review', *Molecules*, 27(14), p. 4528. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules27144528>.
- Defiza, D. *et al.* (2023) 'Pengaruh Pretreatment Microwave Terhadap Rendemen dan Profil Kimiawi Minyak Gaharu Aquilaria Sp.', *Jurnal Farmasi Higea*, 15(2). Available at: <https://doi.org/10.52689/higea.v15i2.555>.
- Defiza, D. *et al.* (2024) 'Pengaruh Praperlakuan Fermentasi Fusarium terhadap Rendemen dan Profil Kimia Hidrodistilasi Minyak Gaharu', *Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal (PBSJ)*, 6(2), pp. 108–117. Available at: <https://doi.org/10.15408/pbsj.v6i2.42108>.
- Dörsam, S. *et al.* (2017) 'Sustainable carbon sources for microbial organic acid production with filamentous fungi', *Biotechnology for Biofuels*, 10(1). Available at: <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0930-x>.
- Faizal, A. *et al.* (2017) 'Formation of agarwood from Aquilaria malaccensis in response to inoculation of local strains of Fusarium solani', *Trees - Structure and Function*, 31(1), pp. 189–197. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00468-016-1471-9>.
- Fauziah, D.R., Satria, A.W. and Yuniarti, R. (2022) 'Studi Kinetika Ekstraksi Minyak Gaharu dengan Kombinasi Fermentasi', *Jurnal Integrasi Proses*, 11(2). Available at: <https://doi.org/10.36055/jip.v11i2.14640>.
- Hai, L.H., Truc, L.M.X. and Trung, N.Q. (2021) 'Evaluation of a Method of Separating Agarwood Absolute from Aquilaria crassna Pulp by Soxhlet and Soaking for Fixative Substance in Blending Fragrance', *Asian Plant Research Journal* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.9734/aprj/2021/v7i330156>.
- Hardiansyah, Afghani, J. and Arreneuz, S. (2015) 'Fermentasi Serbuk Kayu Aquilaria sp Menggunakan Kapang Fusarium sp', *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(4), pp. 41–44. Available at: <http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/11349/10757>.
- Hasan, F., Shah, A.A. and Hameed, A. (2006) 'Industrial applications of microbial lipases', *Enzyme and Microbial Technology*, 39(2). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.016>.
- Hikam, A.R., Yulianti, D.M. and Ginanjar, R.R. (2021) 'Diversitas dan Potensi Jamur Lignolitik Asal Seresah Daun', *Al-Hayat: Journal of Biology and Applied Biology*, 4(1). Available at: <https://doi.org/10.21580/ah.v4i1.7017>.
- Hoshino, Y. (2024) 'Terpenoids and membrane dynamics evolution', *Frontiers in Ecology and Evolution*. Available at: <https://doi.org/10.3389/fevo.2024.1345733>.
- Jabbar, A., Jayuska, A. and Burhanuddin (2015) 'PENGARUH FERMENTASI Rhizopus sp . TERHADAP SENYAWA SESKUITERPENA pada kayu Gaharu Aquilaria malaccensis', *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(2).
- Jok, V.A., Che Radzi, H. and Ku Hamid, K.H. (2014) 'Effect of Soaking on the Temperature and Ph Profiles in Agarwood Extraction', *International Journal of Latest Research in Science and Technology*, 3(6), pp. 111–113.
- Jok, V.A., Radzi, N.C. and Hamid, K.H.K. (2015) 'Agarwood Oil Yield As A Result of Changes in Cell Morphology Due To Soaking Process', *Procedia - Social and Behavioral Sciences*, 195. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.06.387>.

- Jung, K.H. and Lee, K.-J. (2022) 'A Comparative Analysis of the Volatile Components of Agarwood from Vietnam and other Regions', *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 20(4). Available at: <https://doi.org/10.20402/ajbc.2022.0076>.
- Komala, I. *et al.* (2010) 'Volatile components of selected liverworts, and cytotoxic, radical scavenging and antimicrobial activities of their crude extracts', *Natural Product Communications*, 5(9). Available at: <https://doi.org/10.1177/1934578x1000500908>.
- Liao, G. *et al.* (2016) '2-(2-Phenylethyl)chromone derivatives in artificial agarwood from *Aquilaria sinensis*.', *Fitoterapia*, pp. 38–43. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.01.011>.
- Liu, P. *et al.* (2019) 'Interxylary phloem and xylem rays are the structural foundation of agarwood resin formation in the stems of *Aquilaria sinensis*', *Trees - Structure and Function*, 33(2). Available at: <https://doi.org/10.1007/s00468-018-1799-4>.
- Liu, Y. *et al.* (2013) 'Whole-tree agarwood-inducing technique: An efficient novel technique for producing high-quality agarwood in cultivated *Aquilaria sinensis* trees', *Molecules*, 18(3), pp. 3086–3106. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules18033086>.
- Liu, Z. *et al.* (2016) 'Engineering of a novel cellulose-adherent cellulolytic *Saccharomyces cerevisiae* for cellulosic biofuel production', *Scientific Reports*, 6. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep24550>.
