

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIOKSIDAN
DALAM BEKATUL DENGAN MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

Oleh :
SITI MARIA ULFA
NIM. 11630065



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

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIOKSIDAN
DALAM BEKATUL DENGAN MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

Oleh :
SITI MARIA ULFA
NIM. 11630065

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri 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 (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2016

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIOKSIDAN
DALAM BEKATUL DENGAN MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

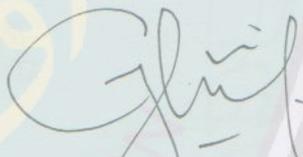
Oleh:
SITI MARIA ULFA
NIM. 1630065

Telah Disetujui Oleh

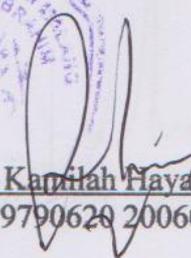
Pembimbing I

Pembimbing II


Akyunul Jannah, S.Si., M.P
NIP. 19750410 200501 2 009


A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP.19820616 200604 1 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia



Elok Karimah Hayati, M.Si
NIP-19790620 200604 2 002

**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS SENYAWA ANTIOKSIDAN
DALAM BEKATUL DENGAN MENGGUNAKAN VARIASI PELARUT**

SKRIPSI

Oleh:
SITI MARIA ULFA
NIM. 1630065

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

Penguji Utama	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
Ketua Penguji	: Dewi Yuliani, M.Si LB. 63024	(.....)
Sekretaris Penguji	: Akyunul Jannah, S.Si., M.P. NIP. 19750410 200501 2 009	(.....)
Anggota Penguji	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Siti Maria Ulfa
NIM : 11630065
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dalam Bekatul dengan Menggunakan Variasi Pelarut

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, 12 Juli 2016

Yang membuat pernyataan,



Siti Maria Ulfa
NIM. 11630065

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt Yang Maha Pengasih dan Yang Maha Penyayang, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas akhir/skripsi ini dengan baik.

Penulis juga mengucapkan terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Raharjo, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Bayyinatul Muchtaromah, drh. M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Akyunul Jannah, S.Si, M.P, Dewi Yuliani, M.Si dan Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. Segenap Dosen Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah menyampaikan pengajaran, mendidik, membimbing serta mengamalkan ilmunya dengan ikhlas. Semoga Allah Swt memberikan pahalaNya kepada beliau semua.
6. Staf serta karyawan Laboratorium Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang, penulis ucapkan terima kasih atas partisipasinya dalam penyelesaian Skripsi ini.
7. Almarhum Ayahanda dan Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.

8. Kakak dan adik penulis yang selalu memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
9. Terima kasih jugapenulis sampaikan kepada para teman kuliah serta semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan Skripsi ini baik berupa materiil maupun moril.

Penulis sebagai manusia biasa yang takkan pernah luput dari salah dan dosa, menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan baik dari segi ilmu maupun susunan bahasanya. Penulis berharap semoga Skripsi ini dapat memberikan manfaat kepada para pembaca pada khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Malang, 12 Juli 2016

Penulis,

Siti Maria Ulfa
NIM. 11630065

DAFTAR ISI

SAMPUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR PERSAMAAN.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK INDONESIA.....	xiii
ABSTRACT ENGLISH.....	xiv
ABSTRAK ARAB	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tumbuh-tumbuhan dan Pemanfaatannya dalam Perspektif Islam	8
2.2 Bekatul	9
2.3 Kandungan Kimia dalam Bekatul	10
2.4 Manfaat Bekatul	11
2.5 Metode Ekstraksi dengan Maserasi.....	11
2.6 Antioksidan	12
2.7 Radikal Bebas.....	13
2.8 Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)	14
2.9 Identifikasi Senyawa Aktif.....	16
2.9.1 Alkaloid.....	16
2.9.2 Flavonoid.....	18
2.9.3 Tanin	19
2.9.4 Triterpenoid.....	20
2.9.5 Steroid	21
2.9.6 Saponin	22
2.10 Kromatografi Lapis Tipis	23
2.11 Spektrofotometer Ultraviolet-Visible (UV-Vis)	25
2.12 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan FTIR	26
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan tempat penelitian	29

3.2	Alat dan bahan penelitian	29
3.2.1	Alat	29
3.2.2	Bahan	29
3.3	Rancangan Penelitian	30
3.4	Tahapan Penelitian	31
3.5	Pelaksanaan Penelitian	31
3.5.1	Preparasi Sampel	31
3.5.2	Penentuan Kadar Air Secara Thermogravimetri	32
3.5.3	Ekstraksi Bekatul Menggunakan Metode Maserasi	32
3.6	Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH	33
3.7	Uji Fitokimia	34
3.7.1	Uji Alkaloid	34
3.7.2	Uji Flavonoid	35
3.7.3	Uji Steroid dan Triterpenoid	35
3.7.5	Uji Tanin	35
3.7.6	Uji Saponin	35
3.8	Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	35
3.8.1	Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Analitik (KLTA)	35
3.8.2	Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Preparatif (KLTP)	38
3.9	Identifikasi Senyawa Antioksidan menggunakan FTIR	39
3.10	Analisis Data	39
BAB IV PEMBAHASAN		
4.1	Preparasi Sampel	41
4.2	Analisis Kadar Air	42
4.3	Ekstraksi Bekatul	42
4.4	Uji Fitokimia Senyawa Aktif dengan Reagen	43
4.5	Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Sampel	44
4.6	Pemisahan Senyawa Aktif menggunakan KLTA	48
4.7	Pemisahan Golongan Senyawa Steroid dengan KLTP	50
4.8	Identifikasi Senyawa Steroid dengan Spektrofotometer FTIR	51
4.9	Pemanfaatan Bekatul dalam Perspektif Agama Islam	53
BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	54
5.2	Saran	54
DAFTAR PUSTAKA		55
LAMPIRAN		61

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bagian-Bagian Biji Padi.....	10
Gambar 2.2 Reaksi Asam Askorbat membentuk L-asam askorbat	14
Gambar 2.3 Reaksi Asam Askorbat membentuk L-asam askorbil	15
Gambar 2.4 Contoh Struktur Senyawa Alkaloid.....	17
Gambar 2.5 Reaksi dugaan antara Alkaloid dengan Reagen Dragendorf.....	18
Gambar 2.6 Reaksi dugaan antara Alkaloid dengan Reagen Mayer.....	18
Gambar 2.6 Struktur Dasar Senyawa Flavon	18
Gambar 2.7 Reaksi dugaan antara Senyawa Flavonoid dengan logam Mg dan HCl.....	19
Gambar 2.8 Contoh Struktur Senyawa Tanin	19
Gambar 2.9 Koordinasi Geometri Oktahedral pada kompleks besi-polifenol....	20
Gambar 2.10 Senyawa Triterpenoid	20
Gambar 2.11 Struktur Kimia dan Sistem penomoran Steroid.....	21
Gambar 2.12 Contoh Reaksi Fukosterol dengan Reagen Liebermann-Burchard	22
Gambar 2.13 Struktur Inti Senyawa Saponin.....	22
Gambar 2.14 Spektrum IR Senyawa Golongan Steroid dari akar rumput bambu	30
Gambar 4.1 Preparasi Sampel Bekatul.....	42
Gambar 4.2 Mekanisme Reaksi DPPH dengan Antioksidan	45
Gambar 4.3 Grafik Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bekatul.....	46
Gambar 4.4 Hasil KLTA Eluen Terbaik n-heksan.....	49
Gambar 4.5 Hasil Spektra FTIR.....	51

DAFTAR PERSAMAAN

2.1 % Aktivitas antioksidan.....	15
2.2 Harga Rf.....	24
3.1 Kadar air.....	32
3.2 % Rendemen.....	33
3.3 % Aktivitas Antioksidan	34



