

**UJI AKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN DARI
EKSTRAK MINYAK BEKATUL BERAS KETAN HITAM
(*Oryza sativa* Glutinosa)**

SKRIPSI

Oleh:
**MUH. IQBAL
NIM. 11630002**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2016**

**UJI AKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN DARI
EKSTRAK MINYAK BEKATUL BERAS KETAN HITAM
(*Oryza sativa* Glutinosa)**

SKRIPSI

Oleh:

**MUH. IQBAL
NIM. 11630002**

Diajukan Kepada:

**Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2016**

**UJI AKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN DARI
EKSTRAK MINYAK BEKATUL BERAS KETAN HITAM
(*Oryza sativa* Glutinosa)**

SKRIPSI

Oleh:
MUH. IQBAL
NIM. 11630002

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 07 Januari 2015

Pembimbing I

Pembimbing II

Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19770720 200312 2 001

Nur Aini, M.Si
NIPT. 20130902 2 316

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

Elok Kamilah Hayati, M.Si

NIP. 19790620 200604 2 002
**UJI AKTIVITAS DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN DARI
EKSTRAK MINYAK BEKATUL BERAS KETAN HITAM
(*Oryza sativa* Glutinosa)**

SKRIPSI

Oleh:
**MUH. IQBAL
NIM. 11630002**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 07 Januari 2016

Penguji Utama : Eny Yulianti, M.Si (.....)
NIP. 19760611 200501 2 006
Ketua Penguji : Anik Maunatin, S.T, M.P (.....)
NIPT. 20140201 2 412
Sekretaris Penguji : Akyunul Jannah, S.Si, M.P (.....)
NIP. 19770720 200312 2 001
Anggota Penguji : Nur Aini, M.Si (.....)
NIPT. 20130902 2 316

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

SURAT PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Muh. Iqbal

NIM : 11630002

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Uji Aktivitas dan Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Minyak Bekatul Beras Ketan Hitam (*Oryza sativa* Glutinosa)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 08 Januari 2016
Yang Membuat Pernyataan,

Muh Iqbal
NIM. 11630002

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada hamba-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir (skripsi) yang berjudul “ **Uji Aktivitas Dan Identifikasi Senyawa Antioksidan Dari Ekstrak Minyak Bekatul Beras Ketan Hitam (Oriza Sativa Glutinosa)**” dengan tepat waktu, walaupun masih jauh dari kesempurnaan. Shalawat dan salam tak lupa penulis sampaikan kepada junjungan nabi Muhammad SAW serta keluarga, sahabat dan para pengikutnya yang setia hingga akhir zaman, karenanya mendapat pencerahan menuju jalan yang lurus dan jalan yang diridhoi.

Selama proses menyelesaikan tugas akhir ini, penulis mengerjakan dengan semaksimal mungkin dan tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Maka penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini kepada :

1. Bapak Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Hj. Bayyinatul M. drh, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Akyunul Jannah, S.Si., M.P selaku dosen pembimbing Utama, Ibu Anik Maunatin, S.T., M.P selaku konsultan, Ibu Nur Aini, M.Si selaku

dosen pembimbing agama dan Ibu Eny Yulianti, M.Si selaku penguji utama, yang telah memberikan bimbingan, saran, serta motivasi yang membangun dan sangat bermanfaat bagi penulis.

5. Seluruh dosen dan laboran Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, pengalaman wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
6. Bapak dan Ibu serta keluarga besar penulis tercinta yang selalu senantiasa terucap dengan panjatan doa.
7. Seluruh Pengasuh, teman-teman musrif/ah Ma, had Sunan Ampel Al-ali dan rekan-rekan mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, khususnya angkatan 2011 yang telah memberikan semangat, motivasi, wawasan baru dan pengalaman yang tak pernah terlupakan..

Penyusun menyadari bahwa masih banyak terdapat kekurangan dalam penyusunan tugas akhir ini. Namun demikian dengan segala keterbatasan dan kemampuan yang ada, penulis telah berusaha untuk menyelesaikan tugas akhir dengan sebaik-baiknya. Akhir kata semoga tugas akhir ini dapat diambil manfaatnya oleh semua pihak, khususnya bagi pembaca.

Amin Ya Rabbal Alamin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Malang, 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
ABSTRACT	xiii
المخلص	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Pemanfaatan Bekatul dalam Perspektif Islam	8
2.2 Bekatul	8
2.1.1 Definisi	8
2.3 Ekstraksi Minyak dengan Metode Maserasi	10
2.4 Antioksidan	14
2.4.1 Klasifikasi Antioksidan	14
2.4.2 Mekanisme Kerja Antioksidan	16
2.5 Radikal Bebas	17
2.6 Uji Aktivitas Antioksidan	18
2.7 Hidrolisis Asam Lemak	21
2.8 Esterifikasi Asam Lemak	23
2.9 Kromatografi Gas-Spektrofotometri Massa (KG-MS)	24
BAB III METODOLOGI	32
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	32
3.2 Alat dan Bahan	32
3.2.1 Alat	32
3.2.2 Bahan	32
3.3 Rancangan Penelitian	32
3.4 Tahapan Penelitian	34
3.5 Pelaksanaan Penelitian	34
3.5.1 Preparasi Sampel	34
3.5.2 Ekstraksi Minyak Bekatul Menggunakan Metode Maserasi	34
3.5.3 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH	35
3.5.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	35

3.5.3.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel.....	35
3.5.4 Identifikasi Senyawa Asam lemak	36
3.5.4.1 Hidrolisis Minyak Bekatul	36
3.5.4.2 Esterifikasi Asam Lemak	37
3.5.4.3 Identifikasi Senyawa dengan KG-SM	37
3.5.5 Analisis Data	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	39
4.1 Preparasi Sampel	39
4.2 Ekstraksi Minyak Bekatul Beras ketan hitam	40
4.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH	43
4.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	43
4.3.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan	44
4.4 Identifikasi Senyawa antioksidan dalam minyak	46
4.4.1 Hidrolisis Minyak bekatul beras ketan hitam	47
4.4.2 Esterifikasi Asam lemak Minyak bekatul	51
4.4.3 Identifikasi Senyawa dengan KG-SM	53
4.5 Pemanfaatan bekatul dalam prespektif islam	55
BAB V PENUTUP	59
5.1 Kesimpulan	59
5.2 Saran	59
DAFTAR PUSTAKA	60

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Ketentuan kekuatan antioksidan	20
Tabel 4.1 Rendemen minyak Bekatul beras ketan hitam	42
Tabel 4.2 Hasil persentase antioksidan	46
Tabel 4.3 Hasil Hasil metil ester	54

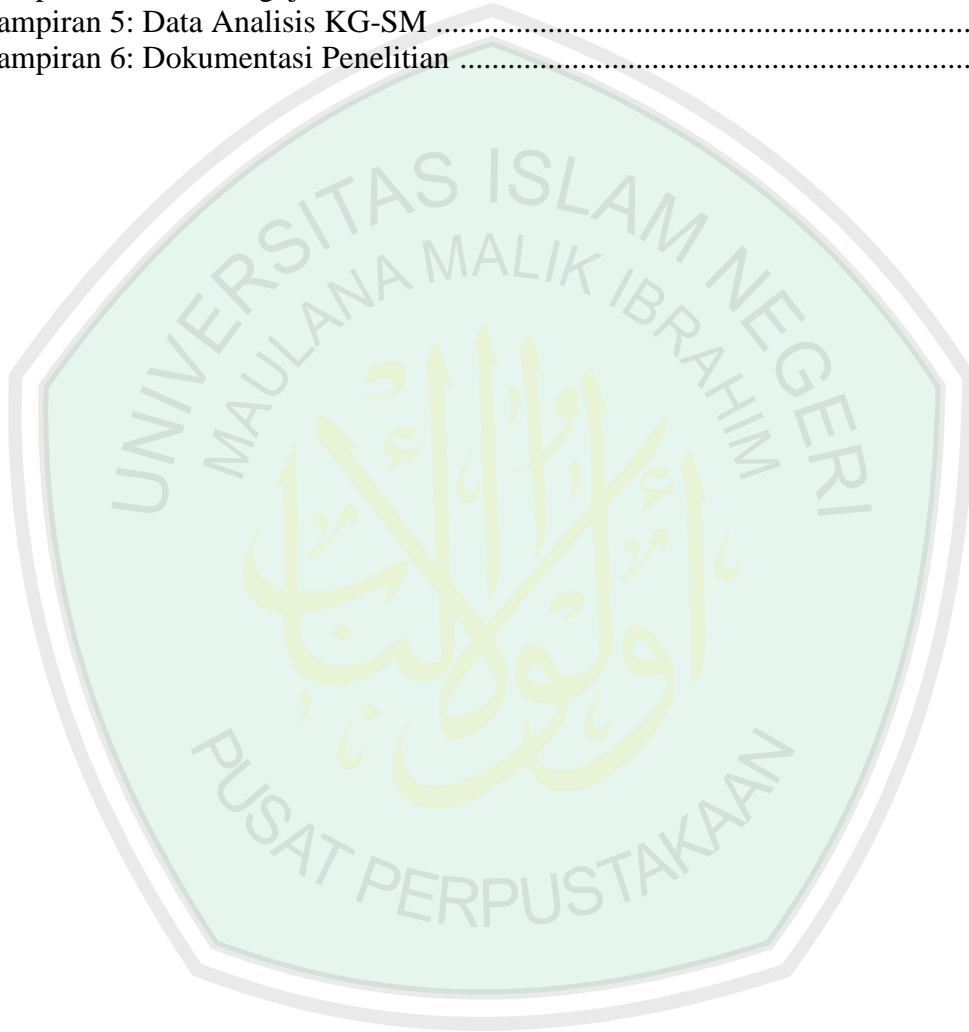


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bekatul	9
Gambar 2.2 Asam askorbat	15
Gambar 2.3 <i>Butylated hydroxytoluene</i> (BHT)	15
Gambar 2.4 Reaksi Mekanisme Penghambatan Antioksidan Terhadap Radikal.....	16
Gambar 2.5 Reaksi antara Radikal Bebas Membentuk Kompleks Bukan Radikal ...	16
Gambar 2.6 Resonansi DPPH	18
Gambar 2.7 Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan	19
Gambar 2.8 Struktur Umum Asam Lemak	21
Gambar 2.9 Reaksi hidrolisis minyak	22
Gambar 2.10 Reaksi Esterifikasi asam asetat dan alkohol.....	23
Gambar 4.1 Spektra UV-Vis	43
Gambar 4.2 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas.....	44
Gambar 4.3 Reaksi hidrolisis trigliseril olein	49
Gambar 4.4 Reaksi pembentukan asam lemak	50
Gambar 4.5 Mekanisme reaksi ALB dan metanol dengan katalis H_2SO_4	52
Gambar 4.6 Kromatogram Sampel Metil Ester.....	53
Gambar 4.7 Spektrum massa metil oleat	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Diagram Alir Penelitian.....	68
Lampiran 2: Skema Kerja	69
Lampiran 3: Perhitungan.....	71
Lampiran 4: Data Pengujian Aktivitas Antioksidan	72
Lampiran 5: Data Analisis KG-SM	73
Lampiran 6: Dokumentasi Penelitian	76



ABSTRAK

Iqbal, M. 2015. **Uji Aktivitas dan Identifikasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Minyak Bekatul Beras Ketan Hitam (*Oryza Sativa Glutinosa*). Skripsi.** Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Utama: Akyunul Jannah, S.Si, M.P, Pembimbing Agama: Nur Aini, M.Si, Konsultan: Anik Maunatin, S.T, M.P

Bekatul merupakan hasil limbah dari penggilingan padi menjadi beras. Apabila didalam beras ketan hitam terkandung aktivitas antioksidan tinggi maka didalam bekatulnya juga terkandung aktivitas antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah menguji aktivitas antioksidan dan identifikasi senyawa antioksidan dari minyak bekatul beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*). Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi dengan pelarut n-heksana: Metanol dan Kloroform: Metanol, Ekstrak yang diperoleh dari masing-masing variasi pelarut dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan selanjutnya dialiri dengan gas N₂. Ekstrak pekat dari masing-masing pelarut diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) kemudian identifikasi asam lemak minyak bekatul beras ketan hitam menggunakan instrumen KG-SM (Kromatografi Gas-Spektrofotometer Massa). Hasil penelitian didapatkan aktivitas antioksidan dari ekstrak pelarut n- heksana: metanol sebesar 81,64 % serta kloroform: Metanol sebesar 76,77 %. Hasil Identifikasi senyawa ekstrak n-heksana: metanol menggunakan instrumentasi Kromatografi Gas- Spektroskopi Massa (KG-SM) adalah 9-asam oktadekanoat/ asam oleat, 9,12-asam oktadekanoat/asam linoleat, dan asam heksadekanoat/ asam palmitat.

Kata kunci: Bekatul beras ketan hitam, Uji aktivitas antioksidan, Metode ekstraksi maserasi, KG-SM

ABSTRACT

Iqbal, M. 2015. **Activity and Identification Of Antioxidant Compounds from The Bran Oil Extract Of Black Waxy Rice Bran (*Oryza Sativa Glutinosa*)**. A thesis. Chemistry Department, Science and Technology Faculty Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Main Supervisor: Akyunul Jannah, S.Si, M.P, Religion Supervisor: Nur Aini, M.Si, Consultant: Anik Maunatin, S.T, M.P

Rice bran is the waste of rice that is separated when making white flour in the milling process. If the black glutinous rice contains high antioxidant activity, so, in the bran will also contain the antioxidant activity. The purpose of the research is to test the activity and to identify the antioxidant compounds from the bran oil extract of black glutinous rice (*Oryza sativa Glutinosa*). The extraction method used in this research was macerating extraction with solvent n-hexane and Methanol: Chloroform: methanol, the extraction that is obtained from each solvents was separated from its solvent by using a rotary evaporator and then irrigated with N₂ gas. Concentrated extracts of each solvent was tested its antioxidant activity by using the DPPH method (1.1-diphenyl-2-pikrilhidrazil) and the determination of the free fatty acids. Afterward, identify the fatty acids bran oil extract of black glutinous rice by using instruments GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrophotometer). The result of research antioxidant activity extract solvent (n-hexane : methanol) of 81.64% and (chloroform: methanol) of 76.77%. The identification result of compounds (n-hexane: methanol) by using instrumentation Gas Chromatography - Mass Spectroscopy (GC-MS) are 9-oktadekanoat acid/oleic acid, 9.12-oktadekanoat acid/linoleic acid, and heksadekanoat acid/Palmitic acid.

Keywords: Bran of black glutinous rice, Antioxidant activity test, The extraction method maceration, KG-SM

الملخص

إقبال، م. 2015. اختبار النشاط وتحديد المركبات المضادة للأكسدة من خلاصة النفط نخالة الأرز اللزج السوداء (*Oryza sativa glutinosa*). المشرفة الأولى : أعيين اللجنة الماجستير، المشرفة الثانية : نور عين الماجستير، المشرفة الثالثة: انيك معونة الماجستير.

نخالة هي النتيجة النفاية من طحن الأرز النخالة. اذا كان الأرز اللزج السوداء تردّ النشاط المضادة للأكسدة ارتفع فعليها تردّ المضادة للأكسدة. هدف من البحث هي اختبار النشاط وتحديد المركبات المضادة للأكسدة من خلاصة النفط نخالة الأرز اللزج. وطريقة الاستخلاص مادة المستخدمة هي الاستخراج النقع بلمذييات الهكسين: الميثانول و كلوروفورم: الميثانول. الاستخراج المنتج من تنوعة المذيياة المفارقات باستخدام المبخر الدوار وبعدها تسيلّ الغاز N_2 . أختبر الاستخراج الخثير من كل المذييات عن عملية مضادة الاكسد باستخدام طريقة DPPH ثم تحديد الأحماض الدهنية لفظ نخالة الارز اللزج السوداء باستخدام اللوني للغاز-الصك الشامل طيفيز. نتائج البحث التي نشاط المضادة للأكسدة المذييات الهكسين: الميثانول 81.64% و كلوروفورم: الميثانول 76.77. نتائج تحديد المركبات مع الأجهزة الغاز اللوني الطيفي الكتلة المركبات التي تم الحصول عليها الواردة في الأسود ولفظ نخالة الأرز هي الأعلى هو حمض الأوليك, حمض اللينوليك, حمض البالمتيك.

الكلمات الرئيسية: اختبار نخالة الأرز اللزج السوداء (*Oryza sativa glutinosa*) المضادة للأكسدة النشطة، باستخدام اللوني للغاز-الصك الشامل طيفيز.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Bekatul merupakan limbah proses penggilingan padi (hasil penyosohan kedua) terdiri atas lapisan aleuron, perikarp, serta beberapa bagian endosperm dan germ (Rizqie, 2011). Bekatul mengandung 12,5 % lemak; 14,9 % protein; 32,8 % selulosa; 42,8 % hemiselulosa; 24,4 % lignin; 2,1 % abu dan 3,6 % air, sehingga dapat digunakan sebagai bahan pakan ternak, sumber energi, sumber karbon pada pertumbuhan mikroorganisme (Ardiansyah, 2010). Kandungan bekatul yang melimpah tidak sebanding dengan pemanfaatannya yang masih rendah, Allah telah menjelaskan dalam Al- Qur'an surat ali-Imran ayat 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya :

“(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka. (QS. Ali-Imron: 191).

Ayat tersebut menjelaskan bahwa apapun yang tercipta di muka bumi tidak ada yang sia-sia. Segala sesuatu memiliki manfaat baik yang kecil maupun yang besar termasuk bekatul. Dengan memikirkan semua kejadian yang ada di dunia ini maka di sebutkan sebagai orang ulul albab yaitu Orang-orang yang selalu memikirkan dan mempelajari kejadian-kejadian yang ada di sekelilingnya, untuk kemudian dijadikan pelajaran dan bekal untuk menghadapi kehidupan di dunia ini dan kehidupan di akherat kelak.

Minyak/lemak bekatul mengandung gizi tinggi yaitu asam lemak, komponen-komponen aktif biologis, dan antioksidan (*oryzanol, tocopherol, tocotrienol, phytosterol, polyphenol dan squalene*) (Goffman dkk., 2003 dan Özgül dkk., 1993). Minyak bekatul mentah mengandung 1,5-2,9% *oryzanol*, dan selama proses pemurnian secara kimiawi, kandungan gamma oryzanol mengalami penurunan, dimana proses *degumming, dewaxing*, dan perlakuan alkali secara berturut turut akan menghilangkan 1.1%, 5.9%, dan 93-94.6% *gamma oryzanol* (Khrisna dkk., 2001). Adom dkk. (2002) melaporkan bahwa antioksidan bekatul berupa oryzanol, tokoferol dan asam ferulat, antioksidan tersebut mampu menghambat kejadian kencing manis, penyakit Alzheimer, mencegah kejadian penyakit jantung dan kanker. Dilaporkan bahwa Kadar oryzanol pada soap stock dilaporkan sebanyak 6,3-6,9% yang berpindah kedalam sabun (*soap stock*) yang merupakan hasil samping proses pemurnian. (Patel dan Naik 2004).

Manfaat Minyak bekatul (*rice bran oil*) sangat baik bagi kesehatan, diantaranya: antioksidan (Rana dkk. 2004), penurunan kolesterol dalam darah (Kahlon et al., 1996), pencegahan penyakit kardiovaskular, kanker, serta menghambat waktu menopause (Anonymous, 2007). antioksidan fenolik (Chanphrom 2007; Sompong et al., 2011), β -karoten (Chanphrom, 2007) dan antosianin bekatul beras hitam dan ketan hitam (yawadio dkk., 2007). (Anonymous, 2007) bekatul mengandung beberapa jenis lemak, yaitu 47% lemak *monounsaturated*, 33% *polyunsaturated* dan 20% *saturated*. Kandungan lemak pada bekatul bisa dimanfaatkan untuk keperluan pada produk pangan. Minyak mengandung asam lemak jenuh dan tidak jenuh pada rangkaian karbonnya (Edwar dkk., 2011). Asam lemak yang terkandung dalam minyak bekatul antara lain:

asam oleat 38,4%; linoleat 34,4%; linolenat 2,2%; palmitat 21,5% dan stearat 2,9%. Mengonsumsi bekatul menurunkan 51% resiko kanker adenoma disaluran usus (Gescher, A., 2007). Pada penelitian ini akan menguji aktivitas antioksidan bekatul dari beras ketan hitam.