- López-Sampson, A. and Page, T. (2018) 'History of Use and Trade of Agarwood', *Economic Botany*, 72(1), pp. 107–129. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12231-018-9408-4>.
- Ma, S. *et al.* (2021) 'Comparative analysis of biological activity of artificial and wild agarwood', *Forests*, 12(11). Available at: <https://doi.org/10.3390/f12111532>.
- Misrahanum, M., Zahira, C.A.D. and Saidi, N. (2022) 'Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria Malaccensis* Lamk.) Dan Identifikasi Senyawa Dengan Metode GC-MS', *Jurnal Pharmascience*, 9(2). Available at: <https://doi.org/10.20527/jps.v9i2.13803>.
- Mohamed, H.N. and Yusof, N.A.I. (2021) 'Identification of volatile flavor compounds in fermented glutinous rice (Tapai) using gas chromatography', in *AIP Conference Proceedings*. Available at: <https://doi.org/10.1063/5.0062351>.
- Navarrete, A. *et al.* (2011) 'Improvement of essential oil steam distillation by microwave pretreatment', *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 50(8), pp. 4667–4671. Available at: <https://doi.org/10.1021/ie102218g>.
- Ngan, T.T.K. *et al.* (2020) 'Chemical Components of Agarwood (*Aquilaria crassna*) Essential Oils Grown in Various Regions of Asia', *Asian Journal of Chemistry*, 32(1). Available at: <https://doi.org/10.14233/ajchem.2020.22177>.
- Peeraphong, L. (2021) 'Medicinal uses of agarwood', *Chinese Medicine and Culture*. Available at: https://doi.org/10.4103/CMAC.CMAC_43_21.
- Radzi, N.C. and Kasim, F.A. (2020) 'Effect of microwave pretreatment on gaharu essential oil using hydrodistillation method', *Indonesian Journal of Chemistry*, 20(4), pp. 960–966. Available at: <https://doi.org/10.22146/ijc.43191>.
- Sjamsuridzal, W. *et al.* (2021) 'The effect of the use of commercial tempeh starter on the diversity of *Rhizopus* tempeh in Indonesia', *Scientific Reports*, 11(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-03308-6>.
- Subasinghe, S.M.C.U.P. (2014) 'Agarwood Production in *Gyrinops walla* (Walla patta) Myths and Reality', *Proceedings of International Forestry and Environment Symposium*, 18(0). Available at: <https://doi.org/10.31357/fesympo.v18i0.1925>.
- Sun, Y.-A. *et al.* (2020) 'Determination and comparison of agarwood from different origins by comprehensive two-dimensional gas chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry.', *Journal of separation science*, pp. 1284–1296. Available at: <https://doi.org/10.1002/jssc.201901008>.
- Taharuddin, T., Yusuf, M. and Dewi, K.F. (2020) 'Pengaruh Penggunaan Microwave Sebagai Pretreatment Daging Buah Pala Pada Penyulingan Minyak Atsiri Dengan Metode Distilasi Uap Air', *Journal of Chemical Process Engineering*, 5(1), pp. 69–75. Available at: <https://doi.org/10.33536/jcpe.v5i1.367>.

- Thompson, I.D., Lim, T. and Turjaman, M. (2022) *Expensive, Exploited and Endangered. A review of the agarwood-producing genera Aquilaria and Gyrinops: CITES considerations, trade patterns, conservation, and management*. Yokohama.
- Umar, M.I. *et al.* (2012) 'Bioactivity-guided isolation of ethyl-p-methoxycinnamate, an anti-inflammatory constituent, from *Kaempferia galanga* L. extracts', *Molecules*. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules17078720>.
- Veggi, P.C., Martinez, J. and Meireles, M.A.A. (2013) *Fundamentals of microwave extraction, Food Engineering Series*. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4614-4830-3_2.
- Wang, M.R. *et al.* (2018) 'GC-MS study of the chemical components of different *aquilaria sinensis* (lour.) gilgorgans and agarwood from different asian countries', *Molecules*, 23(9). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules23092168>.
- Xie, C. *et al.* (2024) 'Pharmacology and therapeutic potential of agarwood and agarwood tree leaves in periodontitis', *Frontiers in Pharmacology*, 15. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1468393>.
- Yamane, Y.I. *et al.* (2002) 'Properties of cellulose-degrading enzymes from *Aspergillus oryzae* and their contribution to material utilization and alcohol yield in sake mash fermentation', *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 93(5). Available at: [https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(02\)80095-0](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(02)80095-0).
- Yu, F. *et al.* (2021) 'Effects of ultrasound and microwave pretreatments on hydrodistillation extraction of essential oils from Kumquat peel', *Food Science and Nutrition*, 9(5). Available at: <https://doi.org/10.1002/fsn3.2073>.
- Zainurin, N.A.A. *et al.* (2018) 'Agarwood Leaf essential oil characterization and effects on MCF-7 breast cancer cells', *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 8(4–2). Available at: <https://doi.org/10.18517/ijaseit.8.4-2.7034>.