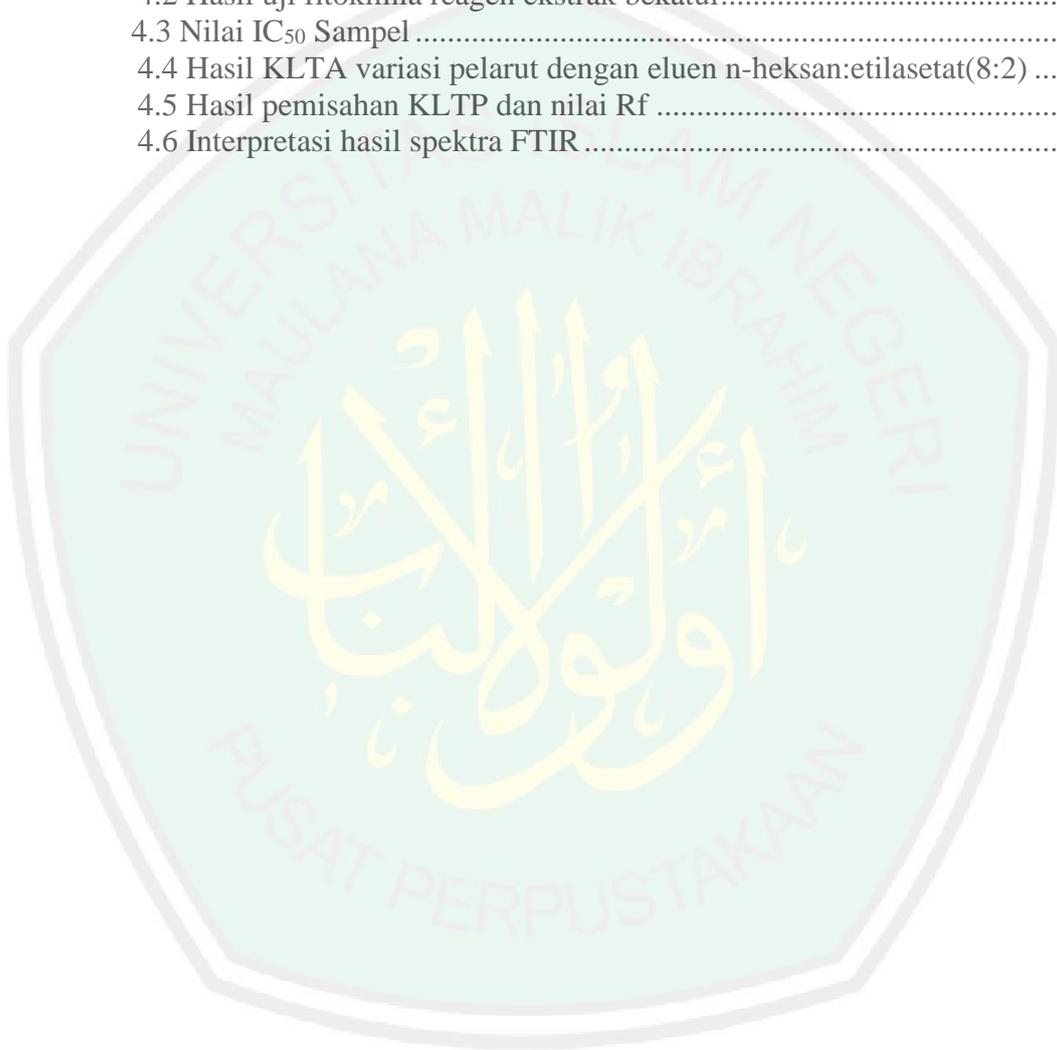
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I. Rancangan Penelitian	61
Lampiran II Diagram Alir	62
Lampiran III Perhitungan Kadar Air	68
Lampiran IV Perhitungan Rendemen.....	70
Lampiran V Pengujian Antioksidan	71
Lampiran VI Perhitungan Nilai Rf Hasil KLTA Ekstrak Bekatul	75
Lampiran VII Perhitungan Pembuatan Reagen dan Larutan.....	78
Lampiran VIII Dokumentasi Penelitian	82
Lampiran IX Data UV-Vis Antioksidan	87



DAFTAR TABEL

2.1 Konstanta Dielektrikum dan Tingkat kelarutan beberapa pelarut.....	12
2.2 Warna dan Warna Komplementer.....	27
3.1 Jenis eluen dan pendeteksi masing-masing golongan senyawa	37
4.1 Hasil rendemen ekstraksi bekatul.....	46
4.2 Hasil uji fitokimia reagen ekstrak bekatul.....	47
4.3 Nilai IC ₅₀ Sampel	51
4.4 Hasil KLTA variasi pelarut dengan eluen n-heksan:etilasetat(8:2)	52
4.5 Hasil pemisahan KLTP dan nilai R _f	53
4.6 Interpretasi hasil spektra FTIR.....	55



ABSTRAK

Ulfa, S.M. 2016. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dalam Bekatul dengan Menggunakan Variasi Pelarut. Pembimbing I: Akyunul Jannah, S.Si.,M.P.; Pembimbing II: A. Ghanaim Fasya, M.Si; Konsultan: Dewi Yuliani, M.Si.

Kata Kunci: Bekatul, Aktivitas Antioksidan, DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), FTIR

Bekatul merupakan hasil samping dari penggilingan padi menjadi beras. Bekatul mempunyai potensi untuk dimanfaatkan terutama mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan serta mengidentifikasi senyawa aktif dalam bekatul dengan FTIR.

Ekstraksi bekatul menggunakan pelarut etanol, kloroform dan petroleum eter. Ekstrak bekatul uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Pemisahan senyawa dilakukan dengan menggunakan metode KLT. Hasil isolat KLT diidentifikasi menggunakan FTIR.

Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak pelarut etanol sebesar 61,17% dan nilai IC_{50} sebesar 437 mg/L pada konsentrasi 800 ppm. Uji kualitatif dengan reagen menunjukkan teridentifikasi adanya senyawa steroid. Eluen terbaik yang diperoleh pada KLT yaitu n-heksan:etil asetat (8:2) pada nilai R_f 0,54. Hasil analisis FTIR yang menunjukkan gugus fungsi senyawa steroid adalah O-H, C_{sp^3} -H, C=O, C=C, C-H.

ABSTRACT

Ulfa, S.M. 2016. Identification and Determination of Antioxidant Activity in the Rice Bran Using Various Solvent. Supervisor: Akyunul Jannah, S.Si,M.P; Supervisor of Religion: A. Ghanaim Fasya, M.Si

Keywords: Rice Bran, Antioxidant activity, DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), FTIR

Rice bran is a residue of rice milling. Rice bran has the potential of beneficial especially containing antioxidant compound. The purpose of this research to know the antioxidant activity and identifies active compound in rice bran using FTIR.

Rice bran extraction use many solvents, such as ethanol, chloroform, and pethroleum ether. Antioxidant of activity rice bran extract is determind by DPPH method (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). The separation process of compounds was obtained the best eluent by using preparative TLC method. FTIR is used to be the identificator of the result of preparative TLC isolat.

Result of the research show that ethanol extract has the highest antioxidant activity 61,17%, and value IC_{50} 437mg/L in the 800 ppm. Qualitative test using reagent identifies the existence of steroid compound. The best eluen which is provided by TLC is n-hexan:etil acetat (8:2) at R_f 0,54. The result of FTIR analysis indicate that functional group of steroid compound is O-H, C_{sp^3} -H, C=O, C=C, C-H.