Beras ketan hitam merupakan sumber pangan lokal yang banyak dikembangkan karena mempunyai kandungan gizi yang tinggi salah satunya mengandung aktivitas antioksidan. Penelitian Anam dkk. (2012) melaporkan bahwa total antosianin dan aktivitas antioksidan dari ketan hitam diperoleh sebesar 87,57 mg/100 g dan Aktivitas antioksidan terukur sebesar 23,09%. Apabila di dalam ketan hitam terkandung aktivitas antioksidan tinggi maka di dalam bekatulnya juga terkandung aktivitas antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*) (Winarsi, 2007). Dalam kehidupan sehari-hari antioksidan mempunyai peran yang sangat penting yaitu sebagai peredam radikal bebas dalam tubuh manusia. Radikal bebas dalam jumlah yang berlebihan yang terdapat dalam tubuh manusia mengakibatkan kerusakan atau matinya sel-sel manusia.

Radikal bebas sebagai molekul yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluar sehingga mengakibatkan molekul ini mempunyai sifat yang sangat reaktif dalam mencari pasangan elektron. Apabila sudah terbentuk didalam tubuh maka akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas yang baru dan jumlahnya akan terus bertambah (Sauriasari, 2006 dalam Kusumawati, 2009). Radikal bebas menyebabkan

munculnya berbagai penyakit seperti inflamasi, arterosklerosis, kanker dan penuaan dini. Aktivitas radikal tersebut dapat dihambat oleh kerja antioksidan (Munim dkk., 2008). Ada dua jenis antioksidan yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan yang alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami atau yang terkandung dalam bahan alami). Antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis (Winarsi. 2007). Minyak bekatul dapat diperoleh dengan menggunakan metode ekstraksi dengan cara maserasi.

Metode maserasi menggunakan suhu ekstraksi di bawah titik didih pelarut dapat mencegah terdegradasinya komponen termolabil bekatul akibat panas. Metode yang dilakukan Xu dan Godber (2000), metode maserasi digunakan bertujuan untuk mencegah rusaknya kandungan antioksidan dan mendapatkan minyak bekatul kasar dalam kadar maksimal dengan kualitas yang baik. Maserasi menggunakan teori *like dissolves like*, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut nonpolar (Khopkar, 2003).

Ekstraksi minyak bekatul dengan menggunakan pelarut non polar dan mudah menguap merupakan cara terbaik untuk mengambil minyak bekatul yang kadarnya kurang dari 25% (Anonymous, 2007). Mutiara (2012) mengekstrak minyak dari bekatul varietas ketan dengan menggunakan pelarut kloroform didapatkan kemurnian sebesar 99,66 %. Xu dan Godber (2000) menyatakan pelarut isopropanol dan n-heksana (1:1) akan mengekstrak gamma orizanol lebih efektif. Chen dan bergman (2005) melaporkan bahwa ekstraksi bekatul

menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan bekatul: metanol (1:6) dapat mengekstrak 92-102% senyawa fitokimia yang menjadi sasaran. Mutiara (2010) mengatakan bahwa ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana didapatkan randemen paling tinggi dibandingkan pelarut petroleum eter. Susanti (2012) menyatakan ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana menghasilkan randemen yang lebih besar dibanding pelarut aseton. Mumpuni dan Auystaningwarno (2013) menyatakan bahwa ekstraksi maserasi dengan pelarut n-heksana diperoleh kadar γ -oryzanol sebesar 9.000 – 21.000 ppm dalam minyak bekatul kasar mendapatkan Kadar γ -oryzanol lebih tinggi dengan menggunakan ekstraksi maserasi dibandingkan dengan ekstraksi soxhlet yaitu sebesar 17.800 ppm.

Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa antioksidan salah satunya adalah 1,1,-*Diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH). Suhartatik dkk., (2013) menggunakan metode DPPH dalam menentukan aktivitas antioksidan dalam beras ketan hitam. Mumpuni (2013) juga melaporkan tentang penggunaan metode DPPH untuk menentukan komponen antioksidan dalam minyak bekatul kasar. Keuntungan menggunakan metode DPPH adalah metode yang sederhana, mudah dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit. Selain menggunakan DPPH digunakan larutan BHT (*Butylated hydroxytoluene*) sebagai perbandingan untuk menentukan aktivitas antioksidan. Analisis senyawa fenolik dilakukan dengan menggunakan instrumentasi Kromatografi Gas – Spektrofotometri Massa (KG-SM) digunakan untuk memisahkan campuran komponen pada bekatul beras ketan hitam.

Berdasarkan beberapa alasan di atas maka akan dilakukan suatu penelitian tentang Ekstraksi Minyak dari Bekatul Ketan Hitam (*Oryza sativa glutinosa*) dan Uji Aktivitas Antioksidan Dengan variasi pelarut.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana nilai aktivitas antioksidan bekatul beras ketan hitam ?
2. Senyawa apa yang terkandung pada ekstrak kasar minyak Bekatul beras yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan dengan menggunakan KG-SM ?

1.3 Tujuan Penelitian

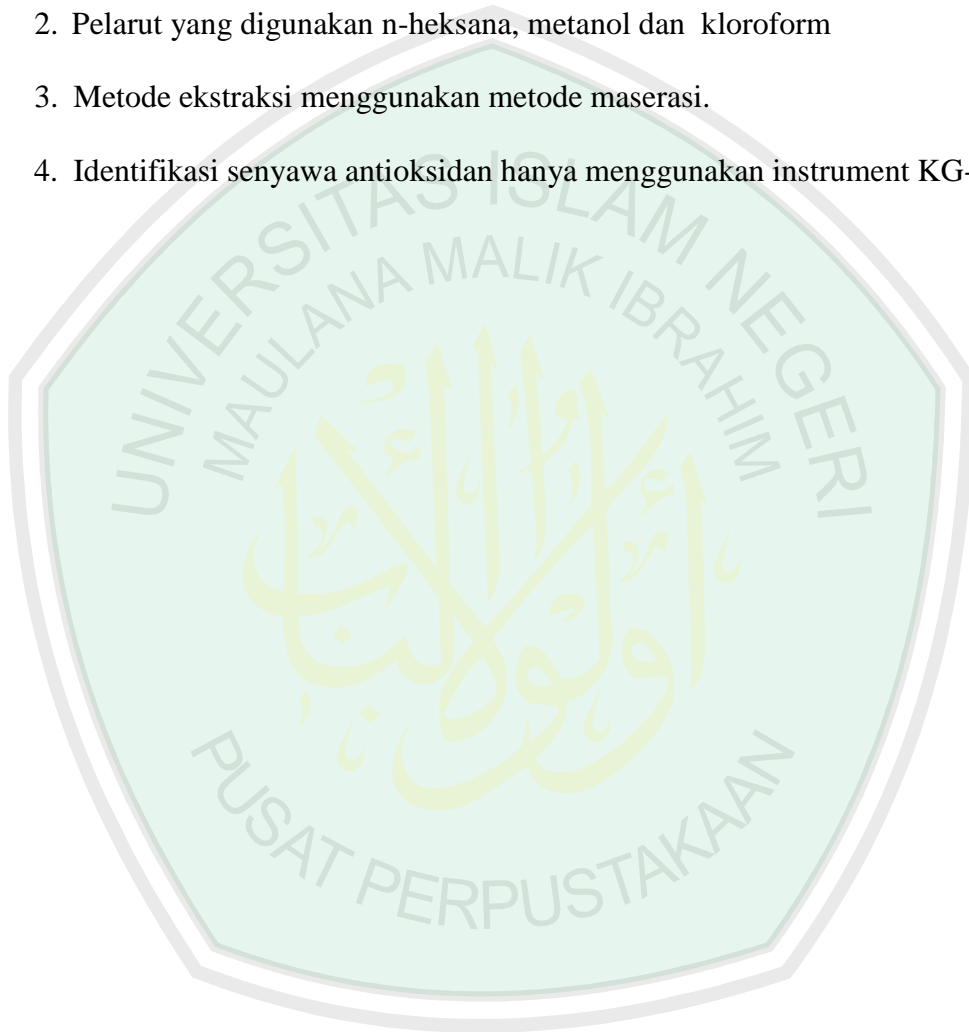
1. Untuk mengetahui pengaruh aktivitas antioksidan bekatul beras ketan hitam
2. Untuk mengetahui Senyawa yang terkandung pada ekstrak kasar minyak Bekatul beras ketan hitam yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan dengan menggunakan KG-SM

1.4 Manfaat Penelitian

Masyarakat dapat memanfaatkan bekatul sebagai antioksidan yang terkandung dalam minyak bekatul berupa senyawa antioksidan yang berguna untuk menangkap radikal bebas dalam tubuh kita dan bekatul bisa dimanfaatkan sebagai minyak nabati selain sebagai pakan ternak.

1.5 Batasan Penelitian

1. Sampel yang digunakan adalah bekatul ketan hitam yang di ambil dari desa Glagah Kecamatan Paiton Kabupaten Probolinggo.
2. Pelarut yang digunakan n-heksana, metanol dan kloroform
3. Metode ekstraksi menggunakan metode maserasi.
4. Identifikasi senyawa antioksidan hanya menggunakan instrument KG-SM.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Bekatul dalam Perspektif Islam

Al-Qur'an banyak menyebutkan tentang tumbuh-tumbuhan untuk dimanfaatkan oleh manusia. Sebagaimana firman Allah SWT dalam al-Qur'an surat Thaha: 53 yaitu:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ﴿٥٣﴾

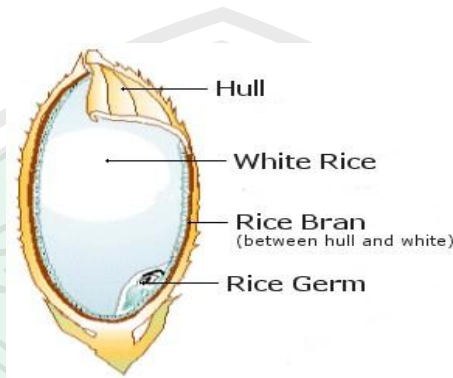
“Bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam (QS. Thaha : 53).”

Menurut Shihab (2002), dalam tafsir Al-Mishbah bahwa aneka tumbuhan dengan bermacam-macam jenis bentuk dan rasanya itu merupakan hal-hal yang sungguh menakjubkan lagi membuktikan betapa agung penciptanya. Setiap macam tumbuhan diciptakan Allah untuk kemaslahatan umat manusia, diantaranya sebagai salah satu sumber pangan bagi manusia dan dapat dipetik hasilnya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Manfaat tumbuhan salah satunya adalah bekatul.

2.2 Bekatul

Bekatul (*bran*) adalah hasil samping proses penggilingan padi, terdiri atas lapisan sebelah luar butiran padi dengan sejumlah lembaga biji. Sementara bekatul (*polish*) adalah lapisan sebelah dalam dari butiran padi, termasuk sebagian kecil

endosperm berpati. Namun, karena alat penggilingan padi tidak memisahkan antara dedak dan bekatul maka umumnya dedak dan bekatul bercampur menjadi satu dan disebut dengan dedak atau bekatul saja (Anonymous, 2007).



Gambar 2.1 Biji Padi

Bekatul mengandung mengandung vitamin B dari golongan tiamin, riboflavin, niasin, dan pirodoxin. Bekatul mempunyai aktivitas sebagai antioksidan alami, terutama α , β , γ , δ - tokoferol dan tokotrienol, serta fraksi γ -oryzanol. Fraksi yang tidak tersabunkan dari minyak bekatul mengandung 1,5- 2,0 % γ -oryzanol yang merupakan ester ferulat dari triterpen alkohol dan fitosterol. γ -Oryzanol tersusun tiga komponen utama, yaitu *Cycloartenyl ferulet*, *24-methylenecycloartenyl ferulat* dan *campesteryl ferulate*. (Ovani, 2013; Cahyanine, dkk., 2008; Anonymous, 2007; Hadipernata, 2007; Chen dan Bergman, 2005).

Minyak bekatul merupakan salah satu jenis minyak berkandungan gizi tinggi karena adanya kandungan asam lemak, komponen-komponen aktif biologis, dan komponen-komponen antioksi seperti *oryzanol*, *tocopherol*, *tocotrienol*, *phytosterol*, *polyphenol*, dan *squalene* (Goffman *et al.*, 2003; Özgul and Türkay, 1993).

2.3 Ekstraksi Minyak dengan Metode Maserasi

Ekstraksi merupakan proses penarikan suatu zat terlarut dari larutannya. Metode maserasi ini dilakukan dengan cara merendam sampel ke dalam pelarut sehingga terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama, dan dengan terdistribusinya pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel. Zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang paling pekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel. Proses ekstraksi maserasi sangat cocok digunakan dalam isolasi senyawa γ -oryzanol karena tidak menggunakan suhu tinggi sehingga tidak merusak senyawa γ -oryzanol dalam sampel. Membran sel dan metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Guenther, 1987; Soebagio, 2003; Baraja, 2008).

Diantara berbagai jenis metode pemisahan, ekstraksi pelarut merupakan metode pemisahan yang baik dan sangat populer. Alasan utamanya adalah bahwa pemisahan ini dapat dilakukan baik dalam tingkat makro sampai pada tingkat mikro. Prinsip dari metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur seperti benzene, karbon tetra klorida atau kloroform. Batasannya adalah zat terlarut dapat ditransfer pada jumlah yang berbeda dalam kedua fase pelarut. Teknik ini dapat digunakan untuk kegunaan preparatif, pemurnian, memperkaya, pemisahan serta analisis pada semua skala kerja. Mulanya metode ini dikenal dalam kimia analisis, kemudian menjadi metode yang baik, sederhana, cepat dan dapat digunakan untuk

ion-ion logam yang bertindak sebagai *tracer* (pengotor) dan ion-ion logam dalam jumlah makrogram (Khopkar, 2010).

Maserasi berasal dari bahasa Latin *macerare*, yang artinya merendam. Maserasi merupakan proses penyarian dengan cara serbuk direndam sampai meresap atau melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel, 1989). Dalam proses maserasi, simplisia yang akan diekstraksi biasanya ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang. Maserasi biasanya dilakukan dalam waktu 3 hari sampai bahan-bahan yang larut melarut (Ansel, 1989).

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan dalam temperatur ruangan. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membrane sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam pelarut tersebut. Secara umum pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam, karena dapat melarutkan seluruh golongan metabolit sekunder (Sofia, 2006).

Djarwis (2004) mengatakan proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam, karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi kontak sampel dan pelarut yang cukup lama dan dengan terdistribusinya

pelarut organik yang terus menerus ke dalam sel tumbuhan mengakibatkan perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga pemecahan dinding dan membran sel serta metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Proses ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Larutan dari hasil ekstraksi disaring dengan menggunakan saringan halus dan kemudian dipompa ke dalam evaporator, sehingga pelarut dapat diuapkan (Guenther, 1987). Salah satu kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Manjang, 2004).

Menurut Harborne (1987), metode maserasi digunakan untuk mengekstrak jaringan tanaman yang belum diketahui kandungan senyawanya yang kemungkinan bersifat tidak tahan panas sehingga kerusakan komponen tersebut dapat dihindari. Kekurangan dari metode ini adalah waktu yang relatif lama dan membutuhkan banyak pelarut. Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan prinsip kelarutan. Prinsip kelarutan adalah like dissolve like, yaitu (1) pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, demikian juga sebaliknya pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar, (2) pelarut organik akan melarutkan senyawa organik. Ekstraksi senyawa aktif dari suatu jaringan tanaman dengan berbagai jenis pelarut pada tingkat kepolaran yang berbeda bertujuan untuk memperoleh hasil yang optimum, baik jumlah ekstrak maupun senyawa aktif yang terkandung dalam contoh uji.

Pelarut yang biasa digunakan dalam metode ekstraksi maserasi antara lain kloroform, eter, aseton, metanol, etanol dan etil asetat. Ekstraksi biasanya dilakukan secara bertahap dimulai dengan pelarut yang non polar (kloroform atau n-heksana), semipolar (etil asetat atau dietil eter) dan pelarut polar (metanol atau etanol) (Harborne, 1996). Pelarut yang dapat digunakan untuk ekstraksi harus memenuhi syarat, yaitu pelarut tersebut harus merupakan pelarut yang terbaik untuk bahan yang diekstraksi dan pelarut tersebut harus terpisah dengan cepat setelah pengocokan (Winarno Dkk., 1973).

Penelitian yang kami lakukan ini menggunakan pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu n-heksana (non polar), kloroform (semi-polar) dan metanol (polar). Penggunaan variasi pelarut ini bertujuan untuk mendapatkan rendemen yang lebih banyak karena kami melakukan perbandingan pelarut antara n-heksana: metanol dan kloroform: metanol dengan perbandingan 3:2. Selain itu, penggunaan pelarut-pelarut ini mengacu pada penelitian-penelitian terdahulu yang menggunakan pelarut-pelarut tersebut untuk mengekstrak minyak dari bahan alam. Contohnya penelitian yang dilakukan oleh Susanti (2012) mengekstrak minyak dari bekatul varietas ketan dengan menggunakan pelarut kloroform. Artini (2013) juga melaporkan tentang penggunaan pelarut etil asetat untuk mengekstrak rimpang bangle dan Ping (2012) mengekstrak minyak dari buah tunjuk langit (*sky fruit*) dengan menggunakan pelarut metanol.

Polaritas sering diartikan sebagai adanya pemisahan kutub bermuatan positif dan negatif dari suatu molekul sebagai akibat terbentuknya konfigurasi tertentu dari atom-atom penyusunnya. Dengan demikian, molekul tersebut dapat tertarik oleh molekul yang lain yang juga mempunyai polaritas yang kurang lebih sama.

Besarnya polaritas dari suatu pelarut proporsional dengan besarnya konstanta dielektriknya (Adnan 1997). Menurut Stahl (1985), konstanta dielektrik (ϵ) merupakan salah satu ukuran kepolaran pelarut yang mengukur kemampuan pelarut untuk menyaring daya tarik elektrostatik antara isi yang berbeda.

2.4 Antioksidan

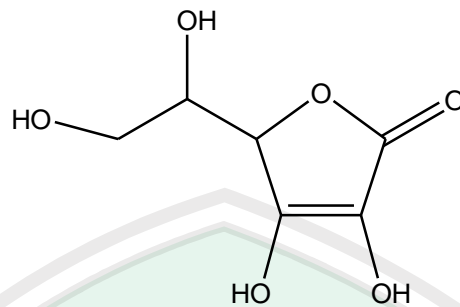
Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

2.4.1 Klasifikasi Antioksidan

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami).

1. Antioksidan Alami

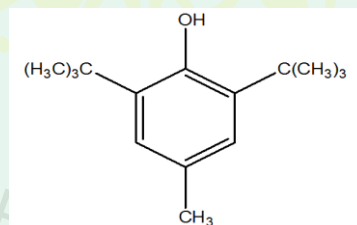
Antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis (Madhavi, dkk., 1996). Salah satu antioksidan alami adalah vitamin C (L-asam askorbat) merupakan suatu antioksidan penting yang larut dalam air. Vitamin C secara efektif menangkap radikal-radikal O_2^\bullet , OH^\bullet , ROO^\bullet dan juga berperan dalam regenerasi vitamin E. Vitamin C dapat melindungi membran biologis dan LDL (*Low Density Lipid*) dari kerusakan prooksidatif dengan cara mengikat radikal peroksil dalam fase berair dari plasma atau sitosol (Silalahi, 2006).



L- Asam Askorbat
Gambar 2.2 Asam askorbat (Vitamin C)

2. Antioksidan Sintetik

Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diizinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu BHT, PG, TBHQ dan tokoferol. Adapun struktur molekul dari BHT dapat dilihat pada Gambar 2.5 (Cahyadi, 2006).

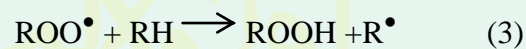
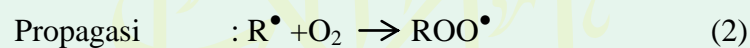
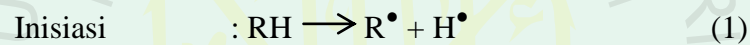


Gambar 2.3 *Butylated hydroxytoluene* (BHT) (Cahyadi, 2006)

Antioksidan sintetik BHA, BHT, PG dan TBHQ sering digunakan untuk mengontrol terjadinya oksidasi, tetapi tidak menutup kemungkinan antioksidan tersebut menyebabkan efek karsinogenik. Oleh karena itu, penelitian dan pengembangan antioksidan yang berasal dari alam kini sedang giat-giatnya dilakukan sebagai alternatif pengganti antioksidan sintetik (Shahidi, dkk., 1995).