المخلص

ألفا، س.م. ٢٠١٦. تعيين وتجربة الحركة المستحضر انتي اوكسيدان في بكتول باستخدام ضرب المسيل. المشرفة الأولى: أعين الجنة الماجستير، المشرفة الثانية: غنيم فشا الماجستير.
كلمات الرئيسية: بكا تول، انتي اوكسيدان، ادوات المقياس الطبيعي بالأشعة تحت الحمراء، (١،١) -ديفينيل -
٢-فكرالهدرازيل(DPPH)

بكاتول هو عرض نتيجة من حصيلة الرزّ ويجعل صنعة الرزّ. بكاتول اختوا مقوم بيواكتيف محتمل ك انتي اوكسيدان ينعف في عدّة احترازي مرض. واهداف البحث هو يعرف الحركة انتي اوكسيدان خلاصة بكا تول وفرقة مشغلي المسيل، وتعرف مشغل خلاصة المسيل بكاتول ب ادوات المقياس الطبيعي بالأشعة تحت الحمراء. خلاصة بكاتول بضرب متعدّد منها ايثانول، كلوروفوم، بنورلوما اتر. فعالنها التعرف وتجربة باستخدام طريق (١،١) -ديفينيل - ٢-فكرالهدرازيل) ويقام تفصيل المركبات بالكروماتوغرافي اللوني بالطبقة الخفيفة التحليلي لتحصيل أحسن شاطف. وأما الكروماتوغرافي اللوني بالطبقة الخفيفة الإستعدادي لتحصيل العزلات الكثيرة لإختبار. والحركة لتعرف باستخدام الكروماتوغرافي اللوني بالطبقة الخفيفة، وتجربة انتي اوكسيدان باستخدام طريقة مرتفعه الكروماتوغرافي اللوني بالطبقة الخفيفة. وحصيلة تجربة عز للتعرف باستخدام ادوات المقياس الطبيعي بالأشعة تحت الحمراء
أما نتيجة البحث انتي اوكسيدان الاعلي وقع في ضرب المسيل ايثانول عندا التّرلين ٨٠٠ جزء المليون بقدي ٦١,١٧٪. دلت تجربة الكيفي بسياغين، موجود فيها ستيريد، ايلوين الاحسن في الكروماتوغرافي اللوني بالطبقة نتيجة التحليل الذي دلّ ان ، الذي تعوض. لون الاخص في 0,54 Rf بهيكسان: وكلات الاعيثيلر (٨:٢) الخفيفة O-H, C_{sp}³-H, C=O, C=C, C-H المجموعات الوظيفيه المستحضر ستريد هم

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bekatul merupakan hasil sampingan dari proses penggilingan atau penumbukan gabah menjadi beras. Bekatul dari proses penggilingan padi jumlahnya mencapai 8–12% (Utami, 2009). Produksi gabah di Jawa Timur tahun 2006 sebesar 10.837.376 ton/tahun, maka akan diperoleh bekatul 0,87–1,3 juta ton/tahun. Produksi pada tahun 2010 di Indonesia meningkat menjadi 66,8 juta ton/tahun sehingga dapat diperkirakan bekatul yang diperoleh sebesar $\pm 5,3$ –6,7 juta ton/tahun. Jumlah yang sangat potensial apabila dimanfaatkan secara optimal (Mutiara dan Wulan, 2011). Indonesia memiliki jumlah bekatul yang sangat melimpah, tetapi pemanfaatannya masih sebagai pakan ternak (Hadipernata, 2007). Firman Allah Swt dalam al Qur'an pada surat Ali Imran ayat 190–191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ
 يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا
 مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan 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: 190–191).

Surat Ali Imran ayat 190–191 menjelaskan tentang sifat-sifat orang yang berakal, yaitu mereka yang selalu berfikir tentang kebesaran Allah Swt terhadap penciptaan langit dan bumi. Ketika mereka memikirkan penciptaanNya dan

mereka menyadari Allah Swt menciptakan langit dan bumi tanpa adanya hikmah yang bisa dijadikan pelajaran. Allah Swt menciptakan segalanya untuk tujuan-tujuan yang luhur dan mulia. PenciptaanNya senantiasa diingat dan disyukuri, maka Allah Swt akan memuliakan orang-orang yang pandai bersyukur (al-Jazair, 2009). Seperti halnya dengan bekatul yang berupa limbah dari beras yang sebenarnya akan memberikan manfaat yang optimal jika dilakukan pengolahan secara tepat.

Manfaat bekatul dapat diperoleh dari proses bekatul menjadi minyak yang disebut minyak bekatul *rice bran oil* (RBO). Mengingat potensi yang besar baik dari jumlah maupun manfaatnya, bekatul dapat diambil minyaknya untuk digunakan keperluan pada produk pangan seperti roti, biskuit dan sereal. Pengolahan minyak bekatul juga dapat digunakan sebagai minuman yang berkhasiat bagi tubuh yang dapat memaksimalkan pemanfaatan minyak bekatul terhadap kesehatan. Bekatul mengandung lemak tidak jenuh yang tinggi, sehingga aman dikonsumsi oleh penderita kolesterol dan penyakit jantung. Oleh karena itu, baik bekatul maupun minyak bekatul dapat dimanfaatkan sebagai suplemen pangan untuk meningkatkan kualitas kesehatan manusia (Cahyanine dkk,2008 ; Ovani, 2013).

Berbagai hasil penelitian telah menunjukkan bahwa bekatul mempunyai nilai gizi tinggi, mengandung senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antioksidan yang bermanfaat dalam berbagai pencegahan penyakit termasuk penuaan dini. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bekatul mengandung komponen bioaktif atau senyawa fitokimia yang tinggi seperti tokoferol,

tokotrienol, oryzanol (Chen dan Bergman, 2005), antioksidan fenolik (Chanphrom, 2007; Sompong dkk., 2011), dan β -karoten (Chanphrom, 2007).

Widarta (2013) melaporkan tentang ekstraksi komponen bioaktif menyatakan bahwa hasil aktivitas antioksidan bekatul sebesar 49,14%. Garcia dkk., (2007) melaporkan bahwa setiap varietas padi memiliki kadar total polifenol yang berbeda-beda dan total polifenol lebih banyak terdapat pada bekatulnya dibandingkan dengan tepung berasnya. Adom dan Liu (2002) antioksidan bekatul berupa oryzanol, tokoferol dan asam ferulat, antioksidan tersebut mampu menghambat kejadian kencing manis, penyakit Alzheimer, mencegah kejadian penyakit jantung dan kanker. Untuk mendapatkan ekstrak bekatul digunakan metode ekstraksi dengan cara maserasi.

Metode maserasi menggunakan suhu ekstraksi di bawah titik didih pelarut dapat mencegah terdegradasinya komponen termolabil bekatul akibat panas. Metode maserasi yang dilakukan Xu dan Godber (2000) bertujuan untuk mencegah rusaknya kandungan antioksidan dan mendapatkan ekstrak bekatul kasar dalam kadar maksimal dengan kualitas yang baik. Proses ekstraksi komponen bioaktif sangat dipengaruhi oleh beberapa hal, salah satunya adalah jenis pelarut. Kelarutan suatu zat ke dalam suatu pelarut sangat ditentukan oleh kecocokan sifat antara zat terlarut dengan pelarut, yaitu *like dissolves like* (Sari dkk., 2005). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui jenis pelarut yang tepat untuk digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi komponen bioaktif yang terdapat dalam bekatul.

Ekstraksi bekatul dengan menggunakan variasi pelarut merupakan cara untuk mengambil senyawa aktif yang ada di dalam bekatul. Widarta (2013) melaporkan

tentang penggunaan pelarut etanol dalam mengekstrak komponen bioaktif bekatul beras lokal didapatkan rendemen sebesar 4,61%. Susanti (2012) mengekstrak minyak dari bekatul dengan menggunakan pelarut kloroform didapatkan rendemen sebesar 9,30 % kemudian Sofiandari (2015) menggunakan pelarut petroleum eter dalam mengekstraksi bekatul didapatkan rendemen 3,334 %. Mumpuni dan Ayustaningwarno (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 aktivitas antioksidan salah satunya adalah DPPH (1,1-difenil 2-pikrilhidrazil). DPPH merupakan radikal bebas yang apabila direaksikan dengan ekstrak tanaman yang mengandung antioksidan, maka akan terjadi reaksi penangkapan radikal bebas DPPH yang diubah menjadi 1,1-difenil 2-pikrilhidrazin (kuning) (Yen dan Chen: 1995). Keuntungan menggunakan metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk *screening* aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa. Pengukuran DPPH diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Kurniawan, 2013; Hanani, 2010).

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) banyak digunakan untuk mengidentifikasi senyawa antioksidan. Penelitian Widarta (2013); Rastuti dan Purwati (2012) melaporkan tentang penggunaan metode DPPH dalam menentukan aktivitas antioksidan komponen bioaktif. Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan Vitamin C (Asam askorbat) sebagai pembanding.

Selain itu, Parameter lain yang digunakan untuk mengetahui kekuatan antioksidan ialah IC_{50} (Inhibition Concentration 50 Value). IC_{50} merupakan konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil IC_{50} menandakan semakin besar aktivitas antioksidan (Molyneux, 2013). Setiap ekstrak dengan pelarut yang berbeda akan memiliki kandungan senyawa yang bermacam-macam serta berpengaruh terhadap besarnya aktivitas penangkapan radikal bebas.

Berdasarkan uraian di atas perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui senyawa aktivitas antioksidan pada bekatul dengan menggunakan variasi pelarut. Pelarut yang digunakan sesuai sifat kepolaran yang berbeda-beda yaitu etanol *p.a*, kloroform *p.a* dan petroleum eter *p.a*. Aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH. Ekstrak kasar bekatul yang memiliki nilai aktivitas antioksidan terbaik akan diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infrared*) untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung di dalam sampel.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak bekatul dengan menggunakan variasi pelarut?
2. Golongan senyawa apa saja yang terdapat dalam ekstrak bekatul yang mempunyai aktivitas antioksidan terbaik?
3. Gugus fungsi apa saja yang terdapat dalam ekstrak bekatul dengan menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak bekatul dengan menggunakan variasi pelarut.
2. Untuk mengetahui golongan senyawa apa saja yang terdapat dalam ekstrak bekatul yang mempunyai aktivitas antioksidan terbaik.
3. Untuk mengetahui gugus fungsi apa saja yang terdapat dalam ekstrak bekatul dengan menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared*).

1.4 Batasan Penelitian

1. Sampel yang digunakan adalah bekatul beras putih.
2. Metode ekstraksi menggunakan metode maserasi.
3. Pelarut yang digunakan saat ekstraksi menggunakan pelarut etanol p.a, kloroform p.a, petroleum eter p.a.
4. Metode pengujian antioksidan yaitu metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*).
5. Identifikasi golongan senyawa menggunakan uji fitokimia.
6. Pemisahan senyawa dengan kromatografi lapis tipis (KLT).
7. Identifikasi senyawa aktif menggunakan instrumen FTIR (*Fourier Transform Infrared*).

1.5 Manfaat Penelitian

1. Agar masyarakat mengetahui potensi bekatul sebagai antioksidan alami yang mampu mencegah oksidasi dan radikal bebas.

2. Dapat memberikan informasi pada lembaga akademis tentang pelarut terbaik yang digunakan dalam mengekstrak golongan senyawa antioksidan yang mempunyai aktivitas tertinggi pada ekstrak bekatul.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuh-tumbuhan dan Pemanfaatannya dalam Perspektif Islam

Allah Swt menciptakan alam dan isinya seperti hewan dan tumbuh-tumbuhan mempunyai hikmah yang sangat besar, semuanya tidak ada yang sia-sia dalam ciptaanNya. Manusia diberikan kesempatan yang seluas-luasnya untuk mengambil manfaat dari hewan dan tumbuhan (Ahmad, 2006). Allah Swt telah memberikan petunjuk tentang penggunaan tumbuh-tumbuhan yang bermanfaat yang tersirat dalam firman Allah Swt surat asy Syu'ara ayat 7 sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَيْفَ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik.” (QS. asy Syu'ara: 7).

Kata *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik bagi setiap obyek yang disifatinya. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang subur dan bermanfaat (Shihab, 2002). Berdasarkan ayat tersebut, Allah Swt telah menciptakan macam-macam tumbuhan yang baik untuk makhluknya. Setiap macam tumbuhan diciptakan Allah Swt untuk kemaslahatan umat manusia. Salah satunya sebagai sumber pangan bagi manusia dan dapat dipetik hasilnya untuk memenuhi kebutuhan manusia. Firman Allah Swt dalam surat ar Rahman ayat 11–13:

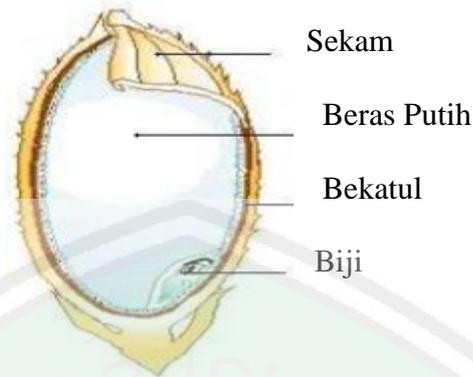
فِيهَا فَكِهَةٌ وَالنَّخْلُ ذَاتُ الْأَكْمَامِ ﴿١١﴾ وَالْحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ ﴿١٢﴾ فَبِأَيِّ آيَاتِ
رَبِّكُمَا تُكذَّبَانِ ﴿١٣﴾

“Di bumi itu ada buah-buahan dan pohon kurma yang mempunyai kelopak mayang, dan biji-bijian yang berkulit dan bunga-bunga yang harum baunya. Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan?” (Qs. ar Rahman:11–13).

Surat ar Rahman ayat 11-13 menjelaskan tentang adanya nikmat Allah Swt yang bermacam-macam seperti buah-buahan, pohon kurma dan biji-bijian yang tumbuh di bumi. Manusia dianjurkan untuk memikirkan, mempelajari dan mengkaji apa-apa yang diciptakanNya. Kata "والحب" atau dalam tafsir al Qur'an Hidayatul Insan dijelaskan bahwa "biji-bijian yang berkulit" dimaksudkan dalam tafsir tersebut yaitu gandum, beras dan sebagainya atau dalam kata "والريحان" adalah semua rezeki yang dimakan manusia. Maka nikmat Tuhan yang manakah yang kamu dustakan? Allah Swt telah menetapkan makhlukNya untuk mengakui akan firman-firmanNya. Salah satu bentuknya yaitu dengan melakukan penelitian untuk mencari obat dari bahan-bahan alam, seperti bekatul.

2.2 Bekatul

Bekatul merupakan hasil sampingan dari proses penggilingan atau penumbukan gabah menjadi beras. Proses tersebut terjadi pemisahan endosperma beras dengan bekatul yang merupakan lapisan yang menyelimuti endosperma (Astawan, 2009). Bekatul yang dihasilkan dari penggilingan padi dapat mencapai 8-12% dari jumlah total padi. Hasil samping lainnya adalah 15-20% sekam yang merupakan kulit luar dan 3% menir (BB Pascapanen, 2007).



Gambar 2.1 Bagian-bagian biji padi (BB Pascapanen, 2007)

Biji padi dipisahkan menjadi dua bagian yaitu beras dan sekam, proses pemisahannya menggunakan penyosohan. Proses penyosohan dilakukan dengan dua tahap yaitu, pertama menghasilkan dedak dengan tekstur kasar karena masih mengandung sekam, kedua menghasilkan bekatul yang bertekstur halus dan tidak mengandung sekam (Auliana, 2011).

2.3 Kandungan Kimia dalam Bekatul

Bekatul mengandung karbohidrat 51-55 g/100 g. Kandungan protein pada bekatul yaitu 11-13 g/100 g. Bekatul memiliki kandungan asam amino lisin yang lebih tinggi dibandingkan dengan beras. Selain itu, bekatul merupakan sumber mineral yang setiap 100 gramnya mengandung kalsium 500-700 mg, magnesium 600-700 mg, dan fosfor 1.000-2.200 mg (Astawan, 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa bekatul mengandung komponen bioaktif seperti tokoferol, tokotrienol, oryzanol (Chen dan Bergman, 2005), antioksidan fenolik (Chanphrom, 2007; Sompong dkk., 2011), dan β -karoten (Chanphrom, 2007). Garcia dkk., (2007) melaporkan bahwa setiap varietas padi memiliki kadar total

polifenol yang berbeda-beda dan total polifenol lebih banyak terdapat pada bekatulnya dibandingkan dengan tepung berasnya.

2.4 Manfaat Bekatul

Bekatul sudah dimanfaatkan sebagai bahan makanan maupun minuman. Bekatul juga bermanfaat baik bagi kesehatan, yaitu dapat menurunkan kolesterol dalam darah, pencegahan penyakit kardiovaskular, kanker, serta menghambat waktu menopause. Bekatul mengandung lemak tidak jenuh yang tinggi, sehingga aman dikonsumsi oleh penderita kolesterol dan penyakit jantung. Oleh karena itu, bekatul dapat dimanfaatkan sebagai suplemen pangan untuk meningkatkan kualitas kesehatan manusia (Cahyanine dkk, 2008 ; Ovani, 2013).