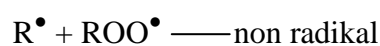
2.4.2 Mekanisme Kerja Antioksidan

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak yaitu senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hydrogen (reaksi 1). Pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam (R^\bullet) lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (ROO^\bullet). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3) (Nugroho, 2009).



Gambar 2.4 Reaksi Mekanisme Penghambatan Antioksidan Terhadap Radikal

Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas flavor makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi Antara radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (reaksi 4) (Nugroho, 2009).



Gambar 2.5 Reaksi antara Radikal Bebas Membentuk Kompleks Bukan Radikal.

2.5 Radikal Bebas

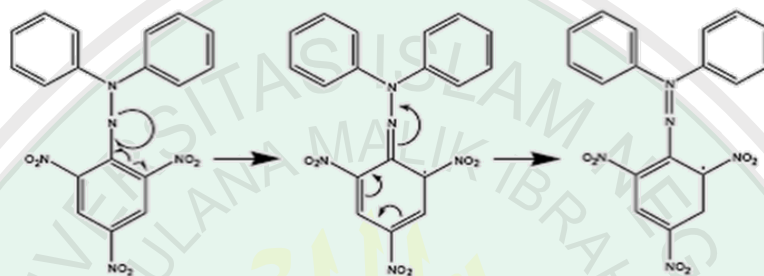
Menurut Soematmaji (1998), yang dimaksud radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya.

Keseimbangan antara kandungan antioksidan dan radikal bebas di dalam tubuh merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kesehatan tubuh. Apabila jumlah radikal bebas terus bertambah sedangkan antioksidan endogen jumlahnya tetap, maka kelebihan radikal bebas tidak dapat dinetralkan. Akibatnya radikal bebas akan bereaksi dengan komponen-komponen sel dan menimbulkan kerusakan sel (Arnelia, 2002). Dampak reaktifitas senyawa radikal bebas bermacam-macam, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, penyakit jantung koroner (PJK), dan diabetes mellitus.

Secara umum sumber radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua, yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dapat terbentuk melalui autoksidasi, oksidasi enzimatis, fagositosis dalam respirasi, transfer elektron di mitokondria dan oksidasi ion-ion logam transisi. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari luar sistem tubuh, misalnya sinar UV. Di samping itu, radikal bebas eksogen dapat berasal dari aktifitas lingkungan. Menurut Supari (1996), aktifitas lingkungan yang dapat memunculkan radikal bebas antara lain radiasi, polusi, asap rokok, makanan, minuman, ozon dan pestisida.

2.6 Uji Aktivitas Antioksidan

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam (Molyneux, 2003). Resonansi DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.4 (Manik, 2011).

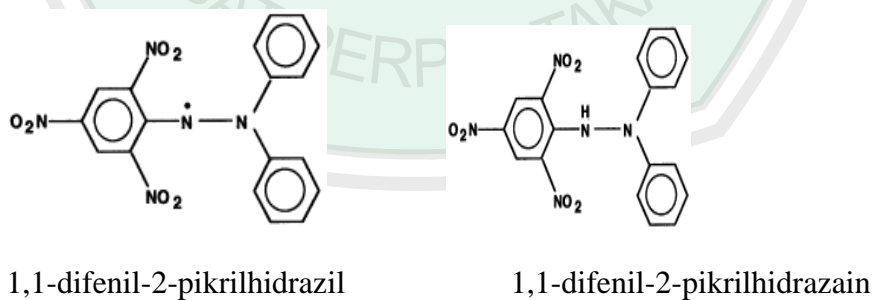


Gambar 2.6 Resonansi DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*)

Radikal DPPH (1,1–difenil-2-pikrilhidrazil) adalah suatu senyawa organik yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan absorpsi kuat pada panjang gelombang maksimum (λ_{max}) 517 nm dan berwarna ungu gelap. Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Perubahan tersebut dapat diukur dengan spektrofotometer dan diplotkan terhadap konsentrasi (Reynerston, 2007). Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan suatu elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya penangkapan kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi. Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk skrening aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, reliable dan praktis (Prakash Dkk., 2001).

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode serapan radikal DPPH karena merupakan metoda yang sederhana, mudah dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Pemudaran warna mengakibatkan penurunan nilai absorbansi sinar tampak dari spektrofotometer, sehingga semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Semakin pudar warna dan semakin rendah nilai absorbansi menunjukkan bahwa semakin banyak radikal bebas yang bereaksi dengan antioksidan yang terdapat dalam serum (Damayanthi, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Yen dan Chen (1995) yaitu pengujian antioksidan dengan metode DPPH 1,1-difenil-2-pikrihidrazil yang merupakan radikal bebas, yang jika direaksikan dengan ekstrak tanaman yang mengandung antioksidan maka akan terjadi reaksi penangkapan hydrogen dari antioksidan oleh radikal bebas DPPH (ungu) yang kemudian berubah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (kuning). Mekanisme reaksi metode DPPH adalah sebagai berikut:



Gambar 2.7 Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan (Molyneaux, 2004)

Reduksi DPPH menjadi DPPH-H disebabkan adanya donor hidrogen dari senyawa hidroksil baik di dalam ekstrak etanol maupun di dalam fraksi hasil pemisahan. Oleh karena itu terjadi pengurangan jumlah hidrogen yang dapat didonorkan dari fraksi hasil pemisahan pada DPPH. Pada senyawa standar

quersetin peredaman warna terjadi lebih efektif jika disbanding ekstrak etanol maupun fraksi hasil pemisahan. Hal ini dikarenakan dalam molekul quersetin mempunyai lima gugus hidroksil. Jumlah ini cukup banyak pada setiap molekulnya untuk mereduksi DPPH (Rahayu, Dkk., 2010).

Dalam metode DPPH terdapat parameter EC_{50} . Parameter EC_{50} merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50 % yang diperoleh melalui persamaan regresi. Semakin kecil EC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman, dkk., 2005). Menurut Armala (2009) dalam Putra (2012), menyatakan tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH dapat digolongkan menurut nilai IC_{50}/EC_{50} , seperti yang nampak pada Tabel 2.2.

Tabel 2.1 Ketentuan kekuatan antioksidan

Intensitas	Nilai IC_{50}/EC_{50}
Sangat kuat	< 50 mg/L
Kuat	50 – 100 mg/L
Sedang	100 – 150 mg/L
Lemah	>150 mg/L

Sumber : Putra, (2012)

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan persamaan sebagai berikut (Molyneux, 2003):

$$\% \text{ Antioksidan} = \frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \% \dots \dots \dots (2.1)$$

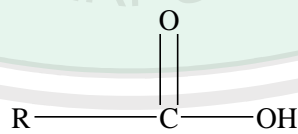
Nilai 0 % berarti sampel tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100 % berarti pengujian aktivitas antioksidan perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu

bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila presentase aktivitas antioksidan lebih atau sama dengan 50 % (Parwata, Dkk., 2009).

2.7 Hidrolisis Asam Lemak

Asam lemak merupakan komponen pembangun yang sifatnya khas untuk setiap lipid. Asam lemak adalah asam organik berantai panjang yang mempunyai 4-24 atom. Asam lemak memiliki gugus karboksil tunggal dan ujung hidrokarbon non polar yang panjang, sehingga hampir semua lipid bersifat tidak larut di dalam air dan tampak berminyak atau berlemak. Asam lemak tidak secara bebas atau berbentuk tunggal di dalam sel atau jaringan, tetapi terdapat dalam bentuk terikat secara kovalen pada berbagai kelas lipid berbeda, yang dapat dibebaskan dari ikatan tersebut melalui hidrolisis kimia atau enzimatis (Institut Pertanian Bogor).

Poedjiadji (1994) menyatakan bahwa asam lemak merupakan asam organik yang terdapat dalam bentuk ester trigliserida atau lemak. Asam ini adalah asam karboksilat yang mempunyai rantai karbon panjang dengan rumus umum seperti yang terlihat pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Struktur Umum Asam Lemak

R merupakan rantai karbon jenuh atau tidak jenuh yang terdiri atas 4 sampai 24 atom karbon. Diungkapkan oleh (Winarno, 1993) bahwa, asam lemak yang paling banyak terdapat dalam makanan adalah asam lemak dengan struktur lurus dengan jumlah atom karbon genap dengan satu gugus asam karboksilat. Asam-asam lemak yang menyusun lemak juga dapat dibedakan berdasarkan jumlah atom

hidrogen yang terikat kepada atom karbon. Berdasarkan jumlah atom hidrogen yang terikat kepada atom karbon, maka asam lemak dapat dibedakan atas (Poedjiadi, 1994) :

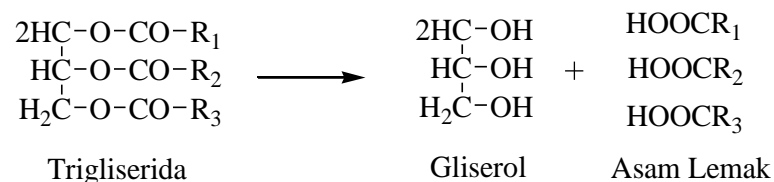
1. Asam lemak jenuh

Asam lemak jenuh merupakan asam lemak dimana dua atom hidrogen terikat pada satu atom karbon. Dikatakan jenuh karena atom karbon telah mengikat hidrogen secara maksimal.

2. Asam lemak tak jenuh

Asam lemak tak jenuh merupakan asam lemak yang memiliki ikatan rangkap. Dalam hal ini atom karbon belum mengikat atom hidrogen secara maksimal..

Nurhasanah (2003) mengimbuhkan bahwa asam lemak dapat diperoleh dari hidrolisis lemak/minyak sampel yang dilakukan dengan penambahan NaOH 2M, metanol, dan NaCl yang selanjutnya dipisahkan padatan sabunya dan dinetralkan dengan menggunakan HCl 1M hingga pH 1. Kemudian diekstrak kembali dengan menggunakan n-heksana dan diambil filtratnya. Selanjutnya ditambahkan dengan Na₂SO₄ anhidrat serta diuapkan pelarutnya sehingga didapatkan asam lemak dari sampel. Reaksi dalam proses hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 2.7.



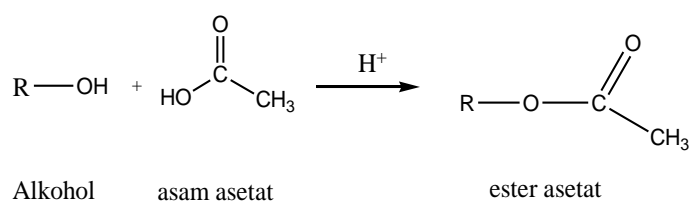
Gambar 2.9 Reaksi hidrolisis minyak

Menurut (Fasya, G., 2011) dalam penelitiannya menyatakan bahwa isolasi/ hidrolisis minyak menjadi asam lemak dapat dilakukan dengan menggunakan katalis basa KOH 12 % dengan pelarut metanol disertai penambahan H₂SO₄ 1M hingga pH = 1 untuk membentuk asam lemak. Rendemen yang didapatkan cukup tinggi, yaitu sebesar 75,01 %

2.8 Esterifikasi Asam Lemak

Ester salah satu dari kelas-kelas senyawa organik yang sangat berguna, dapat diubah menjadi keanekaragam senyawa lain. Menurut Nimitz (1991) ester dapat dibuat dengan cara mereaksikan alkohol dengan turunan asam karboksilat yang lebih reaktif seperti anhidrida asam atau klorida asam. Reaksi esterifikasi tersebut dikenal sebagai esterifikasi Fischer dengan bantuan katalis asam (Carey, 2000). Katalis asam berperan sebagai sumber proton, sehingga terjadi protonasi atom oksigen pada gugus karbonil dan membentuk karbokation yang menyebabkan kerapatan elektron pada gugus karbonil semakin berkurang (Matsjeh, 1993).

Asam karboksilat, alkohol dan katalis asam biasanya (HCl atau H₂SO₄) dipanaskan, terdapat kesetimbangan dengan ester dan air. Mekanisme reaksi esterifikasi digambarkan pada Gambar 2.8 (Hart, 1990)



Gambar. 2.10 Reaksi Esterifikasi asam asetat dan alkohol

Reaksi esterifikasi dapat ditentukan dengan melebihkan alkohol atau asam karboksilat/turunannya. Jika alkohol yang dilebihkan maka ester yang dihasilkan tidak terganggu oleh banyaknya sisa air dalam reaksi sebaliknya jika asam karboksilat/turunannya yang dibuat berlebih akan menghasilkan sisa air lebih banyak sehingga dapat mempengaruhi hasil ester yang diinginkan (Denniston, dkk., 2007).

Perbandingan reaktan bukan merupakan satu-satunya faktor penting dalam esterifikasi. Salah satu faktor lain yang juga penting ialah waktu reaksi, semakin lama waktu reaksi maka kemungkinan kontak antar zat semakin besar sehingga akan menghasilkan konversi terhadap produk yang besar. Berdasarkan penelitian Hikmah dan Zuliyana (2010) diperoleh rendemen tertinggi pada waktu 60 menit yaitu sebesar 44,87 %, dengan melakukan esterifikasi terhadap minyak dedak sebagai pembuatan biodiesel dengan mereaksikannya dan metanol menggunakan katalis H_2SO_4 pada waktu 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, dan 120 menit.

2.9 Kromatografi Gas - Spektrofotometri Massa (KG-SM)

Kromatografi merupakan suatu metode yang digunakan untuk memisahkan campuran komponen berdasarkan distribusi komponen tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak (Stoeniu, Dkk., 2006). Fase diam berguna untuk mengikat komponen zat, sedangkan fase bergerak berguna untuk mengangkut komponen zat lain yang tidak terikat. Oleh karena adanya sistem pengangkutan dan sistem pengikatan ini, maka suatu komponen zat dapat dipisahkan dari komponen lainnya (Suhartono, 1989). Menurut Harborne (1987), terdapat empat macam teknik kromatografi, yaitu kromatografi kertas,

kromatografi lapis tipis, kromatografi gas cair, dan kromatografi cair kinerja tinggi. Pemisahan dan pemurnian kandungan kimia tumbuhan dapat dilakukan dengan menggunakan salah satu dari keempat metode tersebut atau gabungannya. Pemilihan metode tergantung pada sifat-sifat senyawa yang digunakan.

Kromatografi dapat dibedakan atas berbagai macam tergantung pada pengelompokannya. Berdasarkan pada mekanisme pemisahannya, kromatografi dapat dibedakan menjadi: (a) kromatografi adsorbs; (b) kromatografi partisi; (c) kromatografi pasanagan ino; (d) kromatografi penukar ion; (e) kromatografi eksklusi ukuran dan (f) kromatografi afinitas (Rohman, A. dan Gandjar, 2012).

Sedangkan berdasarkan pada alat yang digunakan, kromatografi dapat dibagi atas: (a) kromatografi kertas; (b) kromatografi lapis tipis, yang keduanya sering disebut dengan kromatografi planar; (c) kromatografi cair kinerja tinggi dan (d) kromatografi gas (Rohman, A. dan Gandjar, 2012).

Kromatografi gas merupakan teknik instrumental yang dikenalkan pertama kali pada tahun 1950-an. Instrumentasi ini merupakan metode yang dinamis untuk pemisahan dan deteksi senyawa-senyawa organik yang mudah menguap dan senyawa-senyawa gas anorganik dalam suatu campuran. Perkembangan teknologi yang signifikan dalam bidang elektronik, komputer, dan kolom telah menghasilkan batas deteksi yang lebih rendah serta identifikasi senyawa menjadi lebih akurat melalui teknik analisis dengan resolusi yang meningkat (Rohman, A. dan Gandjar, 2012).

Prinsip dari kromatografi gas adalah pemisahan yang didasarkan pada titik didih suatu senyawa dikurangi dengan semua interaksi yang mungkin terjadi antara solute dengan fase diam. Fase gerak yang berupa gas akan mengelusi solute

dari ujung kolom lalu menghantarkannya ke detektor. Penggunaan suhu yang meningkat (biasanya pada kisaran 50-350°C) bertujuan untuk menjamin bahwa solute akan menguap dan karenanya akan cepat terelusi (Rohman, A. dan Gandjar, 2012).

Adapun komponen-komponen pada instrumentasi kromatografi gas antara lain:

a. Gas pembawa

Fase gerak dalam kromatografi gas adalah gas, yang paling lazim adalah helium, hidrogen atau nitrogen. Pilihan gas pembawa tergantung pada karakteristik detektor. Kromatograf komersial biasanya menyediakan katup pengatur tambahan untuk pengendalian tekanan yang baik pada inlet kolom (Underwood, A. dan Day, 2002).

Untuk setiap pemisahan dengan kromatografi gas terdapat kecepatan optimum gas pembawa yang utamanya tergantung pada diameter kolom. Kecepatan alir gas kira-kira 50-70 ml/menit untuk kolom dengan diameter dalam 6 mm, 25-30 ml/menit untuk kolom dengan diameter dalam 3 mm dan 0,2-2 ml/menit untuk kolom kapiler (Rohman, A. dan Gandjar, 2012).

b. Ruang suntik sampel

Komponen kromatografi gas yang utama selanjutnya adalah ruang suntik atau *inlet*. Fungsi dari ruang suntik ini adalah untuk mengantarkan sampel ke dalam aliran gas pembawa. Penyuntikan sampel dapat dilakukan secara manual atau secara otomatis (yang dapat menyesuaikan jumlah sampel) (Rohman, A. dan Gandjar, 2012).

Sampel yang akan dikromatografi dimasukkan ke dalam ruang suntik melalui gerbang suntik yang biasanya berupa lubang yang ditutupi dengan septum atau pemisah karet. Ruang suntik harus dipanaskan tersendiri (terpisah dari kolom) dan biasanya 10-15°C lebih tinggi daripada suhu kolom maksimum. Jadi seluruh sampel akan menguap segera setelah sampel disuntikkan (Rohman, A. dan Gandjar, 2012).

c. Kolom

Kolom-kolom memiliki variasi dalam hal ukuran dan bahan isian. Ukuran yang umum adalah sepanjang 6 kaki dan berdiameter dalam $\frac{1}{4}$ inci, terbuat dari tabung tembaga atau baja tahan karat untuk menghemat ruang, bias dibentuk U atau gulungan spiral. Tabung itu diisi dengan suatu bahan padat halus dengan luas permukaan besar yang relative inert. Cairan ini harus stabil dan nonvolatilitas pada temperatur kolom dan harus sesuai untuk pemisahan tertentu (Underwood, A dan Day, 2002).

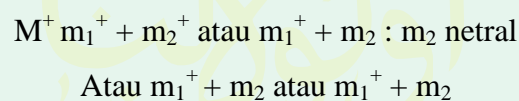
d. Detektor

Detektor merupakan perangkat yang diletakkan pada ujung kolom tempat keluar fase gerak (gas pembawa) yang membawa komponen hasil pemisahan. Detektor pada kromatografi adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik (Rohman, A. dan Gandjar, 2012).

Spektrum massa adalah alur kelimpahan jumlah relative fragmen bermuatan positif berlainan versus massa per muatan (m/z atau m/e) dari fragmen-fragmen tersebut. Muatan ion dari kebanyakan partikel yang dideteksi dalam suatu spektrofotometer massa adalah +1; maka nilai m/z sama dengan massa

molekulnya (M). Bagaimana suatu molekul atau ion pecah menjadi fragmen-fragmennya bergantung pada kerangka karbon dan gugus fungsional yang ada. Oleh karena itu, struktur dan massa fragmen memberikan petunjuk mengenai struktur molekul induknya. Juga, mungkin seringkali untuk menentukan bobot molekul suatu senyawa dari spectrum massanya (Supratman, 2010).

Pada spektroskopi massa, molekul-molekul organik ditembak dengan berkas elektron dan diubah menjadi ion-ion bermuatan positif bertenaga tinggi (ion-ion molekuler/ ion induk yang dapat pecah menjadi ion yang lebih kecil/ ion anak). Lepasnya elektron dari molekul menghasilkan radikal kation yang dinyatakan sebagai M^+ . Ion molekuler M^+ biasanya terurai menjadi pecahan/fragmen yang dapat berupa radikal dan ion atau molekul yang kecil dan radikal kation.



Gambar 2.6 Sepasang pecahan atau fragmen radikal dan ion

Ion-ion molekuler, ion pecahan, dan ion radikal pecahan dipisahkan oleh pembelokan dalam medan magnet yang dapat berubah sesuai dengan massa dan muatannya sehingga menimbulkan arus pada kolektor yang sebanding dengan limpahan relatifnya. Spektrum massa merupakan gambaran antara limpahan relatif lawan perbandingan massa/ muatan (m/e atau m/z). menurut Sastrohamidjojo (2001), partikel-partikel netral yang dihasilkan dalam pemecahan (fragmentasi) tidak dapat dideteksi dalam spektrofotometer massa, yaitu molekul yang tidak bermuatan (m_2) atau radikal (M_2^+) puncak yang memiliki kelimpahan tertinggi belum tentu merupakan ion molekuler tetapi dapat juga dimungkinkan sebagai pengotor, karena latar belakang yang diperoleh sebelum cuplikan dimasukkan

sering kali didapati puncak kecil pada m/e 41, 43, 55, 57 yang merupakan latar belakang hidrokarbon (Sudjadi, 1985).

Spektrum massa dipaparkan sebagai grafik batangan. Setiap puncak dalam spectrum menyatakan suatu fragmen molekul. Fragmen-fragmen disusun sedemikian rupa sehingga puncak-puncak ditata menurut kenaikan m/z dari kiri ke kanan dalam spektrum. Intensitas puncak sebanding dengan kelimpahan relative fragmen-fragmen bergantung pada stabilitas relatifnya. Menurut perjanjian, puncak tertinggi dalam suatu spectrum disebut puncak dasar (*base peak*), diberi intensitas 100%, sedangkan puncak-puncak lebih kecil dilaporkan sebagai 20%, 30%, menurut nilai relatifnya terhadap puncak dasar. Kadang-kadang puncak dasar disebabkan oleh ion molekul, tetapi sering berasal dari suatu fragmen yang lebih kecil (Supratman, 2010).

Bentuk penyajian spectrum massa yang lain yaitu dengan plot harga m/z versus kelimpahan relative, secara jelas puncak ion yang paling dominan adalah puncak dasar pada spectrum sebagai 100% intensitas. Suatu diagram dari tipe spectrometer massa yang lazim terdiri dari; sistem pemasukan cuplikan, kamar pengion dan pemercepat, analisator, kolektor ion, penguat dan pencatat (Supratman, 2010).

Bagian-bagian pada spektrofotometer massa, yaitu (Braithwaite dan Smith, 1985):

a) Sistem ion dan sistem pemasukan sampel

Sumber ion pada spektrofotometer massa dipertahankan pada tekanan $10^{-3}\tau$ atau dibawahnya. Sedangkan sistem pemasukan sampel atau cuplikan dibuat/didesain untuk melepaskan sampel dalam pusat sumber pada kecepatan

yang terkontrol secara hati-hati. Hal tersebut bergantung pada konsentrasi dan sifat fisik dari sampel yang digunakan. Pada bagian luar sistem pemasukan sampel, terdiri dari tabung kapiler yang agak pendek terbuat dari stainless steel.

Untuk menghasilkan ion pada spektrofotometer massa dapat dilakukan melalui beberapa metode, yaitu dengan proses tumbukan elektron (Electron Impact/EI), ionisasi kimia dan ionisasi medan. Yang paling sering digunakan adalah proses tumbukan elektron. Fragmentasi dalam sebuah molekul dapat dilihat pada Gambar 2.7.

Pada Gambar 2.7 dapat dijelaskan bahwa ion-ion positif (M^+) meninggalkan area ionisasi melalui suatu celah dan sistem lensa ion menuju analyzer massa. Tingkat fragmentasi pada pola spectra tergantung pada energi pada tembakan sinar elektron. Tingkat energi yang sering digunakan adalah 60-80 eV.

b) Penganalisa Massa (Mass Analyser)

Terdapat beberapa jenis penganalisis massa, tetapi yang relevan untuk KG-SM ada 2, yaitu penganalisis magnetik dan non-magnetik. Pada penganalisis magnetik, mempunyai focus tunggal dengan resolusi 500-3000. Penganalisis jenis ini sering digunakan dalam analisis senyawa organik. Sedangkan penganalisis non-magnetik, digunakan penganalisis massa quadrupole (The Quadrupole Mass Analyser). Quadrupole Mass Analyser terdiri atas satu set empat putaran atau batang-batang hiperbolik dalam bentuk seperempat lingkaran. Batang yang sebaliknya terhubung dengan bersama oleh listrik dan digunakan tegangan yang terdiri atas komponen DC dan RF (1-2 MHz). sehingga suatu medan bolak-balik diletakkan diantara batang-batang dan ketika elektron bergerak ke dalam medan

quadrupole, ion-ion akan bergerak bolak-balik diantara electrode. Ketika massa ion stabil maka ia akan bergerak melalui analyser menuju elektron multiplier. Ion-ion yang berharga selain m/e akan mengalami gerak bolak-balik yang tidak stabil sehingga akan meninggalkan medan quadrupole.

c) Detektor

Detektor berfungsi sebagai pendeteksi ion-ion yang masuk dari sumber ion dan selanjutnya di quadrupole dijadikan ion yang stabil.

d) Pengontrol dan Pemroses Sinyal Elektronik

Pengontrol berfungsi sebagai pengontrol sinyal-sinyal dari analisis sampel yang selanjutnya akan diteruskan ke pemroses sinyal, sehingga dapat diproses dalam bentuk kromatogram dan spektra massa.

BAB III METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-Desember 2015 di Laboratorium Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *beaker glass* 500 mL dan 1000 mL, pipet ukur 1 mL, 5 mL dan 10 mL, gelas ukur 100 mL, erlenmeyer 250 mL, 500 mL dan 1000 mL, gelas arloji, corong gelas, labu ukur 20 mL, 25 mL, 50 mL, bola hisap, spatula, pengayak ukuran 40 *mesh*, *rotary evaporator vacum*, kuvet, pipet tetes, aluminium foil, neraca analitik, pemanas air, spektrofotometer UV-Vis, *magnetic stirrer*, tabung reaksi, instrumen KG-SM.

3.2.2 Bahan

Adapun bahan-bahan yang digunakan adalah sebagai berikut: bekatul beras ketan hitam, larutan n-heksana p.a, larutan kloroform p.a, larutan metanol p.a, KOH 12%, gas nitrogen, H₂SO₄ p.a, larutan DPPH, larutan BHT, asam askorbat, etanol, indikator PP, NaOH 0,1 N, kertas saring dan aquades.

3.3 Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah penelitian secara deskriptif melalui 2 tahap pengujian eksperimental dilaboratorium, pertama menentukan jenis pelarut terbaik dengan aktivitas antioksidan tertinggi dan kedua analisis senyawa dengan KG-MS. Sampel diambil dari hasil samping proses penggilingan

padi berupa bekatul lalu di ayak dengan ukuran 40 mesh kemudian distabilisasi dengan cara pengukusan selama 60 menit. Ekstraksi minyak dalam bekatul dengan metode maserasi menggunakan perlakuan perbandingan pelarut (3:2) yaitu n-heksana: metanol dan kloroform: metanol; selama 24 jam dan dilanjutkan dengan remaserasi.

Masing-masing hasil minyak bekatul dengan berbagai pelarut diuji aktivitas antioksidan terhadap DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan konsentrasi 0.1 g/10 mL. Data yang diperoleh kemudian dihitung persen aktivitas antioksidan.

Proses selanjutnya adalah hidrolisis minyak dari bekatul beras ketan hitam dengan katalis basa KOH 12%. Direfluks selama 60 menit pada suhu 60 °C. kemudian ditambahkan aquades dan pelarut, dikocok dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan (fase air dan fase organik). Fase air ditambahkan dengan asam sulfat 1M hingga pH = 1 lalu ditambahkan dengan pelarut terbaik. Dipisahkan kedua fase tersebut dengan menggunakan corong pisah dan diambil fase organiknya. Fase organik dipekatkan dengan dialiri gas N₂.

Selanjutnya dilakukan identifikasi/karakterisasi asam lemak minyak bekatul yang memiliki nilai antioksidan tertinggi yang telah melalui proses esterifikasi dengan menggunakan katalis asam H₂SO₄ dalam metanol. Proses identifikasi asam lemak minyak bekatul dilakukan dengan menggunakan instrumen KG-SM (Kromatografi Gas-Spektrofotometer Massa).

3.4 Tahapan Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan melalui tahapan - tahapan berikut:

- 1) Preparasi sampel;
- 2) Ekstraksi minyak bekatul menggunakan metode maserasi;
- 3) Uji aktivitas antioksidan
- 4) Hidrolisis minyak bekatul beras ketan hitam;
- 5) Esterifikasi Asam Lemak Minyak Bekatul;
- 6) Identifikasi senyawa antioksidan menggunakan instrumentasi Kromatografi Gas-Spektrofotometer Massa (KG-SM).

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel (Sitinjak, 2008)

Bekatul diayak dengan ukuran 40 mesh kemudian dipanaskan dengan cara pengukusan selama 60 menit.

3.5.2 Ekstraksi Minyak Bekatul Menggunakan Metode Maserasi (Azizah, 2008)

Sebanyak 60 gram bekatul direndam menggunakan 300 mL n-heksana: metanol (180:120) selama 24 jam kemudian *dishaker* selama 3 jam dan dilanjutkan remaserasi dengan cara maserasi berulang terhadap ampas dari hasil maserasi pertama menggunakan cara dan pelarut yang sama.

Perlakuan di atas diulang untuk pelarut yang selanjutnya yaitu kloroform: metanol. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai ekstrak tidak menetes lagi, sehingga diperoleh ekstrak pekat n-heksana: metanol dan kloroform: metanol kemudian dialiri dengan gas N₂ untuk menghilangkan pelarut yang masih tersisa pada filtrat.

Rendemen dari masing-masing ekstrak dapat dihitung dengan rumus berikut (Harborne, 1987) :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

3.5.3 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

3.5.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (Hanani, 2005)

Dimasukkan metanol sebanyak 4,5 mL ke dalam kuvet, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL dan dimasukkan dalam kuvet hingga penuh. Selanjutnya dicari λ_{maks} larutan pada rentangan panjang gelombang 500-600 dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

3.5.3.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel (Moleyneux, 2004)

Absorbansi kontrol: Larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM diambil sebanyak 1,5 mL, kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan metanol sebanyak 4,5 mL. Tabung reaksi ditutup dengan tissue, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama waktu kestabilan yang telah didapatkan pada tahap sebelumnya. Setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan menggunakan UV-Vis pada λ_{maks} yang didapatkan pada tahap sebelumnya.

Absorbansi sampel: Sampel ekstrak kasar masing-masing pelarut dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 0,1 g/10 ml. Disiapkan enam tabung reaksi untuk masing-masing ekstrak kasar dan diisi dengan 4,5 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL (perbandingan larutan DPPH :

ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Setelah itu larutan ditutup dengan tissue dan diinkubasi dengan suhu 37 °C pada waktu kestabilan yang diperoleh pada proses sebelumnya, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah didapatkan sebelumnya. Data absorbansinya yang diperoleh dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Nilai tersebut diperoleh dengan persamaan (Arindah, 2010):

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Setelah didapatkan persen (%) aktivitas antioksidannya, selanjutnya ekstrak minyak bekatul diuji pada tahap selanjutnya yaitu hidrolisis. Pembanding BHT (*Butylated hydroxytoluene*) dan asam askorbat (vitamin C): diperlakukan seperti sampel akan tetapi sampel diganti dengan larutan BHT dan asam askorbat (vitamin C).

3.5.4 Identifikasi Senyawa Asam lemak pada Ekstrak Minyak Bekatul

3.5.4.1 Hidrolisis Minyak Bekatul (Fasya,2011)

Langkah awal untuk idenfikasi senyawa antioksidan adalah hidolisis ekstrak minyak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi menjadi asam lemak. Asam lemak dapat diperoleh dari minyak bekatul melalui proses penyabunan/saponifikasi. Tahap tersebut dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 gram minyak ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan dengan 5 mL metanol dan KOH 12 % (0.21 gram KOH dalam 1.75 mL aquades). Dilakukan refluks pada suhu 60 °C selama 90 menit. Selanjutnya ditambahkan sebanyak 40 ml aquades dan 20 ml pelarut terbaik, dikocok dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan (fase organik

dan fase air). Fase air diambil dan ditambahkan dengan asam sulfat 1M hingga pH = 1 dan ditambahkan dengan pelarut terbaik sebanyak 20 mL. Kemudian dilakukan pemisahan dengan menggunakan corong pisah dan diambil fase organik. Selanjutnya fase organik tersebut dipekatkan dengan menggunakan gas N₂. Asam lemak yang dihasilkan dari proses hidrolisis kemudian diesterifikasi dan selanjutnya diidentifikasi senyawa dengan instrumentasi KG-SM.

3.5.4.2 Esterifikasi Asam Lemak

Sebanyak 0.4 gram asam lemak hasil hidrolisis dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL larutan H₂SO₄ dan metanol sebanyak 2,4 gram. Selanjutnya dilakukan pengadukan menggunakan magnetic stirrer selama 60 menit. Hasil esterifikasi asam lemak kemudian diidentifikasi senyawa antioksidan dalam minyak bekatul beras menggunakan instrument KG-SM.

3.5.4.3 Identifikasi Senyawa Antioksidan Menggunakan Instrumentasi KG-SM

Analisis asam lemak minyak bekatul menggunakan Instrumentasi KG-MS. Asam lemak minyak bekatul yang telah diesterifikasi diambil sebanyak 1 µL kemudian diinjeksikan dalam instrumen KG-MS yang dioperasikan menggunakan kolom *Agilent* 30 m dan diameter 0,25 mm dengan temperatur oven diprogram antara 50°C-300°C, gas pembawa Helium bertekanan 12.0 kPa dan total laju 15.9 mL/menit.

3.5.5 Analisis Data

Data hasil ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi, dilakukan identifikasi senyawa yang terdapat pada ekstrak dengan metode KG-SM (Kromatografi Gas – Spektrofotometri Massa). Data yang ditampilkan adalah spectra KG-SM sehingga dapat diidentifikasi senyawa asam lemak yang didapatkan. Spektra SM diinterpretasi dalam bentuk tabel untuk mempermudah menentukan senyawa yang didapatkan.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Bekatul

Bekatul beras ketan hitam yang didapatkan berasal dari Desa Sindetlami Kecamatan Besuk Kabupaten Probolinggo. Sampel bekatul yang digunakan dalam keadaan masih segar yaitu hasil panen padi ketan hitam sekitar satu bulan langsung digiling agar hasil yang didapatkan tahan lama. Preparasi sampel merupakan tahapan penyerbukan sampel yang bertujuan untuk mempercepat tahapan ekstraksi maserasi. Penyerbukan dilakukan untuk menyeragamkan ukuran sampel. Preparasi sampel dimulai dengan cara sampel sebanyak 1.124 gram dilakukan pengayakan dengan ukuran pori 40 mesh. Menurut Wuryani (2005), Ukuran yang sesuai untuk jenis bekatul dalam proses ekstraksi adalah 40 mesh. Proses ini bertujuan untuk memperluas permukaan sampel sehingga interaksi antara pelarut dan sampel menjadi lebih efektif serta mempermudah kelarutan komponen bioaktif dan meningkatkan rendemen ekstraksi. Susanti dkk. (2008) mengatakan efisiensi proses ekstraksi, salah satunya dapat dilihat pada rendemen minyak yang diperoleh. Rendemen yang diperoleh diantaranya dipengaruhi oleh varietas sumber bekatul, musim tanam, curah hujan, cara ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan.

Tahap awal diperoleh berat sampel bekatul yang berwarna coklat kehitaman sebanyak ± 674 gram, setelah diperoleh ukuran sampel yang sama kemudian distabilisasi dengan cara pengukusan selama 60 menit. Tujuan dari proses stabilisasi ini adalah untuk menghancurkan enzim lipase. Enzim lipase merupakan enzim yang berfungsi untuk mengubah atau memecah lemak menjadi

asam lemak dan gliserol. Apabila didalam bekatul masih terdapat enzim lipase maka akan menurunkan kadar minyaknya (Anonymous, 2007). Menurut (Kusbiantoro dkk, 2010) mengatakan bahwa kerusakan minyak bekatul disebabkan oleh adanya aktivitas enzim lipase yang dapat menghidrolisa trigliserida menghasilkan asam lemak lemak bebas yang sangat mudah dioksidasi.

4.2 Ekstraksi Minyak Bekatul Beras Ketan Hitam

Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan terhadap dua cairan yang tidak saling larut (Khopkar, 2008). Adapun metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi yang merupakan salah satu metode ekstraksi yang menggunakan proses perendaman sampel dengan pelarut yang digunakan pada temperatur ruangan (Ferdiansyah, 2006). Metode ini berprinsip merendam sampel dengan pelarut dan beberapa kali dilakukan pengocokan dalam suhu ruang, sehingga terdapat waktu kontak yang cukup antara sampel dengan pelarut yang secara terus menerus akan terdistribusi kedalam sel dan mengakibatkan pemecahan dinding dan membran sel, kemudian senyawa aktif yang berada dalam bekatul akan terambil dan masuk dalam pelarut (Djarwis, 2004). Perendaman sampel dalam bahan alam akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan.

Prinsip utama dalam maserasi adalah mengekstrak senyawa aktif yang terdapat didalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing

kemampuan dari suatu pelarut dalam menarik atau mengikat metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel berdasarkan tingkat kepolaran dari pelarut yang digunakan, atau disebut juga dengan istilah *like dissolves like* (Khopkar, 2010). Penelitian ini menggunakan perbandingan pelarut (3:2) yaitu n-heksana (non polar): metanol (polar) dan kloroform (semi polar): metanol (polar) . Susanti (2012) menyatakan ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana menghasilkan rendemen yang lebih besar dibandingkan pelarut aseton. Chen dan bergman (2005) melaporkan bahwa ekstraksi bekatul menggunakan pelarut methanol dapat mengekstrak 92-102% senyawa fitokimia yang menjadi sasaran. Mutiara (2010) mengekstrak minyak bekatul varietas ketan dengan menggunakan pelarut kloroform didiapatkan kemurnian sebesar 99,66%. Penggunaan perbedaan tingkat kepolaran masing-masing pelarut bertujuan untuk mengoptimalkan hasil ekstraksi yang berupa minyak bekatul beras ketan hitam. Perbandingan pelarut bertujuan untuk dapat mengekstrak senyawa yang terkandung dalam bekatul tersebut dapat terekstrak ke dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang sama dengan senyawa-senyawa tersebut.

Perendaman sampel di lakukan selama 72 jam (± 3) hari karena proses ekstraksi akan berlangsung optimal dengan tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan sampel. Selama proses perendaman di *shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 9 jam (± 3) hari, Hal ini agar kontak antara sampel dan pelarut semakin sering terjadi, sehingga proses ekstraksi lebih sempurna. Ekstrak yang diperoleh kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh berwarna coklat kehitaman. Ampas yang dihasilkan dimaserasi kembali dengan pelarut hingga filtrat yang dihasilkan bening. Perlakuan remaserasi ini bertujuan untuk

mendapatkan senyawa aktif lebih maksimum dan didapatkan rendemen yang lebih besar.

Filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan *rotary evaporator vacuum* pada suhu 60 °C untuk menguapkan pelarut hingga diperoleh ekstrak pekat untuk memperoleh ekstrak pekat yang akan digunakan untuk uji tahap selanjutnya. Suhu tersebut digunakan untuk menguapkan pelarut disesuaikan dengan titik didih pelarut yang digunakan. Akan tetapi, karena dalam proses ini menggunakan sistem *vacuum* maka pelarut akan lebih cepat menguap (di bawah titik didihnya).