2.5 Metode Ekstraksi dengan Maserasi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut. Prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam senyawa non polar. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap proses ekstraksi adalah lama ekstraksi, suhu, jenis pelarut, titik didih, sifat toksik dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi (Khopkar, 2008).

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dalam pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruang. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang akan diekstraksi (Guenther, 2011). Pemilihan pelarut dalam proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa

bahan alam dalam pelarut tersebut (Khopkar, 2008). Tingkat polaritas suatu pelarut dapat ditunjukkan secara fisika melalui pengukuran semakin besar konstanta dielektrikum (D) suatu pelarut maka semakin polar suatu pelarut tersebut (Sudarmadji dkk, 2003). Konstanta dielektrikum beberapa pelarut ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

Jenis pelarut	Konstanta dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air	Titik didih (°C)
Petroleum eter	2,28	TL	60
Kloroform	4,81	S	61,3
Etanol	24,30	L	78,5

Keterangan: TL = tidak larut; S = sedikit; L = larut dalam berbagai proporsi

Sumber: Sax dan Lewis (1998), Fessenden dan Fessenden (1997), dan Mulyono (2006).

2.6 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. Senyawa antioksidan dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007).

Damayanthi dkk, (2010) menyatakan bahwa antioksidan dapat menghambat aktivitas oksidan dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa oksidan. Kandungan antioksidan yang cukup dapat membantu meningkatkan pertahanan tubuh terhadap timbulnya penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Namun, apabila dikonsumsi berlebihan justru dapat menimbulkan penyakit karena dapat menyebabkan penimbunan lemak.

Antioksidan dalam tubuh pada kondisi tertentu tidak mencukupi untuk melakukan perannya, oleh karena itu tubuh memerlukan vitamin C sebagai antioksidan untuk mencukupi kebutuhan tubuh. Vitamin C dapat berperan sebagai antioksidan, namun dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker hati apabila dikonsumsi secara berlebihan. Hal ini karena vitamin C dapat menstimulasi penyerapan zat besi di dalam tubuh (Ovani, 2013).

Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alam) dan antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia) (Winarno, 1997). Salah satu antioksidan alami adalah vitamin C (L-asam askorbat). Asam askorbat bersifat tidak stabil, mudah mengalami kerusakan bila terkena cahaya dan suhu tinggi (Cahyadi, 2006):

2.7 Radikal Bebas

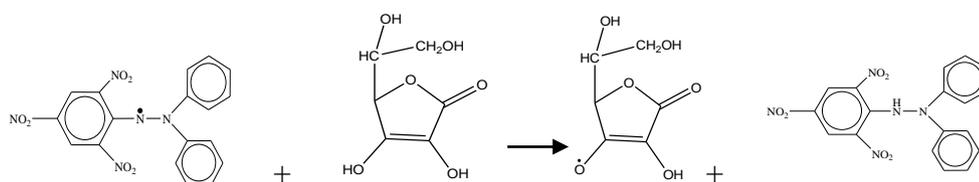
Radikal bebas (*free radical*) adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya. Jika elektron yang terikat oleh senyawa radikal bebas tersebut bersifat ionik, dampak yang timbul tidak begitu berbahaya. Apabila elektron yang terikat radikal bebas berasal dari senyawa yang berikatan kovalen, akan sangat berbahaya karena ikatan digunakan secara bersama-sama pada orbital terluarnya. Secara teoritis radikal bebas dapat terbentuk bila terjadi pemisahan ikatan kovalen, karena sifatnya yang sangat

reaktif dan gerakannya yang tidak beraturan, maka apabila proses ini terjadi di dalam tubuh makhluk hidup akan menimbulkan penyakit degeneratif (Soetamaji, 1998; Winarsi, 2007; Fessenden dan Fessenden, 1997).

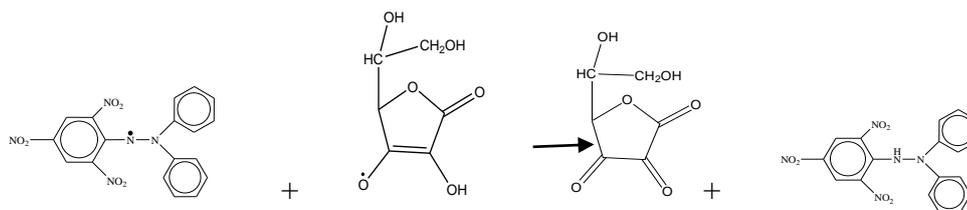
2.8 Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Beberapa metode lain terbatas mengukur komponen yang larut dalam pelarut yang digunakan dalam analisis. Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom. Radikal DPPH memberikan penyerapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dan berwarna ungu (Prakash dkk, 2001; Hanani, 2005).

DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan menghasilkan bentuk tereduksi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin dan radikal antioksidan. Reaksi antara antioksidan dengan molekul DPPH (ungu) yang kemudian berubah 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (kuning) (Prakash, 2001). Reaksi antara asam askorbat dengan molekul DPPH dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.2 Reaksi asam askorbat membentuk L-asam askorbat (Prakash, 2001)



Gambar 2.3 Reaksi asam askorbat membentuk L-asam askorbil (Prakash, 2001)

Radikal DPPH akan berubah menjadi kuning saat elektron berpasangan dengan antioksidan. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH. Aktivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji (Prakash, dkk., 2001). Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan Persamaan 2.1 (Molyneux, 2004).

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \% \dots \dots \dots (2.1)$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi sampel

Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila persentase aktifitas antioksidan lebih atau sama dengan 50%. Nilai 100 % berarti pengujian aktivitas antioksidan perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya, sedangkan nilai 0 % berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan (Parwata dkk., 2009). Absorbansi kontrol adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran. Nilai absorbansi kontrol tetap dapat memberikan batasan untuk pengukuran meskipun dari hari ke hari

kehilangan aktivitasnya saat dalam stok larutan DPPH.. Kontrol juga berfungsi menjaga total konstan konsentrasi DPPH dalam pengukuran (Molyneux, 2004).

Metode DPPH menggunakan parameter IC_{50} yaitu menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi. Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa yang terkandung dalam bahan uji. Semakin kecil IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin aktif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman dkk, 2005).

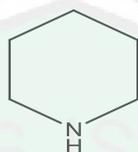
2.9 Identifikasi Senyawa Aktif

Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan dari gangguan hama (Lenny, 2006). Senyawa metabolit sekunder memiliki distribusi terbatas di tanaman, artinya metabolit sekunder tertentu sering ditemukan hanya pada satu jenis tumbuhan atau kelompok spesies, sedangkan metabolit primer ditemukan pada seluruh tanaman. Metabolit sekunder yang akan diidentifikasi pada penelitian ini adalah alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, saponin dan tanin.

2.9.1 Alkaloid

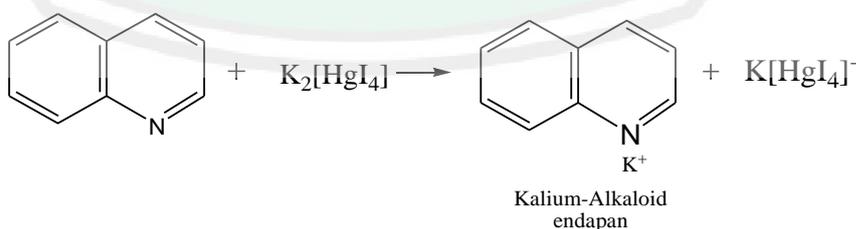
Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar

atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloida dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan seperti biji, daun, ranting dan kulit batang (Lenny, 2006).

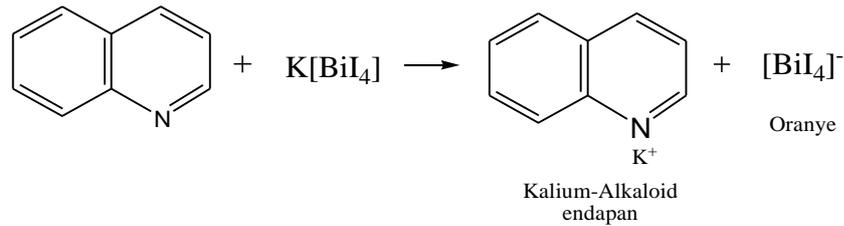


Gambar 2.4 Contoh Struktur Senyawa Alkaloid (Lenny, 2006)

Pelarut atau pereaksi alkaloid biasanya menggunakan kloroform, aseton, amoniak dan metilena klorida. Pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) paling banyak untuk mendeteksi alkaloid karena pereaksi ini mengendapkan hampir semua alkaloid. Pereaksi lain yang sering digunakan seperti pereaksi Wagner (iodium dalam kalium iodida), asam silikotungstat 5%, asam tanat 5%, pereaksi Drangendroff (kalium tetraiodobismutat), iodoplatinat dan larutan asam pikrat jenuh (Robinson, 1995). Kedua pereaksi tersebut memberikan warna berturut-turut coklat dan jingga.