Menurut prinsip utama alat ini terletak pada penurunan tekanan dan pemutaran pada labu alas bulat yang secara terus menerus sehingga pelarut dapat menguap pada suhu di bawah titik didihnya (distilasi vakum). Penguapan pelarut dengan *rotary evaporator vacuum* dihentikan setelah diperoleh ekstrak yang cukup pekat, atau sudah tidak adanya pelarut yang menetes dalam labu destilat. Ekstrak pekat yang diperoleh berwarna hijau kecoklatan. Rendemen ekstrak n-heksana: metanol dan kloroform: metanol ditunjukkan pada Tabel 4.1 :

Tabel 4.1 Rendemen minyak Bekatul beras ketan hitam

Pelarut	Rendemen (%) (b/b)	Warna Ekstrak Pekat
n-heksana: metanol	7,9 %	Hijau Kecoklatan
Kloroform: metanol	9,5 %	Hijau Kecoklatan

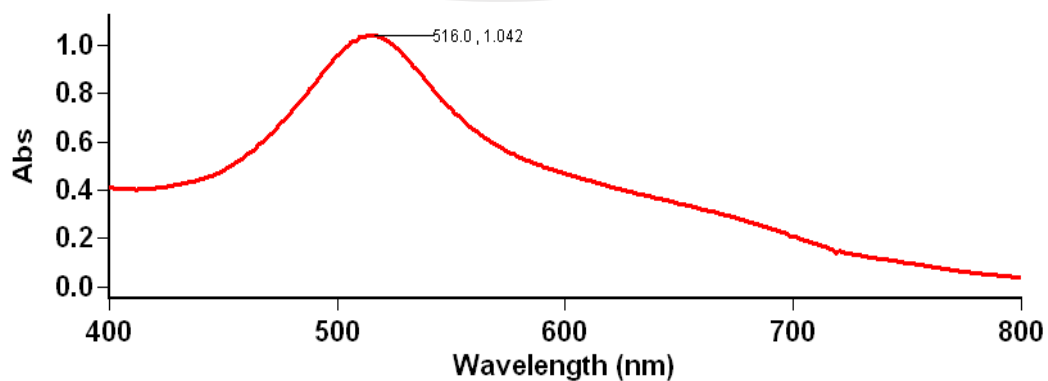
Rendemen merupakan persentase perbandingan antara berat ekstrak yang dapat dimanfaatkan dengan berat total sampel. Nilai rendemen digunakan untuk mengetahui keefektifan suatu bahan. Berdasarkan Tabel 4.1, ekstrak kloroform: metanol memiliki rendemen lebih besar dibandingkan dengan n-heksana: metanol sebesar 9,5 %. Hal ini dikarenakan sifat dari kandungan bekatul banyak yang polar dan kloroform cocok sebagai pelarut sedangkan n-heksana merupakan

pelarut non polar. Sehingga perbandingan persentase dari kedua ekstrak pelarut. Most dkk, (2005) menyebutkan bahwa secara umum kandungan lemak dalam bekatul berkisar pada 10–23 %. Sedangkan hasil rendemen dari n-heksana: metanol memiliki nilai yang lebih rendah dari nilai ekstrak kloroform: metanol disebabkan senyawa yang ada dalam bekatul mempunyai sifat polar yang dapat menarik senyawa dalam bekatul. Hal ini juga dikarenakan ada sifat senyawa pengganggu di dalam sampel yang menyebabkan randemennya rendah. Mumpuni (2013) melaporkan bahwa pelarut non polar merupakan pelarut yang memiliki tingkat kelarutan yang baik untuk lemak.

4.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

4.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui λ yang memiliki serapan tertinggi terhadap DPPH. Menurut Gandjar dan Rohman (2007), pada panjang gelombang maksimum perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar sehingga akan dihasilkan absorbansi yang maksimal. Hasil spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM ditunjukkan pada Gambar 4.1:

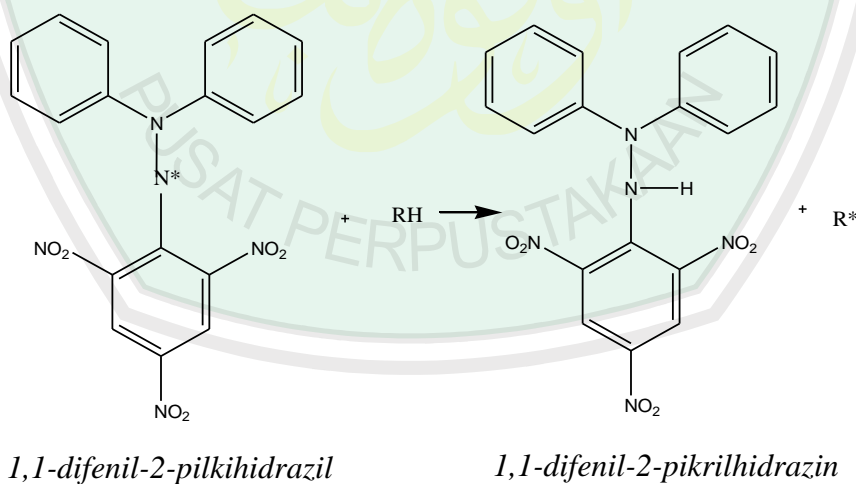


Gambar 4.1 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM

Berdasarkan spektra pada gambar 4.1, λ maks DPPH 0,2 mM berwarna ungu adalah 516 nm. Hasil ini sesuai dengan penelitian prakash (2007) yaitu λ maksimum pada panjang gelombang 515 – 520 nm.

4.3.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Pengujian potensi antioksidan pada sampel dilakukan pada panjang gelombang 516 nm sesuai hasil yang didapatkan pada penentuan panjang gelombang maksimum sebelumnya. Potensi antioksidan diukur dengan melakukan pada masing-masing sampel dengan metode DPPH. Larutan DPPH 0,2 mM digunakan sebagai kontrol pada pengukuran potensi aktivitas antioksidan yang diperlukan sebagai pembanding dan memberikan kestabilan dalam menentukan potensi antioksidan sampel (Arindah, 2010). Berikut ini reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas :



Gambar 4.2 Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas (Prakash dkk., 2001)

Reduksi DPPH menjadi DPPH-H disebabkan adanya donor hidrogen dari senyawa hidroksil yang berada dalam sampel. Senyawa hidroksil tersebut akan terpisah menjadi bagian-bagian kecil. Semakin banyak gugus hidroksil bebas

dapat menyumbangkan hidrogen maka semakin banyak juga reduksi yang dapat dilakukan terhadap DPPH. Jadi, reduksi DPPH menjadi DPPH-H ditandai dengan perubahan warna pada reagen, dari ungu menjadi kuning. Menurut Molyneux (2004), DPPH berwarna ungu karena mempunyai satu atom N yang elektronnya tidak berpasangan. Apabila DPPH bereaksi dengan senyawa yang dapat meredam radikal bebas, maka akan terjadi pengikatan satu elektron dengan atom yang dapat mendonorkan elektronnya (atom H) membentuk *diphenilpicrylhydrazine* yang stabil.

Sampel yang diuji aktivitas antioksidannya yaitu ekstrak n-heksana: metanol dan ekstrak kloroform: metanol dari ekstrak bekatul beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*) dibandingkan dengan vitamin C dan BHT dengan tujuan untuk mengetahui kekuatan potensi antioksidannya. Selanjutnya hasil yang didapatkan kemudian dihitung menggunakan persen (%) aktivitas antioksidan merupakan salah satu parameter yang menunjukkan kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal bebas. Menurut Rahayu, dkk. (2010) Semakin tinggi persen (%) antioksidan menunjukkan banyaknya atom hidrogen yang diberikan oleh senyawa aktif kepada radikal DPPH sehingga DPPH tereduksi menjadi DPPH-H.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pengukuran masing-masing sampel ketika ditambahkan larutan DPPH mengalami perubahan warna dari ungu tua sampai kuning. Perubahan warna ini menandakan bahwa masing-masing ekstrak memiliki kemampuan potensi sebagai antioksidan. Perubahan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap

atom hidrogen dari senyawa antioksidan. Persentase aktivitas antioksidan dalam berbagai perbandingan ditunjukkan dalam Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Persentase aktivitas antioksidan

Sampel	Antioksidan (%)
n-heksana: Metanol	81,64
Kloroform: Metanol	76,77
Vitamin C	95,48
BHT	92,86

Berdasarkan Tabel 4.2, dijelaskan persentase aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak senyawa n-heksana: metanol. Ekstrak n-heksana: metanol memiliki nilai aktivitas antioksidan yang lebih besar dari pada ekstrak kloroform: Metanol sehingga dapat disimpulkan ekstrak senyawa n-heksana: metanol lebih efektif dalam meredam radikal bebas DPPH karena alasan Semakin besar persentase aktivitas antioksidan sampel maka semakin berpotensi sebagai antioksidan.

Persentase antioksidan pembanding BHT dan Vitamin C memiliki persen aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan dengan kedua ekstrak minyak bekatul ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*). Hal ini berdasarkan senyawa pembanding vitamin C dan BHT mempunyai antioksidan tinggi karena sudah jelas kemurnian dari senyawa antioksidan yang terkandung di dalamnya, sehingga aktivitas antioksidan yang diperoleh lebih optimal.

4.4 Identifikasi Asam Lemak didalam Minyak Bekatul Beras Ketan Hitam Menggunakan Kromatografi Gas (KG)

Minyak bekatul hasil ekstraksi akan diidentifikasi menggunakan kromatografi gas. Syarat senyawa dengan kromatografi gas yaitu harus mudah menguap. Minyak bekatul tidak dapat langsung diidentifikasi dengan

kromatografi gas karena memiliki sifat tidak menguap sehingga perlu proses esterifikasi. Adapun tahapan proses esterifikasi terdiri dari dua tahap yaitu hidrolisis dan esterifikasi.

4.4.1 Hidrolisis Minyak Bekatul Beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*)

Trigliserida merupakan komponen utama penyusun lemak atau minyak. Trigliserida terdiri atas ester gliserol dan asam lemak. Proses hidrolisis bertujuan untuk memperoleh asam lemak yang selanjutnya akan digunakan untuk reaksi esterifikasi. Hidrolisis ini menggunakan ekstrak minyak bekatul beras ketan hitam yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi ekstrak (n-heksana: metanol) untuk menjadi asam lemak. Tahapan pertama minyak hasil ekstraksi dan didapatkan berat minyak sebesar 1 gram. Kemudian minyak dimasukkan dalam labu alas bulat leher tiga dan ditambahkan dengan 5 mL metanol sebagai pelarut. Selanjutnya ditambahkan dengan KOH 12 % (0,2 gram KOH dilarutkan dalam 1,75 mL air). Selanjutnya dilakukan refluks pada campuran larutan tersebut dengan disertai proses pemanasan menggunakan suhu 60 °C selama 90 menit.

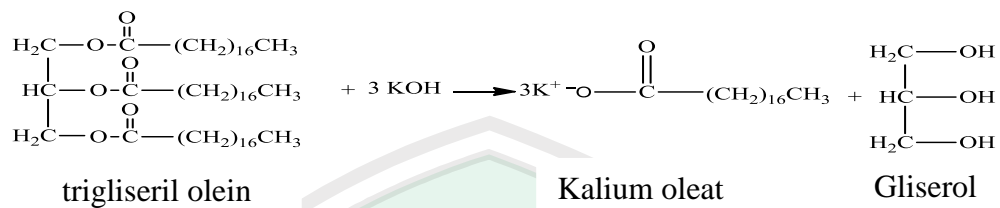
Penimbangan ekstrak minyak bekatul didapatkan warna hitam kekuningan kemudian pada penambahan KOH berfungsi sebagai katalis basa. KOH sering digunakan dalam reaksi saponifikasi karena lebih mudah membentuk garam asam lemak dibanding natrium hidroksida. Kalium dan natrium merupakan unsur-unsur yang berada pada golongan yang sama dalam periodik, yaitu golongan I (Golongan alkali). Dalam satu golongan, kereaktifan unsur-unsur bertambah dari atas ke bawah, begitu juga dengan sifat elektropositif lebih besar dibandingkan natrium. Oleh karena itu, kecenderungan kalium untuk membentuk ion positif lebih besar dibandingkan natrium, karena jari-jari atom kalium lebih besar

daripada natrium. Semakin besar jari-jari atom, letak elektron valensi akan semakin jauh dari inti atom, sehingga lebih mudah untuk lepas dan membentuk ion positif. Hal ini juga dapat dilihat dari besarnya energi ionisasi pertama kedua unsur ini, yaitu 496 kJ/mol untuk Na dan 419 kJ/mol untuk K. Menurut Yuvitasari (2013) penggunaan alkali berupa basa KOH akan menghasilkan garam sabun kalium yang dihasilkan lebih mudah larut dalam air daripada garam natrium atau alkali lainnya. Hasil yang didapatkan dari reaksi saponifikasi menggunakan katalis KOH adalah garam sabun kalium.

Hidrolisis dengan basa menghasilkan reaksi yang bersifat *irreversible*. Terjadinya reaksi yang bersifat *irreversible* adalah karena ketika trigliserida telah habis, maka reaksi pembentukan produk berupa sabun dan gliserol akan berhenti. Produk yang terbentuk tidak dapat lagi kembali menjadi reaktan, sehingga proses pembentukan produk dapat maksimal.

Tahapan selanjutnya adalah refluks merupakan proses pencampuran suatu larutan dengan disertai pemanasan dan pengadukan yang ditujukan untuk mempercepat campuran larutan untuk homogen. Proses pengadukan sangat penting untuk dilakukan karena menurut (Zulkarnain dkk, 2009) menyatakan bahwa hidrolisis yang disertai dengan pengadukan pada kecepatan 300 rpm memiliki % hidrolisis yang lebih besar daripada menggunakan kecepatan pengadukan 100 rpm. Warna larutan yang dihasilkan dalam proses refluks adalah kuning kecoklatan.

Reaksi yang terjadi dalam proses hidrolisis gliseril olein ditunjukkan pada Gambar 4.3.



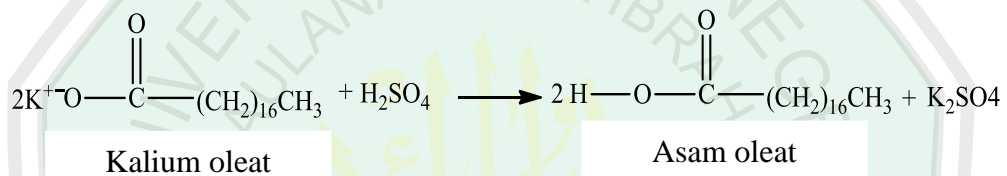
Gambar 4.3 Reaksi hidrolisis trigliseril olein (Malik, 2015)

Reaksi pada Gambar 4.3 menunjukkan bahwa ada perubahan yang berbeda dari sebelumnya yaitu terjadinya pembentukan garam kalium (sabun) yang larut dalam air. Pembentukan garam kalium disebut dengan saponifikasi. Proses yang terjadi ini membutuhkan KOH yang berlebih sesuai dengan perhitungan trigliserida terbesar. Tujuan dari pembuatan KOH yang berlebih karena apabila KOH yang digunakan dalam proses hidrolisis lebih kecil daripada jumlah komponen minyak, maka tidak semua minyak dapat tersabunkan (hidrolisis parsial) sehingga hal tersebut tentu akan mempengaruhi kuantitas produk yang dihasilkan atau dapat disebut bahwa proses penyabunan tidak maksimal (Perwitasari, S., 2011). pemilihan metanol sebagai pelarut karena metanol memiliki gugus polar dan non polar, sehingga dapat mencampurkan KOH yang bersifat polar dan minyak yang bersifat non polar.

Garam kalium yang larut dalam air yang didapatkan kemudian dipisahkan dari pengotornya menggunakan corong pisah dengan cara penambahan 40 mL aquades dan 20 mL pelarut (n-heksana: metanol) dengan perbandingan 3:2. Dalam proses pemisahan tersebut terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan organik dan lapisan air. Lapisan organik berada pada bagian atas dan lapisan air berada pada bagian

bawah penyebab ini adalah perbedaan densitas antara lapisan organik dan lapisan air.

Fase air yang berada di bagian bawah diambil lalu H_2SO_4 1M ditambah agar bisa garam menjadi asam lemak. Penambahan H_2SO_4 dilakukan hingga pH = 1 untuk memastikan bahwa seluruh garam yang terbentuk telah berubah menjadi asam lemak. Reaksi yang terjadi pada saat penambahan H_2SO_4 nampak pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Reaksi pembentukan asam lemak

Asam lemak yang terbentuk karena masih campuran, maka dilakukan pemisahan dengan penambahan pelarut terbaik yaitu n heksan; metanol dan air sehingga terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan air dan lapisan organik. Asam lemak bersifat non polar sehingga terlarut pada fase organik. Oleh karena itu, fase organik (bagian atas) diambil dan dilakukan penguapan pelarut.

Asam lemak hasil hidrolisis akan berwujud cair pada suhu kamar apabila komposisi utama asam lemak memiliki rantai karbon pendek dan medium (atom $\text{C} \leq 12$) atau yang komposisi utamanya asam lemak jenuh tetapi akan berwujud padat di suhu kamar apabila komponen utamanya adalah asam lemak dengan atom $\text{C} \geq 14$ atau asam lemak tak jenuh (Poedjiadi,2005).

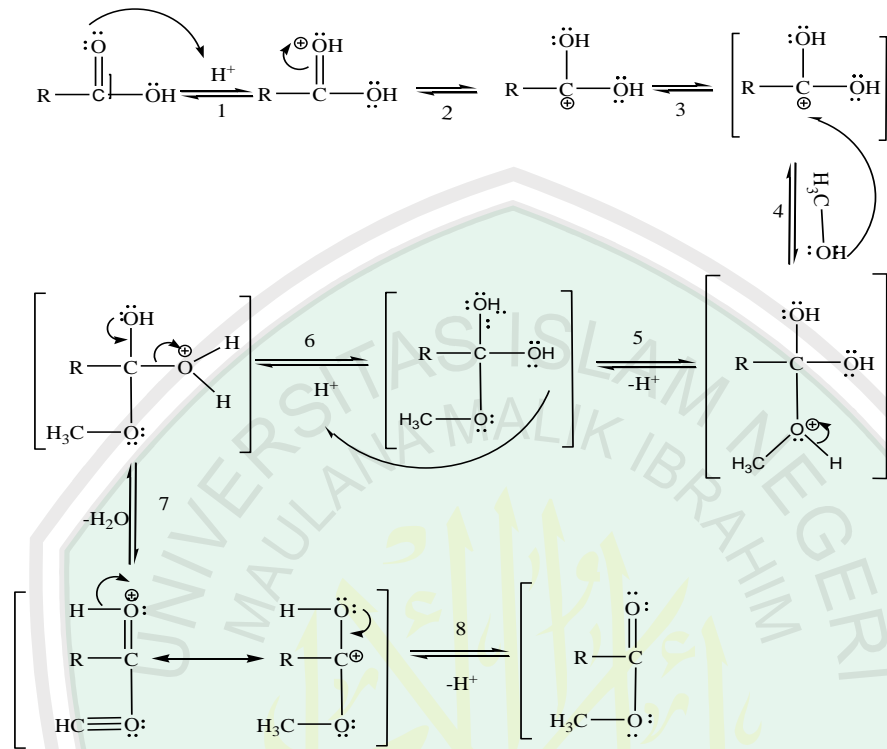
4.4.2 Esterifikasi Asam Lemak Minyak Bekatul Beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*)

Ester adalah turunan asam karboksilat, dengan gugus hidroksil (-OH) dari asam karboksilat digantikan oleh gugus alkoksi (-OR). Kebanyakan ester merupakan zat yang berbau enak, menyebabkan cita rasa dan harum dari banyak buah-buahan dan bunga, seperti pentil asetat yang berbau pisang. Campuran ester digunakan dalam parfum dan cita rasa buatan (Hart, Craine, Hart, 2003).

Esterifikasi ini digunakan untuk mengubah asam lemak bebas menjadi larutan metil ester. Esterifikasi asam lemak minyak Bekatul beras ketan hitam (*Oryza sativa*) diawali dengan mencampur asam lemak yang didapatkan dari hasil hidrolisis dengan metanol, yang bertindak sebagai reaktan, dengan perbandingan rasio molar 1:6. Perbandingan ini merujuk dari penelitian yang dilakukan oleh Shakti dan Fatmawati (2013) yang melakukan proses esterifikasi dari minyak sebagai kajian awal sintesis biodiesel.