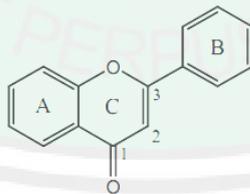
Gambar 2.5 Dugaan reaksi alkaloid dengan reagen Mayer (Marliana, dkk., 2005)



Gambar 2.6 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan reagen Dragendorf (Marliana, dkk., 2005)

2.9.2 Flavonoid

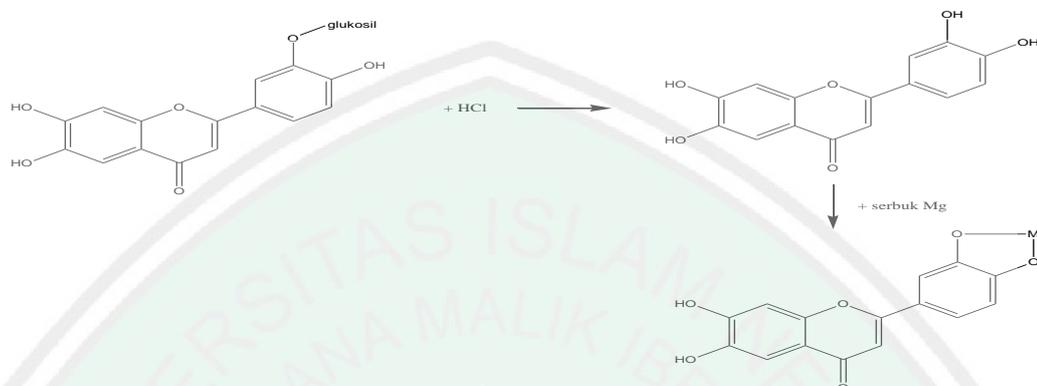
Senyawa flavonoida adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavon, flavonol, dan antosianidin adalah jenis yang banyak ditemukan di alam sehingga sering disebut sebagai flavonoida utama. Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$ (Lenny, 2006).



Gambar 2.7 Struktur dasar senyawa flavon (Lenny, 2006)

Sebagian besar senyawa flavonoid di alam ditemukan dalam bentuk glikosida, dimana unit flavonoid terikat pada suatu gula. Glikosida adalah kombinasi antara suatu gula dan suatu alkohol yang saling berikatan melalui ikatan glikosida (Lenny, 2006). Flavonoid dapat direduksi dengan magnesium dan

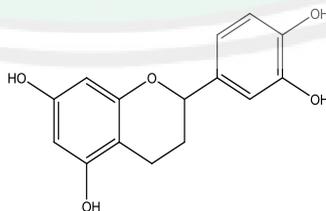
asam klorida pekat menghasilkan warna merah, kuning atau jingga (Sastrohamidjojo, 1996).



Gambar 2.8 Reaksi dugaan antara senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl pekat (Hidajat, 2005)

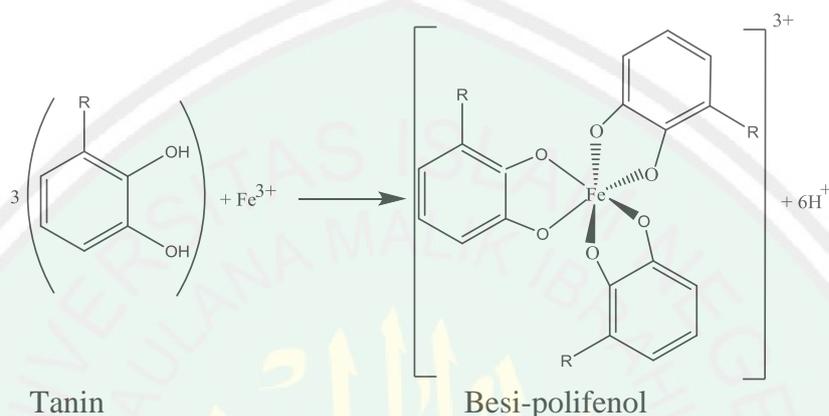
2.9.3 Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Robinson, 1995).



Gambar 2.9 Contoh Struktur Senyawa Tanin (Robinson, 1995)

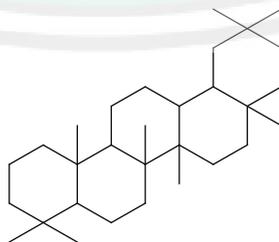
Uji fitokimia tanin dapat dilakukan dengan menambahkan larutan FeCl_3 ke dalam ekstrak. Jika ekstrak itu positif terdapat senyawa tanin maka akan terbentuk warna hijau kehitaman (Robinson, 1995).



Gambar 2.9 Koordinasi geometri oktahedral pada kompleks besi-polifenol (Perronn dan Brumaghim, 2009)

2.8.4 Triterpenoid

Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari 6 satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik yaitu skualena. Senyawa ini berstruktur siklik yang kebanyakan berupa alkohol, aldehida, atau asam karboksilat (Harborne, 1987).

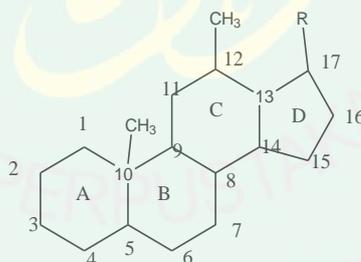


Gambar 2.10 Senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)

Pereaksi yang umumnya digunakan untuk mendeteksi triterpenoid adalah Liebermann-Burchard yang menghasilkan warna violet (Harborne, 1987). Bawa (2009) menyebutkan bahwa isolat golongan senyawa triterpenoid dengan pereaksi Liebermann-Burchard yaitu akan terjadi perubahan warna yang spesifik dari warna hijau tua (warna isolat) menjadi warna ungu tua (Bawa, 2009).

2.9.4 Steroid

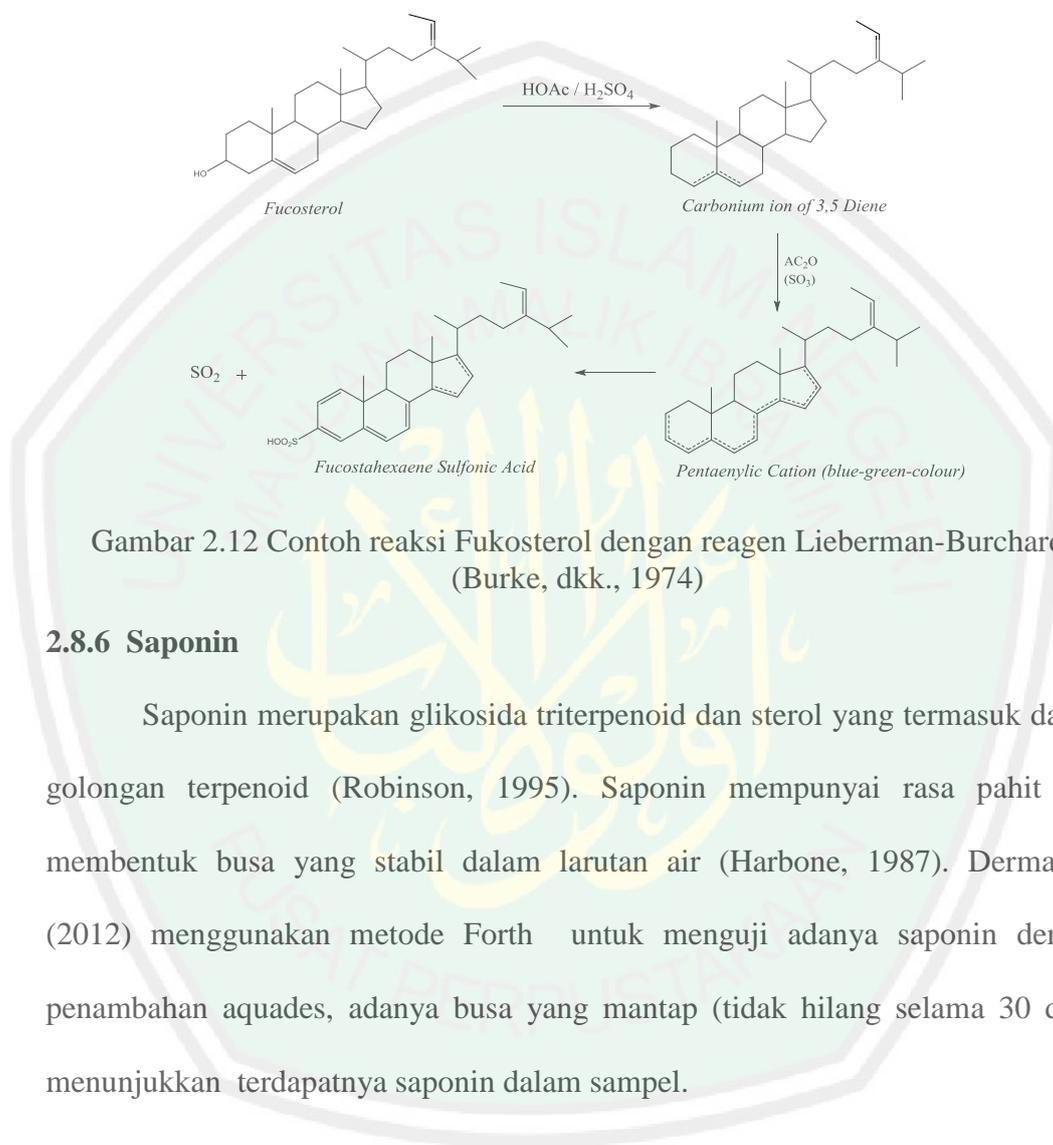
Steroid adalah senyawa yang memiliki kerangka dasar siklopentanafenantren. Pada umumnya, gugus metil berada pada C10 dan C13. Rantai samping alkil dapat juga berada pada C17. Sterol adalah steroid yang memiliki gugus hidroksi pada C3. Atom karbon tambahan dapat berada pada rantai samping (IUPAC, 1989). Struktur kimia dan sistem penomoran steroid dapat dilihat pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Struktur Kimia dan Sistem Penomoran Steroid (Sinulingga, 2011)

Percobaan-percobaan biogenetik menunjukkan bahwa steroid berasal dari triterpenoid. Steroid yang terdapat dalam jaringan hewan berasal dari triterpenoid lanosterol sedangkan yang terdapat dalam jaringan tumbuhan berasal dari triterpenoid sikloartenol (Lenny, 2006). Uji yang banyak digunakan ialah reaksi

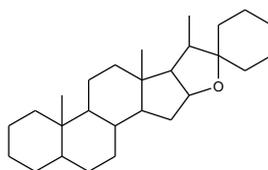
Lieberman-Burchard (anhidrida asetat- H_2SO_4 pekat) yang dengan kebanyakan triterpen dan sterol memberikan warna hijau-biru (Harborne, 1987).



Gambar 2.12 Contoh reaksi Fukosterol dengan reagen Liebermann-Burchard (Burke, dkk., 1974)

2.8.6 Saponin

Saponin merupakan glikosida triterpenoid dan sterol yang termasuk dalam golongan terpenoid (Robinson, 1995). Saponin mempunyai rasa pahit dan membentuk busa yang stabil dalam larutan air (Harbone, 1987). Dermawan (2012) menggunakan metode Forth untuk menguji adanya saponin dengan penambahan aquades, adanya busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik menunjukkan terdapatnya saponin dalam sampel).



Gambar 2.13 Struktur inti senyawa saponin (Robinson, 1995)

2.10 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi merupakan metode pemisahan campuran analit dengan mengelusi analit melalui suatu lempeng kromatografi lalu melihat komponen/analit yang terpisah dengan penyemprotan atau pengecatan (Gandjar dan Rohman, 2007). Metode pemisahan ini didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen dalam dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak yang berbeda tingkat kepolarannya. Apabila molekul-molekul komponen berinteraksi secara lemah dengan fasa diam maka komponen tersebut akan bergerak lebih cepat meninggalkan fasa diam. Keberhasilan pemisahan kromatografi bergantung pada daya interaksi komponen-komponen campuran dengan fasa diam dan fasa gerak (Hendayana, 2006).

Lapisan tipis seperti pada plat silika gel F₂₅₄ yang digunakan dalam penelitian ini mengandung indikator *flouresensi* yang ditambahkan untuk membantu penampakan bercak warna pada lapisan yang telah dikembangkan. Indikator *flouresensi* adalah senyawa yang memancarkan sinar, seperti dengan lampu UV (Gritter, dkk., 1991). Fluoresensi sinar ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berfluorosensi, membuat bercak akan terlihat jelas. Jika senyawa tidak dapat berfluoresensi maka bahan penyerapnya akan diberi indikator yang berfluoresensi, dengan demikian bercak akan kelihatan hitam sedang latar belakangnya akan terlihat berfluoresensi (Gadjar dan Rohman, 2007). Sinar UV yang digunakan biasanya pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Lampu UV pada 254 nm dan UV 366 nm, lempeng akan berfluoresensi sedangkan sampel akan tampak berwarna gelap. Penampakan noda pada lampu UV 254 nm karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan indikator

fluoresensi yang terdapat pada lempeng. Penampakan noda pada lampu UV 366 nm karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aoksokrom yang ada pada noda tersebut. Fluoresensi cahaya yang tampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula sambil melepaskan energi. Noda yang tampak pada lampu UV 366 nm terlihat terang karena silika gel yang digunakan tidak berfluoresensi pada sinar UV 366 nm (Sudjadi, 1988). Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis menggunakan harga Rf. Harga Rf didefinisikan sebagai berikut (Rohman dan Gandjar, 2007):

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solutl}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}} \dots\dots\dots (2.2)$$

Harga Rf untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga Rf standart. Harga Rf dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam KLT diantaranya adalah struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, jenis eluennya, serta jumlah cuplikan yang digunakan tidak terlalu berlebihan (Sastrohamidjojo, 1991).

KLT analitik digunakan untuk mengetahui berapa noda yang terpisah dari hasil eluen terbaik. Eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa yang ditandai dengan munculnya noda yang tidak berekor dan jarak antara noda yang muncul sangat jelas. Noda yang dihasilkan akan dideteksi dengan pereaksi yang sesuai dengan golongan senyawa yang dipisahkan. Pereaksi ini akan memberikan sebuah kepekaan dan perubahan warna yang ada kaitannya

dengan struktur senyawa yang bersangkutan, jika senyawa diamati dibawah lampu UV (Harborne, 1987).

Gunawan, dkk (2008) menyatakan bahwa identifikasi golongan steroid menggunakan campuran eluen kloroform : metanol (3 : 7) pada ekstrak herbal meniran dengan menghasilkan 1 noda berwarna ungu muda dengan nilai Rf 0,58. Penelitian Hayati (2012) menyatakan bahwa identifikasi senyawa steroid pada tanaman anting-anting dapat menggunakan KLT dengan eluen heksana : etil asetat (7 : 3) dan disemprot dengan pereaksi *Lieberman-Burchard* menunjukkan terbentuknya noda bewarna hijau, biru ungu sampai coklat. Pada sinar UV 366 nm ekstrak etil asetat anting-anting terdapat 9 noda dengan nilai Rf berturut-turut adalah 0,66; 0,11; 0,38; 0,47; 0,56; 0,68; 0,77; 0,8; dan 0,83 dengan warna noda berturut-turut hijau kebiruan, hijau kebiruan, merah muda, hijau, merah muda, ungu tengah biru kehijauan, orange, hijau kebiruan, dan hijau kebiruan muda.