Langkah selanjutnya asam lemak dan metanol setelah bereaksi ditambah katalis H_2SO_4 , katalis asam kuat diharapkan mampu meningkatkan laju esterifikasi. Selain itu pemilihan katalis asam kuat berupa H_2SO_4 mampu meningkatkan laju esterifikasi juga merupakan *dehydrating agent* (Kusmiyati, 2008). Kemudian aduk dengan *magnetic stirrer* selama 60 menit agar cepat bereaksi. Pengadukan dengan *magnetic stirrer* akan menambah kecepatan gerak partikel yang menyebabkan semakin sering partikel-partikel asam lemak yang dikandung dalam asam lemak dan partikel-partikel metanol saling bertumbukkan, sehingga dapat mempercepat reaksi. Mekanisme reaksi asam lemak dengan

metanol dengan katalis H_2SO_4 sebagai berikut (Hart, 2003):



Gambar 4.5 Mekanisme reaksi ALB dan metanol dengan katalis H_2SO_4

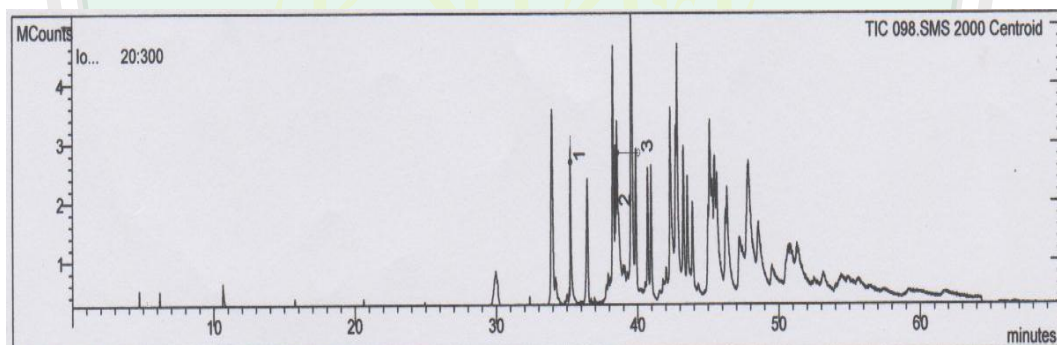
Keterangan :

1. Gugus karbonil dari asam terprotonasi secara reversible.
2. dan 3. Protonasi akan meningkatkan muatan positif pada karbon karboksil dan menambahkan reaktivitasnya terhadap nukleofilik.
4. Metanol sebagai nukleofilik menyerang karbon karbomil dari asam terprotonasi . Ikatan C-O baru terbentuk.
5. dan 6. merupakan kesetimbangan dimana oksigennya terlepas/memperoleh proton. Kesetimbangan asam basa bersifat reversible, berlangsung cepat dan terus menerus berjalan dalam larutan bersuasana asam dari senyawa yang mengandung oksigen.

7. Terbentuk air. Gugus $-OH$ harus terprotonasi untuk meningkatkan kapasitas gugus perginya.
8. Langkah deprotonasi menghasilkan ester dan regenerasi katalis asam.

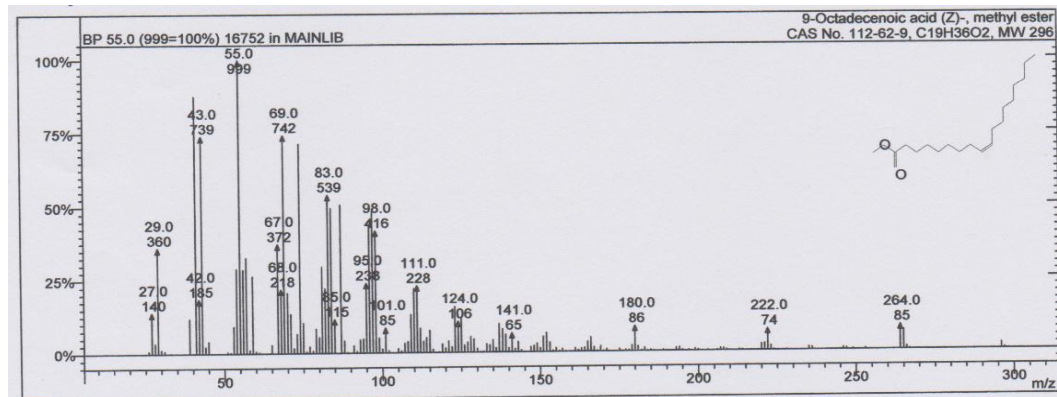
4.4.3 Identifikasi Senyawa menggunakan Instrumen Kromatografi Gas-Spektrofotometer Massa(KG-SM)

Pada tahap ini identifikasi senyawa antioksidan dikhususkan untuk ekstrak minyak bekatul beras ketan hitam yang memiliki nilai antioksidan yang tertinggi yaitu ekstrak n-heksana: metanol. Hasil esterifikasi minyak (metil ester) di tahap 4.6 diinjeksikan ke instrumen KG-SM Shimadzu. Kromatogram yang dihasilkan oleh instrumen KG-SM diperoleh 3 puncak (*peak*) senyawa ester seperti pada Gambar 4.6 berikut ini:



Gambar 4.6 Kromatogram Sampel Metil Ester

Senyawa metil ester yang teridentifikasi oleh Kromatografi Gas mengandung 3 puncak (*peak*) Diperoleh puncak yang tertinggi adalah puncak ke-3 yang memiliki waktu retensi 38,570 menit dengan luas area 54,8%. Dengan menggunakan spektrometer massa, struktur senyawa dan berat molekulnya dapat terlihat dengan jelas, seperti pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Spektrum massa metil oleat

Gambar 4.7 menunjukkan bahwa dalam spektrum puncak ke-3 merupakan senyawa yang memiliki berat molekul (m/z) 296, yang teridentifikasi metil oleat. Senyawa tersebut memiliki puncak dasar, m/z 55 yang merupakan hasil fragmentasi dari $\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOCH}_3$. Selanjutnya puncak-puncak yang muncul pada fragmentasi senyawa tersebut adalah m/e 296, 264, 222, 180, 141, 124, 111, 101, 98, 95, 85, 83, 69, 68, 67, 55, 43, 42, 29 dan 27.

Selanjutnya interpretasi ke-3 puncak senyawa hasil analisis spektrofotometer massa dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Spektrum Massa untuk Metil Ester

Peak	tR (menit)	% Area	BM / Rumus Molekul	Nama Senyawa
1	35.262	73.8	270/ C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Asam heksadekanoat/asam palmitat
2	38.481	67.0	308/ C ₁₉ H ₃₄ O ₂	9,12-asam oktadekanoat/ asam linoleat
3	38.570	54.8	296/ C ₁₉ H ₃₆ O ₂	9-asam oktadekanoat/ asam oleat

Tabel 4.3 Hasil Metil Ester

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa terdapat 3 kemungkinan senyawa yang ada pada sampel ekstrak minyak bekatul beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*) dengan pelarut n-heksana: metanol yang sudah diesterifikasi dengan retensi waktu yang berbeda-beda serta luas dan persen area yang berbeda pula. Luas area

terbesar terdapat pada puncak ke-3 yaitu 158874 sebesar 54,8 %. Dengan waktu retensi 38.570 menit yang merupakan senyawa dengan rumus $C_{19}H_{36}O_2$ dan nama senyawanya adalah 9-asam oktadekanoat dengan berat molekul 296 yang merupakan derivat senyawa asam oleat.

Penelitian yang dilakukan oleh Pabesak (2012) melaporkan bahwa asam lemak yang terkandung pada bekatul adalah senyawa asam oleat yang memiliki luas area sebesar 45,34%. Purnomo (2013) juga melaporkan asam lemak pada bekatul yaitu senyawa asam oleat pada dengan luas area sebesar 32,75%. Menurut Fasya (2011) asam lemak merupakan salah satu senyawa yang berpotensi sebagai senyawa antioksidan.

Berdasarkan penelitian tersebut dapat diketahui ketika mengekstrak bekatul yaitu mengandung asam oleat. Sehingga pada penelitian disimpulkan pada ekstrak minyak bekatul beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*) dapat berfungsi sebagai antioksidan yang baik juga dengan melihat hasil aktivitas antioksidan yang begitu besar pada ekstrak minyak bekatul beras ketan hitam.

4.5 Pemanfaatan Bekatul Beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*) dalam Prespektif Agama Islam

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ وَالْفُلْكِ الَّتِي تَجْرِي فِي الْبَحْرِ بِمَا يَنْفَعُ النَّاسَ وَمَا أَنْزَلَ اللَّهُ مِنَ السَّمَاءِ مِنْ مَّاءٍ فَأَحْيَا بِهِ الْأَرْضَ بَعْدَ مَوْتِهَا وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَتَصْرِيفِ الرِّيْحِ وَالسَّحَابِ الْمُسَخَّرِ بَيْنَ السَّمَاءِ وَالْأَرْضِ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ ﴿١٦٤﴾

Artinya:

“ Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, silih bergantinya malam dan siang, bahtera yang berlayar di laut membawa apa yang berguna bagi manusia, dan apa yang Allah turunkan dari langit berupa air, lalu dengan air itu Dia hidupakan bumi sesudah mati (kering)-nya dan Dia sebarkan di bumi itu segala jenis hewan, dan pengisaran angin dan awan yang dikendalikan antara langit dan bumi; sungguh (terdapat) tanda-tanda (keesaan dan kebesaran Allah) bagi kaum yang memikirkan”.(al-baqarah:164)

Ayat diatas Allah Swt menjelaskan bahwa segala yang diciptakan di langit dan bumi bukanlah hal yang sia-sia belaka (Allah tidak sekedar membuat) namun diciptakannya alam semesta dengan kejadian yang terjadi agar manusia dapat memikirkan penciptanya yaitu Allah SWT. Qarni (2007) menafsirkan bahwa Allah dalam menciptakan langit serta meninggikan bumi tanpa tiang, seperti yang dilihat oleh manusia, lalu menciptakan gunung-gunung agar bumi seimbang tidak mudah terguncang. Allah SWT menurunkan air hujan dari awan yang rasanya tawar untuk menyuburkan tanah. Ash-Shiddieqy (2000) menafsirkan bahwa dari tanah yang subur itulah tumbuh beraneka tumbuhan yang memiliki banyak manfaat. Alam semesta diciptakan Allah SWT sebagai bentuk kasih sayang-Nya kepada kita sebagai makhluk yang dipilih untuk menjaga bumi sehingga mempunyai tugas untuk menjaga dan melestarikan alam untuk tujuan yang agung, yaitu mengetahui dan mengenal Allah SWT dengan tanda-tanda kekuasaan, asma dan sifat-Nya. Maka dalam surat yang lain juga di jelaskan bentuk keseriusan Allah dalam menciptakan alam semesta ini agar makhluknya dapat bersyukur kepada Allah dengan mengetahui segala penciptaannya yaitu di jelaskan dalam surat al-anbiya:16 .

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لَعِبِينَ ﴿١٦﴾

“ dan tidaklah kami ciptakan langit dan bumi dan segala yang ada di antara keduanya dengan bermain-main”(QS. Al-anbiya’:16).

Kata (لعبين) untuk menunjukkan kekuasaan Allah SWT dan memberikan manfaat kepada hamba-hambanya (Al-mahalli dan as-suyuthi, 2010). Segala yang diciptakan Allah SWT semuanya tidaklah ada yang sia-sia seperti halnya bekatul beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*) mempunyai banyak manfaat lalu diperkuat dengan ayat Allah SWT berfirman dalam surat as-Syu’ara:7-8.

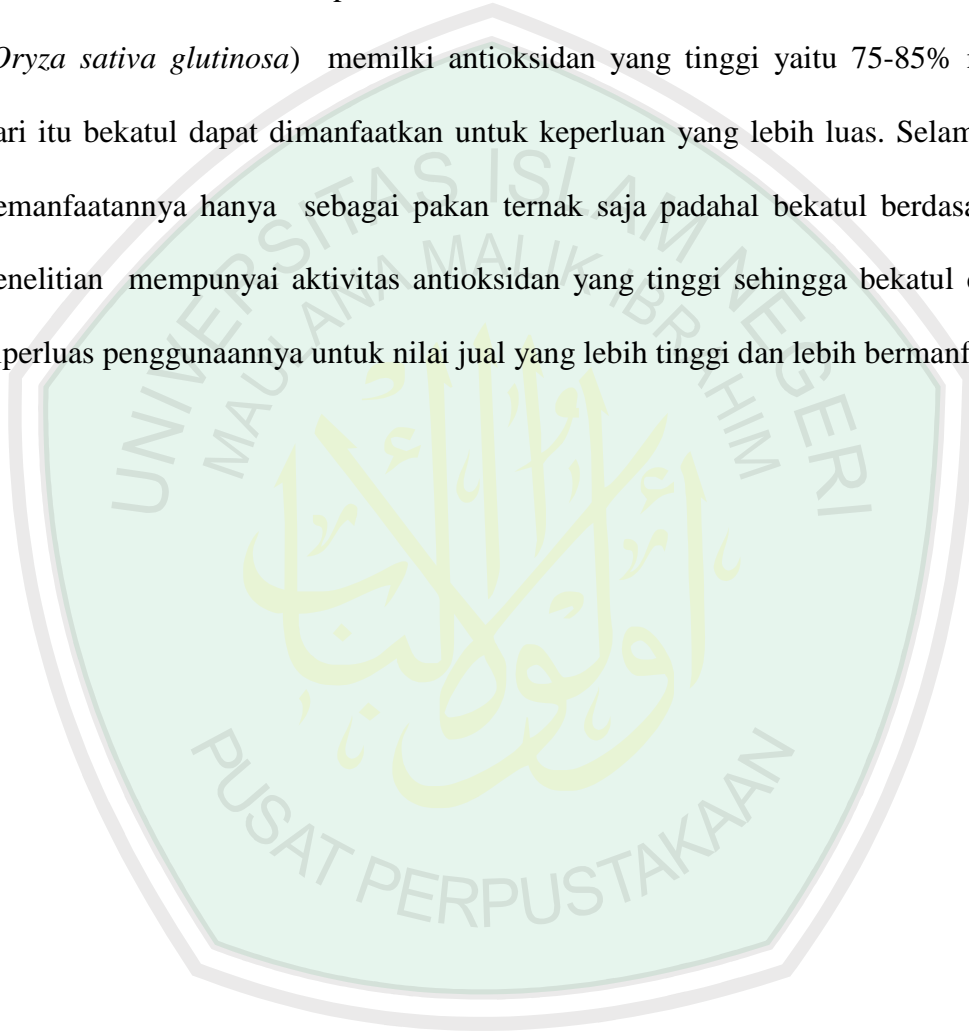
أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً
وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman (Qs. Asy-syu’ara: 7-8)

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah Swt menciptakan segala yang ada di muka bumi tidaklah hanya sia-sia melainkan mempunyai banyak manfaat meskipun semua manfaat masih belum banyak di ketahui manusia, Menurut (As’ad, 2011) makna زوج كريم yaitu suatu jenis tumbuhan yang banyak manfaatnya, baik dan tidak berbahaya. Hal ini sesuai dengan manfaat dari padi yang memiliki banyak manfaat mulai dari padi itu sendiri sampai limbah atau hasil samping dari proses penggilingannya yaitu bekatul. Maka dari itu sebagai makhluk manusia harus selalu bisa memperhatikan segala yang di ciptakan Allah SWT baik dengan melakukan penelitian lebih dalam lagi atau dengan yang

lainnya. Setelah mengetahui ini semuanya bahwa tidak ada satu pun ciptaanNya yang bernilai sia-sia sebab semuanya memiliki potensi yang sesuai dengan kadar yang cukup (Shihab, 2002).

Berdasarkan hasil penelitian ini diketahui bekatul beras ketan hitam (*Oryza sativa glutinosa*) memiliki antioksidan yang tinggi yaitu 75-85% maka dari itu bekatul dapat dimanfaatkan untuk keperluan yang lebih luas. Selama ini pemanfaatannya hanya sebagai pakan ternak saja padahal bekatul berdasarkan penelitian mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga bekatul dapat diperluas penggunaannya untuk nilai jual yang lebih tinggi dan lebih bermanfaat.



BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak minyak bekatul beras ketan hitam yaitu n-heksana: metanol 81,64% lebih besar dibandingkan kloroform: metanol 76,77%.
2. Senyawa yang terkandung dalam minyak bekatul beras ketan hitam hasil ekstraksi n-heksana: metanol adalah metil oleat (asam 9-oktadekanoat) dengan rumus $C_{19}H_{36}O_2$.

5.2 Saran

1. Sampel ekstrak hasil esterifikasi harus terbebas dari pengotor (jernih) sebelum diinjeksikan ke alat KG
2. Perlu diperhatikan pengaturan area massa permuatan (m/z) yaitu pada 28-300 m/z.

DAFTAR PUSTAKA

- Adom K, Liu R. 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(21):6182-6187.
- Anam, C., Basito, dan nailufar, A. 2012. Kajian karakteristik ketan hitam (*Oriza sativa glutinosa*) pada beberapa jenis pengemas selama penyimpanan. *Jurnal Teknosains pangan oktober 2012 Vol 1 No 1*
- Anandita, K., Manuhara, J., dan Handajani, S., 2010. Pengaruh suhu ekstraksi terhadap karakteristik fisik, kimia dan sensorik minyak wijen. *Journal of Agritech. Vol. 30, No. 2.*
- Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi III.* Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Anonimous. 2007. Mengolah Dedak menjadi Minyak (*Rice Bran Oil*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*.Vol. 29 (4). Diakses tanggal 6 Oktober 2015
- Amiarsi, D., Yulistiningsih, Sabari, D. 2006. *Pengaruh Jenis dan Perbandingan Pelarut Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Atsiri Mawar.* J Hort: 16 (4)
- Ardiansyah. 2010. *Bekatul Sumber Prebiotik (Laboratory of Nutrition, Graduate School of Agricultural Science, Tohoku University-Sendai, Jepang dan Departemen Gizi Masyarakat, FEMA-IPB).* www.bekatul.net. Diakses tanggal 12 Oktober 2013
- Arindah, D. 2010. *Fraksinasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Antioksidan pada Daging Buah Pepino (Solonum Muricatum aiton) yang Berpotensi sebagai Antioksidan. Skripsi Tidak Diterbitkan.* Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
- Artini, P.E.U.D., Astuti, K.W. dan Warditiani, N.K. 2013. *Uji Fitokimia Ekstrak Etil Asetat Rimpang Bangle (Zingiber purpureum Roxb.).* Jurusan Farmasi: Universitas Udayana
- Ash-Shiddieqy, M. Hasbi dan Teungku. 2000. *Tafsir Al Quranul Majid An-Nuur.* Semarang: Pustaka Rizki Putra.
- Anonimous. 2007. Mengolah Dedak menjadi Minyak (*Rice Bran Oil*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*.Vol. 29 (4).
- Cahyadi, W. 2006. *Kedelai Khasiat dan Teknologi.* Bandung: Bumi Aksara.

- Cahyanine, M., Estiasih, T. dan Nisa, F.C. 2008. Fraksi Kaya Tokoferol Dari Bekatul Beras (*Oryza Sativa*) Dengan Teknik Kristalisasi Pelarut Suhu Rendah. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol.9(3):165 – 172.
- Chanphrom P. 2007. *Antioxidant and Antioxidant Activities of pigmented rice varieties and rice bran*.(Thesis). Thailand: faculty of graduated studies, Mahidol university.
- Chen, M.H. dan Bergman, C.J. 2005. A Rapid Procedure for Analysing Rice Bran Tocopherol, Tocotrienol and γ -Oryzanol Contents. *Journal Food Compos Analysis*. Vol. 18 : 139–151.
- Damayanthi, E. 2002. *Karakteristik bekatul padi (Oryza sativa) awet serta aktivitas anti oksidan dan penghambatan proliferasi sel kanker secara in vitro dari minyak dan fraksinya*. Bogor: Disertasi Doktoral Program Pascasarjana, Program Studi Ilmu Pangan, Institusi Pertanian Bogor
- Damayanthi, E., Kustiyah, L., dan Farizal, H. 2010. Aktivitas Antioksidan Bekatul Lebih Tinggi Daripada Jus Tomat dan Penurunan Aktivitas Antioksidan Serum Setelah Interferensi Minuman Kaya Antioksidan. *Journal of Nutrition and Food*: 5 (3).
- Djarwis, D. 2004. *Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Pelaksana Kelompok Kimia Ornaki Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS Jakarta
- Fasya, A.Ghanaim. 2011. *Sintesis Metil 10, 12, 14-oktadekatrienoat Dari (Asam α -linoleat) Biji Selasih (*Ocimum basilicum*) dan Uji Bioaktifitasnya*. Thesis: Universitas Brawijaya: Malang
- Ferdiansyah, I.A. 2006. *Ekstraksi Daun Mindi (Melia Adedarach Linn) Kering Secara Maserasi Menggunakan Pelarut Etanol 90%*. Malang: FTP UNIBRAW.
- Gescher, A. 2007. “Rice Bran Could reduce Risk of Colon Cancer” dalam http://www.cancerfacts.com/Home_News.asp?CancerTypeId=4&NewsId=2148 tanggal akses 2 Februari 2009
- Goffman, F.D., Pinson, S., dan Bergman, C. 2003. *Genetic Diversity for Lipid Content and Fatty Acid Profile in Rice Bran*. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, pp. 485-490
- Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB.

- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri Jilid 1*, Penj. Ketaren. S. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Guntarti, A., Maulida, R., *Pengaruh ukuran partikel beras hitam terhadap randemen ekstrak dan kandungan total antosianin*. Yogyakarta: Universitas Ahmad dahlan.
- Hart, H., Craine, L. E., Dan David, J. H. 2003. *Kimia Organik-Suatu Kuliah Singkat*. Jakarta : Erlangga
- Hadipernata, M.(2006),”*Mengolah dedak padi menjadi minyak (Rice Bran Oil)*”, Balai penelitian dan pengembangan pasca panen Pertanian Bogor.
- Harborne, JB.. 1987. *Metode fitokimia Edisi Kedua*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Haryoto, Santoso, B., dan Nugroho, H. 2007. *Aktivitas antioksidan fraksi polar ekstrak methanol dari kulit kayu batang shorea acuminata dengan metode DPPH*.
- Hidajat, B. 2005. *Penggunaan Antioksidan Pada Anak*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
- Ketaren, S. (1986). *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI-Press.
- Ketaren, S., 2005, *Minyak dan Lemak Pangan*, UI-Press, Jakarta.
- Kahlon T.S., F.I Chow, M.M. Chiu., C.A Hudson dan R.N sayte. 1996. *Cholesterol-lowering by rice bran and rice bran oil unsaponifiable matter in hamsters. Cereal chem.* 73(1): 69-74 1996
- Kamila, H., Fitriyanti. Nasir, S., 2009. *Ekstraksi dedak padi menjadi minyak mentah dedak padi (Crude rice bran oil) dengan pelarut n-heksana dan ethanol*. Sriwijaya : Universitas Sriwijaya
- Khrisna, AG Gopala., Khatoon, S., Shiela, PM., Sarmandal, CV., Indira, TN., Mishra,A. 2001. Effect of Refining of Crude Rice Bran Oil on the Retention of Oryzanol in the Refined Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 78: 127-131.
- Khopkar, S. M. 2010. *Konsep Dasar Kimia Analitik* Penj. A. Saptorahardjo. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Kusbiantoro, R., Sukarno, Budijanto, S., 2010. Inaktivasi enzim lipase untuk stabilisasi bekatul (Maksimum FFA 5 %) \$ Varietas padi sebagai bahan *ingredient* pangan fungsional yang dapat disimpan 6 bulan. *Jurnal kerjasama kemitraan penelitian pertanian*

- Kusmiyati, 2008. Reaksi katalitis esterifikasi asam oleat dan metanol menjadi biodiesel dengan metode distilasi reaktif. *Jurnal reaktor*, Vol. 12 No. 2, Desember 2008, Hal. 78-82.
- Kusumawati, P. 2007. *Potensi Pengembangan Produk Pangan Fungsional Berantioksidan Dari Makroalga Dan Mikroalga*. Oseana
- Malik, A. 2015. *Ekstraksi minyak dari bekatul beras putih dengan variasi pelarut dan pengaruh variasi konsentrasi ekstrak kasar terhadap antioksidan*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mambrassar, H. R, Prasetyo B., dan Martosupono martanto. 2010. *Antioksidan dan imunodulator pada serelia*. Surakarta: Universitas Kristen Satya Wacana
- Manik, J. 2011. Karakterisasi Simplisia dan Skrining Fitokimia serta Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak *n*-Heksan Etilasetat dan Etanol Rumput Laut *Sargassum polycystum* C. Agardh. Skripsi Tidak Diterbitkan. Medan: Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Manjang, Y. 2004. *Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Pelestarian dan Perkembangan Melalui Tanah Agrowisata, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan yang Berkelanjutan*. Pelaksanaan Kelompok Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang Kerjasama dengan Proyek Peningkatan Sumber Daya Manusia DITJEN DIKTI DEPDIKNAS Jakarta.
- Mardawati, E. 2008. *Kajian Aktivitas Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia mangostana L.) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya*. Bandung: Jurusan Tekhnologi Pangan Fakultas Tekhnologi Industri Pertanian Universitas Padjajaran
- Martono, Y., Kristijanto, I., Purnomo, P. 2013. *Identifikasi asam lemak dan penentuan masa simpan bekatul ditinjau dari pengaruh gelombang mikro*. Yogyakarta: Universitas kristen satya wacana.
- Moleynoux, P. 2004. *The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity*. J Szc Technol; 26(2): 211-9
- Most, Marlene M., Tulley, Richard., Morales, Silvia, Lefevre, Michael. (2005). “Rice brab oil, not fiber, lowers cholesterol in humans 1-3” *American journal clinical nutrition*. Vol.81 :64-8.
- Mun'im, A., Azizahwati dan Trastianan 2008. Aktivitas Antioksidan Cendawan Suku Pleurotaceae Dan Polyporaceae Dari Hutan UI. *Jurnal Ilmiah Farmasi*.

- Mumpuni, P.D. dan Ayustaningwarno, F. 2013. Analisis Kadar Tokoferol, γ -Oryzanol dan β -Karoten Serta Aktivitas Antioksidan Minyak Bekatul Kasar. *Journal of Nutrition College: Volume 2 No.3*.
- Musa, J.A., Isa, I., Kilo, K. 2012. Analisis kadar asam linoleat dan asam linolenat secara GC-MS. *Jurnal. Gorontalo: Universitas negeri Gorontalo*.
- Mutiara V. D. A., dan Wulan H. A. 2010. *Pengaruh jenis pelarut terhadap randemen dan kualitas minyak bekatul yang berasal dari bekatul beras (Oriza sativa L.)*. Semarang: Sekolah tinggi ilmu farmasi Semarang
- Nugroho. 2003. *Antioksidan*. nugroho.wordpress.com. diakses pada tanggal 26 Oktober 2013
- Nurhasanah. 2003. *Hidrolisis dan Rekonstruksi Trigliserida*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ozgul, Y., dan Turkay, S. 1993. *In Situ Esterification of Rice Bran Oil with Methanol and Ethanol*. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, pp. 145-147
- Parwata, I.M.O.A., Wiwik, S.R. dan Raditya, Y. 2009. Isolasi dan Uji Anti Radikal Bebas Minyak Atsiri pada Daun Sirih (Piper betle, Linn) secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia. Vol. 3(1) : 7-13*.
- Patel, M., Naik, SN. 2004. Gamma Oryzanol from Rice Bran Oil- A Review. *Journal of Scientific and Industrial Research Vol 63, July 2004 : 569-578*.
- Perwitasari, S. D. 2011. Utilization of solid waste leather industry as raw material making. *Jurnal teknik kimia Vol. 5, No. 2, April 2011*.
- Prakash, A., Rigelhof, F dan Miller, E. 2001 *Antioxidant Activity*. Medallion Laboratories Analytical Progress. Vol. 10 No.2.
- Priyanto, R. A. 2012. *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif pada Buah Bakau (Rhizophora mucronata Lamk.)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Bogor: Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB
- Ping, L.C., Ibrahim, N.H. dan Yusof, H.M. 2012. *Effect of Pretreatmens on Chemical and Antioxidant Properties of Sky Fruit (Swietenia macrophylla) Seed Oil*. *J Teknol dan Industri Pangan: Vol. XXIII No. 2*.
- Purnomo, L.P.O. 2013. *Pengaruh Pemanasan Gelombang Mikro terhadap Masa Simpan dan Kandungan Asam Lemak Bekatul*. Salatiga: Universitas Kristen Satya Wacana
- Putra, D.A.D. 2012. *Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri Daun Bunga Tahi Ayam (Tagetes Erecta L.) serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Universitas Sumatera Utara

- Qarni, 'A. 2007. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi Press. Vol. 1: 1 – 8.
- Rahayu, D.S, Kusriani, D., dan Fachriyah, E. 2010. *Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (Terminalia catappa L.) dengan Metode 1,1 difenil 2 Pikrihidrazil (DPPH)*. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro
- Rana P, S. Vadhera, and G. Soni. 2004. *In vivo antioksidant potential of rice bran oil (RBO) in albino rats*. Indian J. Physiol Pharmacol (48) (4)
- Rizqie, A. 2011. Manfaat bekatul dan kandungan gizinya.
- Rohman, A. dan Gandjar. 2012. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Rohman, A., dan Riyanto. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) , *Journal Agricultural technology*. Vol. 25(3):131-136.
- Satrohamidjojo, 1991. *Kromatografi* Edisi kesatu. Yogyakarta: Liberti Press.
- Silalahi, J., 2006, Makanan Fungsional, Yogyakarta: Kanisius
- Soebagio. 2003. *Kimia Analitik II*. Malang: UM Press.
- Sofia, Lenny. 2006. *Isolasi dan Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metoda Uji Brine Shrimp*. Medan: Universitas Sumatra Utara Press.
- Sompong, R. 2011. *Psycicochemical and Antioxidative Properties of Red and Black Rice Varieties from Thailand, China and Sri Langkan. Food Chemistry. Vol.124: 132-140.*
- Soetamaji, D.W. 1998. *Peran Stes Oksidatif dalam Patogenesis Argiopat Mikro dan Makro. DM Medica. Vol.(24) : 318-325.*
- Shahidi, F., “et al”, 1995, *Isolation and Partial Characterization of Oil Seed Phenolics and Evaluation of Their Antioxidant Activity, dalam Charolambous, editor, Food Flavors; Generation, Analysis and Process Influence*, London: Elvisier Applied Science
- Shakti, D. P. Dan Fatawati, D. 2013. Reaksi metanolisis limbah minyak ikan menjadi metil ester sebagai bahar bakar biodiesel dengan menggunakan katalis NaOH. *Jurnal teknologi kimia dan industri, Vol 2, No. @, tahun 2013, halaman 68-75.*
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al Misbah: Pesan, kesan dan keserasian Al Quran*. Jakarta: Lentera Hati.

- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Makroskopi*. Diterjemahkan oleh Kosaasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Susanti, A.R., Ardiana, D., Gumelar, G.P. dan Bening, Y.G. 2012. *Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul dari Bekatul Varietas Ketan (Oryza sativa G.)*. Simposium Nasional RAPI XI: FT UMS
- Supari, F. 1996. *Radikal Bebas dan Potofisiologi Beberapa Penyakit* Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan : Reaksi Biomolekuler Terhadap Kesehatan Dampak dan Penangkalan. Jakarta: Pusat Studi Pangan, Gizi IPB dan Kedubes Prancis.
- Supratman, U. 2010. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung: Widya Padjajaran
- Tahir,I., 2008, *Arti Penting Kalibrasi pada Proses Pengukuran Analitik: Aplikasi pada Penggunaan pHmeter dan Spektrofotometer UV-VIS*, Yogyakarta:Laboratorium Kimia Dasar UGM
- Underwood, A.L dan Day, R.A. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga
- Winarno,F.G, Fardias D., Fardias S.. 1973. *Ekstraksi, Kromatografi dan Elektroforesis*. Bogor : Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wuryani, Sri., 2012. *Pengujian kandungan skualen dalam minyak bekatul padi var. IR-64*. Yogyakarta: Universitas Pembangunan Nasional Veteran Yogyakarta.
- Yawadio R, S. Tanimori, N. Morita. 2007. *Identification of phenolic chompounds isolated from pigmented rices their* .
- Yen, G.C. dan Chen, H.Y. 1995. *Antioxidant Activity of Variaous Tea Extract in Relation to Their Antimutagenicity*. J. Agric.Food.Chem
- Yuliani, D. 2010. *Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jintan Hitam (Nigella sativa, L.)*. Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Xu, Z., Godber, JS. 2000. Comparison of supercritical fluid and solvent extraction method in extracting , gamma orizanol from rice bran, *journal of the American oil chemist' societe* 77:1127-1131.
- Xu, Hua dan Godber, J.S. 2000. Antioxidant Activity of Tocopherols, Tocotrienols, and γ - Oryzanol Components from Rice Bran Against Cholesterol Oxidation

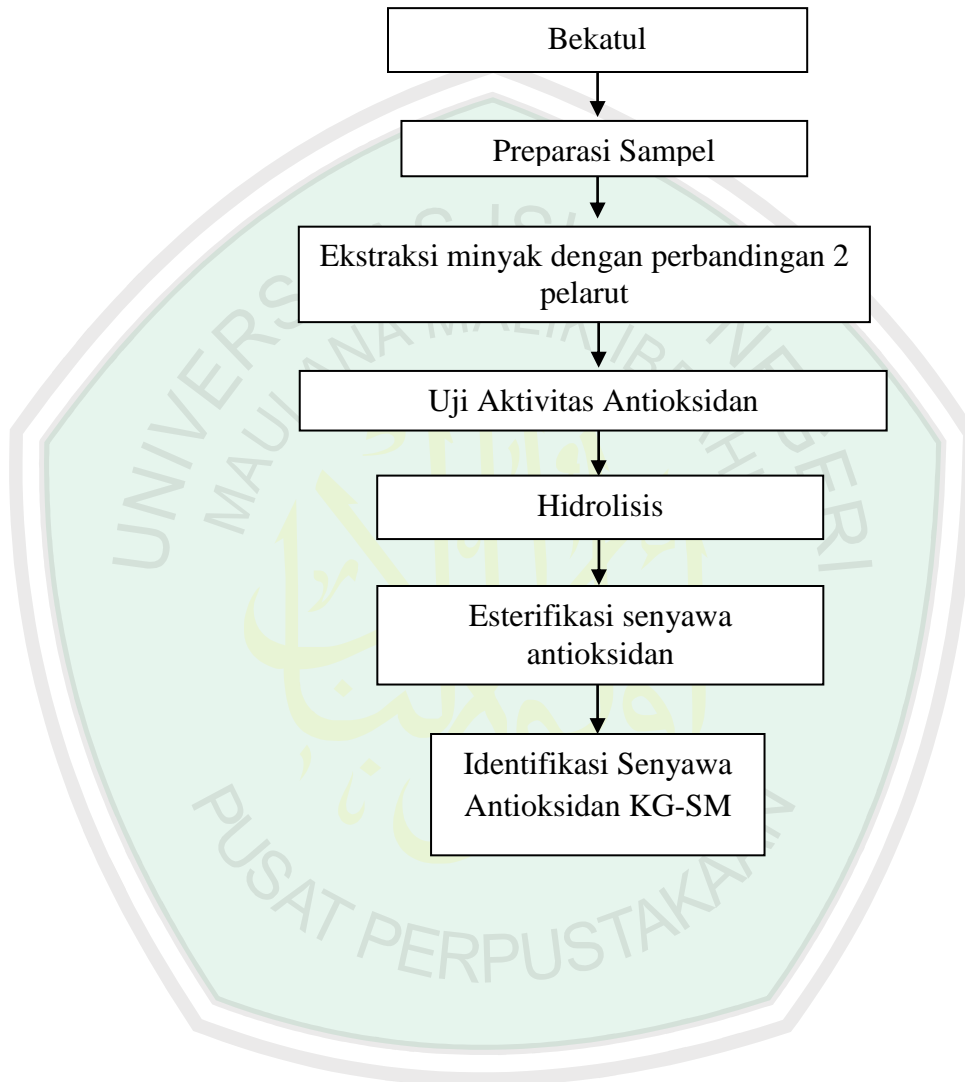
Accelerated by 2,2'- azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride .
Journal Agricultural. Food Chem. Vol. 49 : 2077-2081.

Zulkarnain, A., Amelia, S., Syaiful. 2009. Hidrolisa minyak jagung (Corn oil) secara enzimatik, penentuan kondisi operasi optimum, permodelan matematik dan penentuan konstanta kapasitas. *Jurnal teknik kimia, No. 3, Vol 16.*



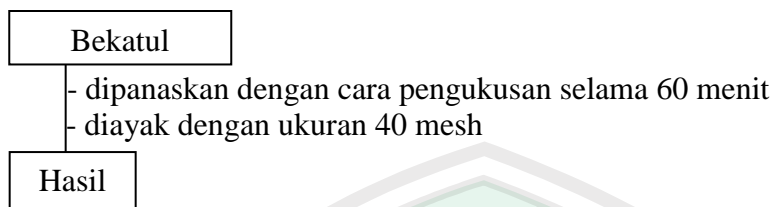
LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian



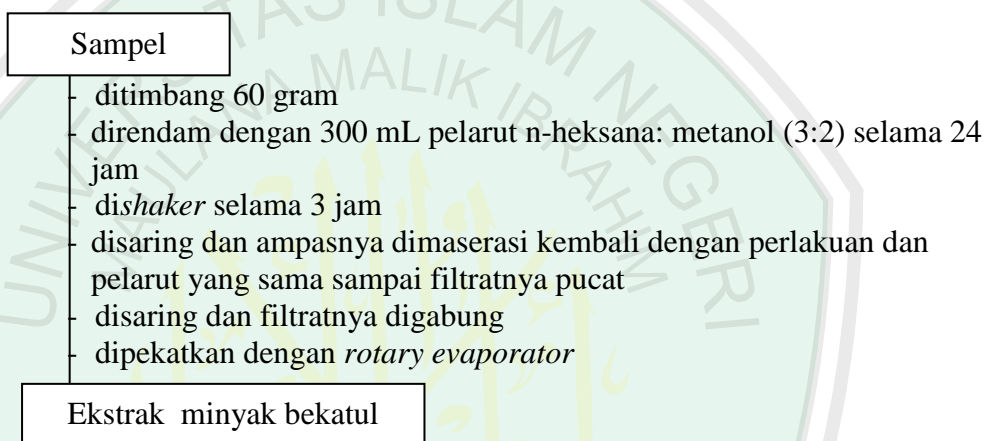
Lampiran 2. Skema Kerja

L.2.1 Preparasi Sampel

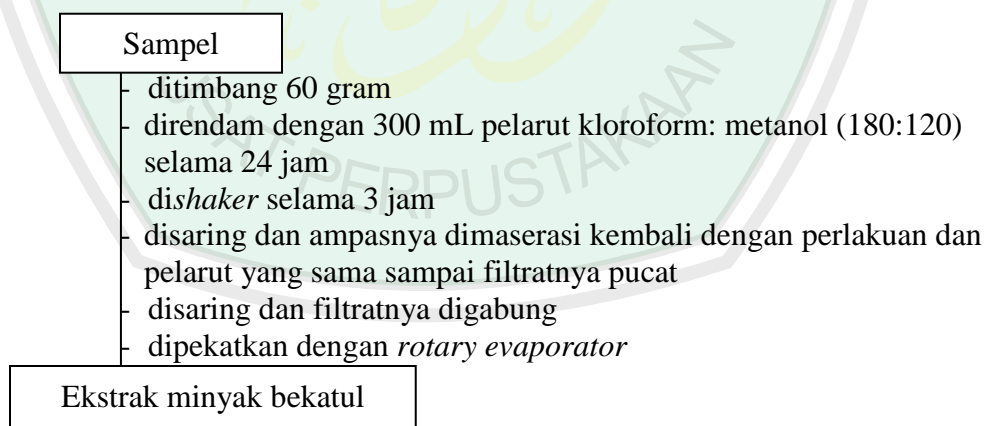


L.2.2 Ekstraksi Minyak Bekatul

a. Ekstrak n-heksana : Metanol

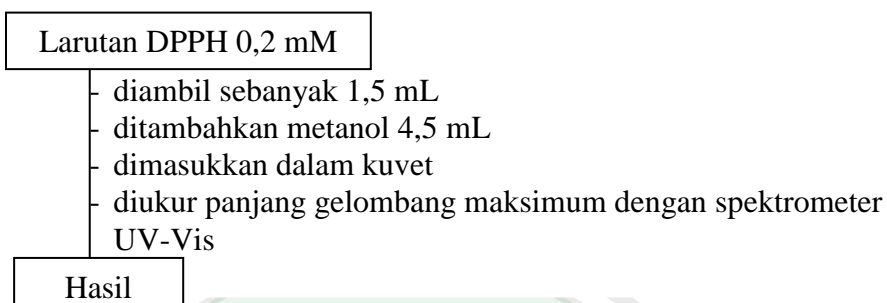


b. Ekstrak Kloroform : Metanol

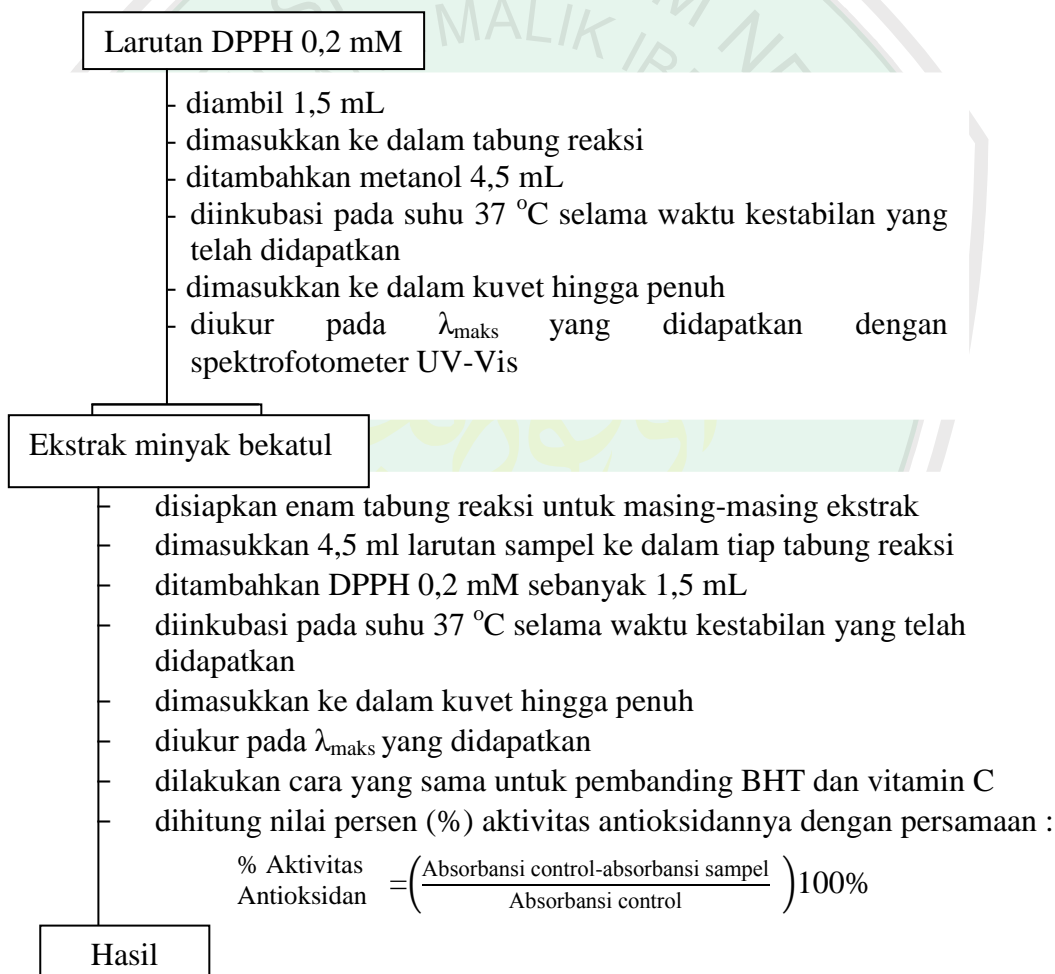


L.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



b. Pengukuran Aktivitas Antioksidan (Absorbansi Kontrol)



Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 M

DPPH 0,2 mM dalam 50 mL Metanol (98 %)

Mr DPPH = 394,33 g/mol

$$\text{Mol DPPH} = 50 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mM} = 50 \text{ mL} \times \frac{0,2 \text{ M}}{1000 \text{ mL}} \\ = 0,01 \text{ mmol}$$

$$\text{Mg DPPH} = 0,01 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH} \\ = 0,01 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\ = 3,9433 \text{ mg}$$

L.3.2 Pembuatan Larutan H₂SO₄ 1 M

BM = 98,08 g/mol

$$\text{Normalitas H}_2\text{SO}_4 = \frac{\rho \times \% \times 10}{\text{BM H}_2\text{SO}_4} = \frac{1,84 \frac{\text{g}}{\text{mL}} \times 98 \% \times 10}{98,08 \text{ g/mol}} = 18 \frac{\text{mol}}{\text{mL}} (\text{N})$$

H₂SO₄ 1M dalam 10 ml

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$18 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,56 \text{ mL} \approx 0,6 \text{ mL}$$

L.3.3 Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel

❖ Pembuatan Larutan 0,1g/10ml

$$= 0,01 \text{ gr/ml}$$

$$= 0,01 \cdot 1000 \text{ mg}/0,0001 \text{ L}$$

$$= 10.000 \text{ ppm}$$

L.3.4 Perhitungan rendemen

L.3.4.1 Ekstrak kloroform: Metanol Minyak Bekatul

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 5,74 \text{ gram}$$

$$\text{Berat sampel} = 60 \text{ gram}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\ = \frac{5,74 \text{ gram}}{60, \text{ gram}} \times 100 \% = 9,5 \%$$

L.3.4.2 Ekstrak n-heksan : Metanol Minyak Bekatul

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 4,74 \text{ gram}$$

$$\text{Berat sampel} = 60 \text{ g}$$

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\ = \frac{4,74 \text{ gram}}{60 \text{ gram}} \times 100 \% = 7,9 \%$$

Lampiran 4. Data Pengujian Aktivitas Antioksidan

Sampel	% antioksidan		
n-heksana : metanol	85,44	80,35	79,14
Kloroform : metanol	78,67	76,38	75,27
Vitamin C	95,48		
BHT	92,86		

L.4.1 Perhitungan Persentase Aktivitas Antioksidan

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

L.4.1.1 Ekstrak kloroform: Metanol Minyak Bekatul

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{0,9335 - 0,1991}{0,9335} \right) \times 100\% = 78,67$$

L.4.1.2 Ekstrak kloroform: Metanol Minyak Bekatul

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{0,9299 - 0,2196}{0,9299} \right) \times 100\% = 76,38$$

L.4.1.3 Ekstrak kloroform: Metanol Minyak Bekatul

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{0,9217 - 0,2279}{0,9217} \right) \times 100\% = 75,27$$

L.4.1.4 Ekstrak n-heksan: Metanol Minyak Bekatul

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{0,9335 - 0,1991}{0,9335} \right) \times 100\% = 78,67$$

L.4.1.5 Ekstrak n-heksan: Metanol Minyak Bekatul

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{0,9299 - 0,2196}{0,9299} \right) \times 100\% = 76,38$$

L.4.1.6 Pembanding vitamin C

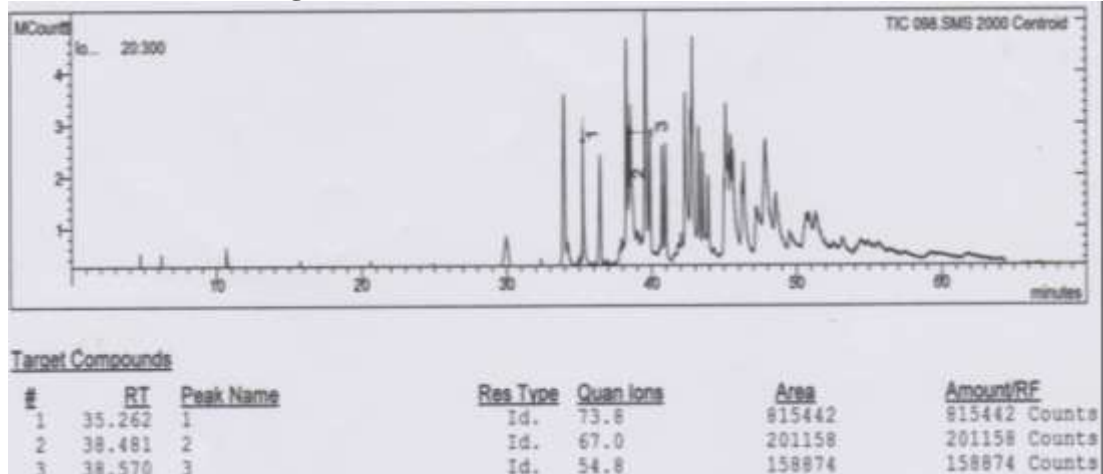
$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{0,9116 - 0,042}{0,9116} \right) \times 100\% = 95,48$$

L.4.1.7 Pembanding BHT

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \left(\frac{0,9226 - 0,0658}{0,9266} \right) \times 100\% = 92,86$$

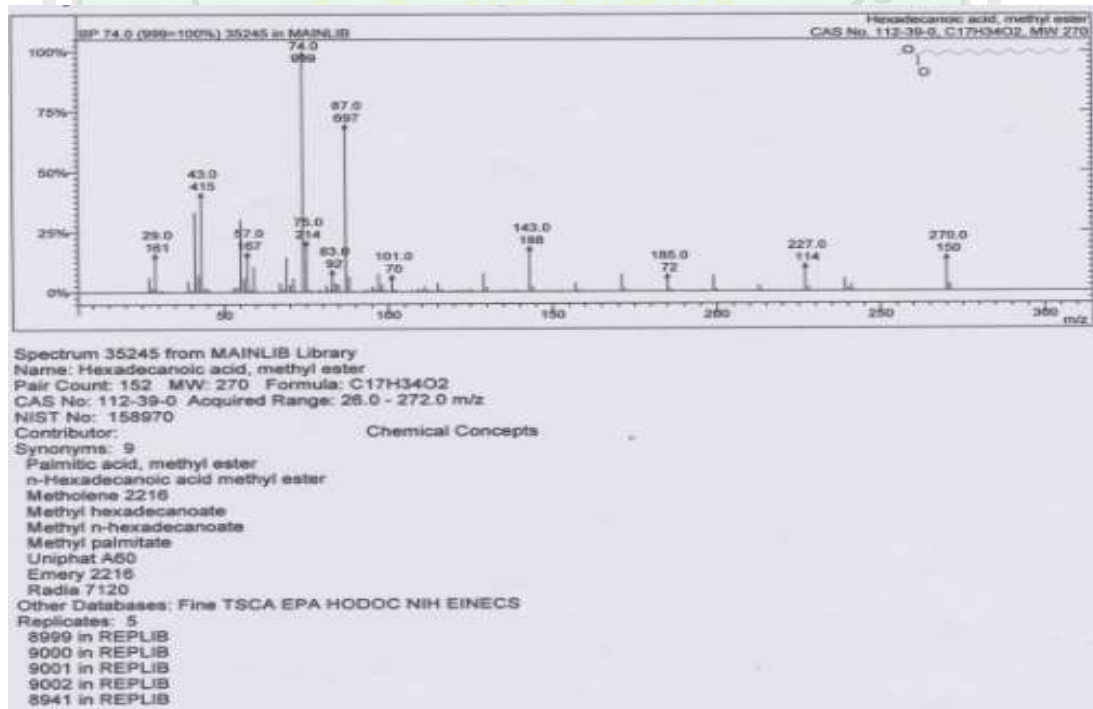
Lampiran 5. Data Analisis KG-SM

L.5.1 Hasil Kromatografi Gas

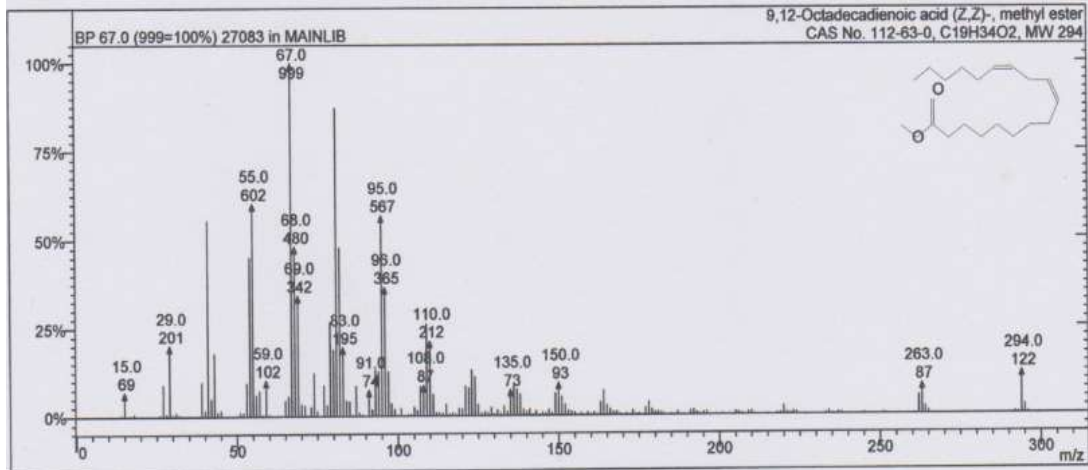


L.5.2 Data Spektrofotometer Massa

1. Puncak Ke-1



2. Puncak ke-2



Spectrum 27083 from MAINLIB Library

Name: 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester

Pair Count: 210 MW: 294 Formula: C₁₉H₃₄O₂

CAS No: 112-63-0 Acquired Range: 14.0 - 296.0 m/z

NIST No: 233849

Contributor: Japan AIST/NIMC Database- Spectrum MS-NW-1508

Synonyms: 6

Linoleic acid, methyl ester

Methyl cis,cis-9,12-octadecadienoate

Methyl linoleate

Methyl octadecadienoate

Methyl 9-cis,12-cis-octadecadienoate

Methyl (9Z,12Z)-9,12-octadecadienoate #

Other Databases: Fine TSCA EPA HODOC NIH EINECS

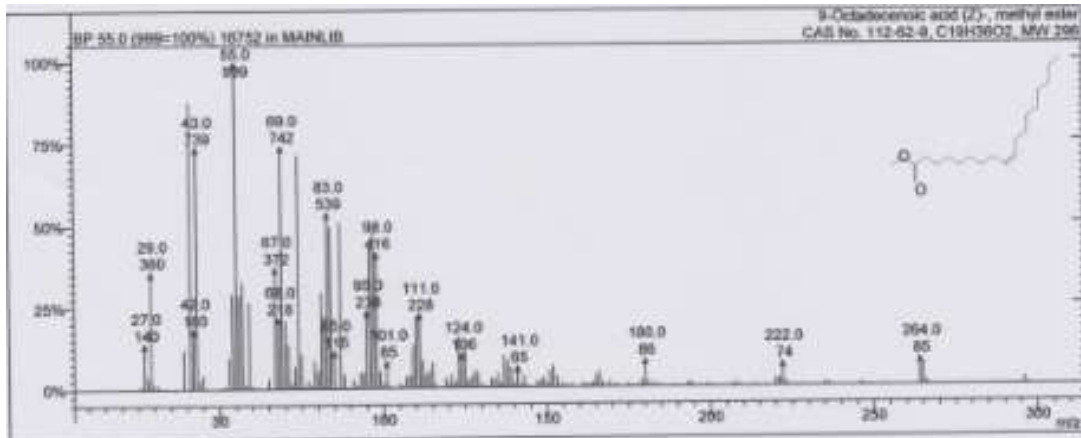
Replicates: 2

7210 in REPLIB

7211 in REPLIB

PUSAT PERPUSTAKAAN

3. Puncak ke-3



Spectrum 16752 from MAINLIB Library
 Name: 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester
 Pair Count: 225 MW: 296 Formula: C₁₉H₃₆O₂
 CAS No.: 112-62-9 Acquired Range: 25.0 - 296.0 m/z
 NIST No.: 158480
 Contributor: Chemical Concepts

Synonyms: 25
 Oleic acid, methyl ester
 Emery oleic acid ester 2301
 Methyl cis-9-octadecenoate
 Methyl oleate
 (Z)-9-Octadecenoic acid methyl ester
 cis-9-Octadecenoic acid, methyl ester
 Emery
 Emery, oleic acid ester
 Methyl 9-octadecenoate
 Oleic acid, methyl ester, cis-
 Emerest 2301
 Emerest 2801
 Kemester 105
 Kemester 115
 Kemester 205
 Kemester 213
 Methyl (Z)-9-octadecenoate
 Emery 2219
 Emery 2301
 Kemester 104
 Methyl cis-9-octadecenoate
 Methyl cis-9-octadecenoate, oleic acid methyl ester
 Priclube 1400
 Witconol 2301
 Methyl (9Z)-9-octadecenoate #

Other Databases: Fine TSCA RTECS EPA HODOC NIH EINECS IR
 Replicates: 1
 4453 in REPLIB

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

L.6.1 Preparasi Sampel



Sampel Bekatul setelah Diproses Stabilisasi

L.6.2 Ekstraksi Minyak Bekatul Beras ketan hitam



Proses Maserasi Minyak Bekatul



Proses Shaker



Hasil Filtrat



Rotary Evaporator



Hasil ekstrak

L.6.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan



Pengukuran Aktivitas Antioksidasi

L.6.4 Hidrolisis Minyak Bekatul Beras yang Memiliki Potensi Antioksidan



Refluks



Pemisahan Garam



Pemberian H_2SO_4 1 M



Larutan Metil Ester

Rice Bran Oil Extract from Black Glutinous Rice and Its Antioxidant

Muh Iqbal, Akyumul Jannah, Anik Maunatin

Abstrack

Rice bran oil from black glutinous rice is known to contains high antioxidant, so that potentially as antioxidant sources. This research aims to determine the antioxidant in rice bran oil from black glutinous rice. The extraction method used in this research was maceration with solvent n-hexane: methanol and chloroform: methanol. The concentrated extracts of each solvent was tested its antioxidant by using the DPPH method (1,1-diphenyl-2-piknilhidrazil). The result of research is antioxidant from extract are (n-hexane: methanol) of 81.64 % and (chloroform: methanol) of 76.77 %. The identification result of compounds (n-hexane: methanol) by using instrumentation Gas Chromatography - Mass Spectroscopy (GC-MS) are 9-oktadekanoat acid(oleic acid), 9.12-oktadekanoat acid(linoleic acid), and heksadekanoat acid (Palmitic acid).

Method



Water phase



Hydrolysis

Organic phase



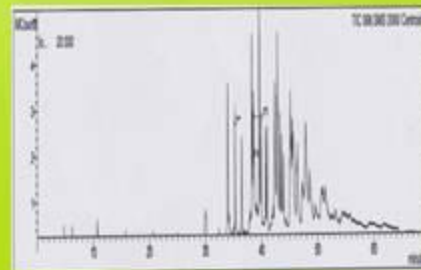
Metyl ester



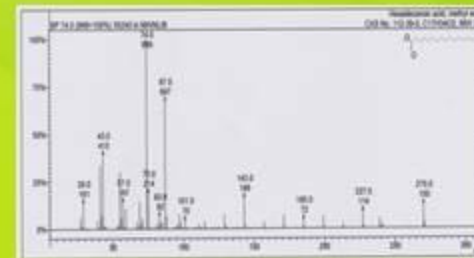
GC-MS

Result

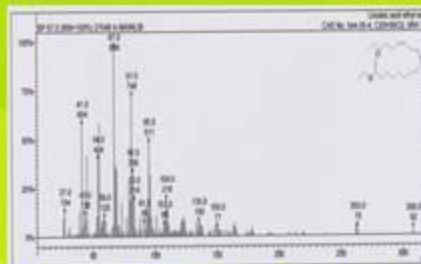
Sample	%Antioxidant
N-hexana: methanol	81,64
Cloroform: methanol	76,77
Vitamin C	95,48
BHT	92,86



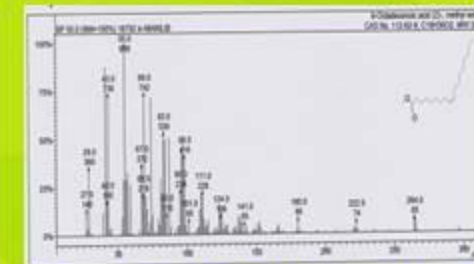
3 puncak ester Gas Chromatography (GC)



Puncak ke-1 Mass Spectroscopy (MS) (Asam Palmitat)

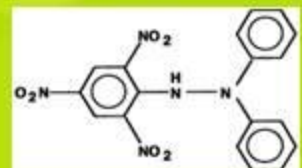
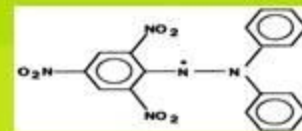


Puncak ke-2 Mass Spectroscopy (MS) (Asam Linoleat)



Puncak ke-3 Mass Spectroscopy (MS) (Asam Oleat)

Reaction DPPH



Conclusion

Nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak minyak bekatul beras ketan hitam yaitu n-heksana: metanol 81,64 % lebih besar dibandingkan kloroform: metanol 76,77 %. Senyawa yang terkandung dalam minyak bekatul beras ketan hitam hasil ekstrak n-heksana: metanol adalah asam oleat (asam 9-oktadekanoat), 9,12-asam oktadekanoat (asam linoleat), dan asam heksadekanoat (asam palmitat).