2.11 Spektrofotometer Ultraviolet-Visible (UV-Vis)

Spektrofotometer UV-Vis merupakan suatu metode analisa berdasarkan pada penentuan konsentrasi senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet. Analisis spektrofotometri terdapat tiga daerah panjang gelombang elektromagnetik yang digunakan, yaitu daerah UV (200 – 400 nm), daerah sinar tampak (400 – 750 nm), daerah inframerah (700 – 3000). Prinsip spektroskopi UV-Vis adalah interaksi radiasi elektromagnetik yang berupa sinar UV yang disebabkan oleh peristiwa absorpsi (penyerapan) pada frekuensi yang sesuai oleh molekul tersebut (Rohman dan Gandjar, 2007). Absorbansi radiasi oleh sampel diukur oleh detektor pada panjang gelombang dan diinformasikan ke

perekam untuk menghasilkan spektrum. Spektrum ini akan memberikan informasi penting untuk identifikasi adanya gugus kromofor (Hendayana, 2004). Warna komplementer ditunjukkan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Warna dan warna komplementer

Panjang gelombang (nm)	Warna	Warna komplementer
400-435	Violet	Kuning-hijau
435-480	Biru	Kuning
480-490	Hijau-biru	Orange
490-500	Biru-hijau	Merah
500-560	Hijau	Ungu
560-580	Kuning-hijau	Violet
580-595	Kuning	Biru
595-610	Orange	Hijau-biru
610-750	Merah	Biru-hijau

Sumber: Day dan Underwood (1998)

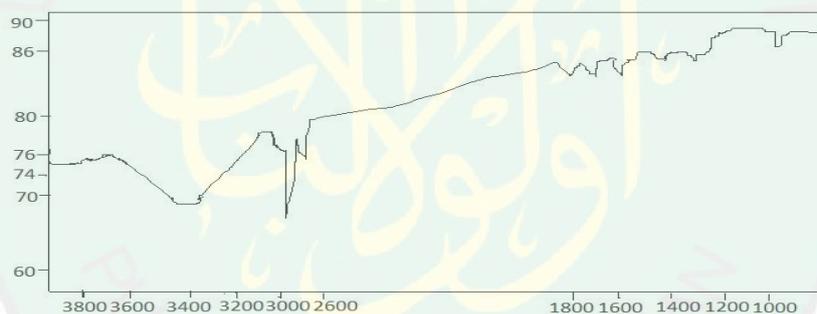
2.12 Identifikasi Senyawa Aktif Menggunakan FTIR (Fourier Transform Infrared)

Spektroskopi inframerah adalah suatu metode analisis yang didasarkan pada penyerapan sinar inframerah. Fungsi utama dari spektroskopi inframerah adalah untuk mengenal struktur molekul (gugus fungsional). Setiap lekukan yang disebut gelombang atau puncak menunjukkan absorpsi dari radiasi inframerah dari cuplikan pada frekuensi tersebut. Kegunaan paling penting dari spektroskopi inframerah adalah untuk identifikasi senyawa organik, karena spektrumnya sangat kompleks dan terdiri dari banyak puncak-puncak. Spektrum inframerah mempunyai sifat fisik dan karakteristik yang khas, artinya senyawa yang berbeda akan mempunyai spektrum yang berbeda (Iskandar, 2007).

Spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) menggunakan interferometer yang dikontrol secara otomatis dengan komputer. Jika sinar

inframerah dilewatkan melalui sampel senyawa organik, maka terdapat sejumlah frekuensi yang diserap dan ada yang diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Serapan cahaya oleh molekul tergantung pada struktur elektronik dari molekul tersebut. Molekul yang menyerap energi tersebut terjadi perubahan energi vibrasi dan perubahan tingkat energi rotasi (Suseno dan Firdausi, 2008).

Al-Quais (2015) berhasil mengidentifikasi senyawa steroid dari akar rumput bambu (*Lophaterum gracile brongn*), diidentifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR. Identifikasi golongan steroid menggunakan campuran eluen n-heksan : etil asetat (8:2). Identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR untuk mengetahui berbagai gugus penyusun steroid dari vibrasi ikatan-ikatannya.



Gambar 2.14 Spektrum IR senyawa golongan steroid dari akar rumput bambu (*Lophaterum gracile brongn*) (Al-Quais, 2015).

Berdasarkan Gambar 4.5 data spektroskopi FTIR senyawa hasil identifikasi memperlihatkan adanya gugus O-H dari ikatan hidrogen pada bilangan gelombang 3494,993 cm^{-1} . Gugus $-\text{CH}$ alifatik pada bilangan gelombang 2924,804 cm^{-1} . Dugaan ini diperkuat adanya bengkokan $-\text{CH}_2$ pada panjang gelombang 1124,799 cm^{-1} dan adanya gugus C=C pada bilangan gelombang 1646,815 cm^{-1} . Adanya gugus bengkokan $=\text{C}-\text{H}$ siklik pada bilangan gelombang 995-650 cm^{-1} dan gugus sikloheksana pada bilangan gelombang 467,206 cm^{-1} dengan intensitas lemah. Pita serapan ini menunjukkan bahwa

isolat merupakan senyawa siklik (golongan steroid). Vibrasi regang O-H pada bilangan gelombang 3494,993 cm dan regang C-O pada bilangan gelombang 1737,800 cm juga mendukung bahwa isolat merupakan senyawa steroid karena memiliki gugus hidroksil. Serapan-serapan yang terkandung dalam isolat 8 sesuai dengan struktur molekul fukosterol (steroid yang ditemukan pada tumbuhan tingkat rendah).



BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2015 sampai bulan Februari 2016, di Laboratorium Organik dan Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, pipet tetes, neraca analitik, kertas saring, ayakan 40 mesh, batang pengaduk, oven, cawan penguap, *aluminium foil*, *shaker*, lemari asam, penyaring *buchner*, *rotary evaporator*, spatula, bola hisap, rak tabung reaksi, penjepit kayu, desikator, *hot plate*, spektronik 20+(Bronson), FTIR (*Fourier Transform Infrared*), spektrofotometer UV-Vis (*Varian Carry*), plat silika gel F₂₅₄, bejana pengembang, lampu UV 254 nm dan 366 nm, pipa kapiler, *cutter* dan penggaris.

3.2.2 Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul dengan jenis beras pertiwi hasil penggilingan padi yang diperoleh dari mesin penggiling padi di Desa Tumpang Kab. Malang Jawa Timur. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah aquades, FeCl₃ 1%, HCl pekat, NaCl, HCl 1 N, serbuk Mg, H₂SO₄ pekat, pereaksi Mayer dan Dragendorff, gas N₂, ammonia, etanol p.a (merck), petroleum eter p.a (merck), kloroform p.a (merck), asam askorbat (vitamin C), DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil), kalium bromida (KBr).

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium. Sampel bekatul disaring dengan ayakan 40 mesh dan diuji kadar air. Serbuk yang diperoleh dimaserasi menggunakan 3 variasi pelarut yang memiliki kepolaran berbeda yaitu etanol p.a (polar), kloroform p.a (semi polar), dan petroleum eter p.a (non polar) selama 3x24 jam. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan dialiri dengan gas N₂. Ekstrak pekat yang diperoleh dimasukkan ke dalam gelas vial yang dilapisi aluminium dan disimpan pada suhu 4 °C.

Masing-masing hasil ekstrak bekatul dengan variasi pelarut dilakukan uji fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif dari ekstrak etanol, kloroform dan petroleum eter. Uji golongan senyawa aktif dengan reagen ini meliputi uji alkaloid, tanin, flavonoid, steroid, triterpenoid dan saponin. Ekstrak selanjutnya, diuji aktivitas antioksidan terhadap DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) pada variasi konsentrasi ekstrak bekatul sebesar 10, 50, 100, 150, 200, 400 dan 800 ppm. Pembanding yang digunakan adalah asam askorbat (Vitamin C). Selain itu, penentuan nilai aktivitas antioksidan menggunakan parameter lain yaitu nilai IC₅₀. Ekstrak hasil antioksidan yang terbaik dari golongan senyawa aktif yang positif hasil uji reagen, selanjutnya dilakukan pemisahan senyawa aktif dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Uji KLT ini menggunakan plat silika gel F₂₅₄ sebagai fase diamnya dan parameter yang digunakan adalah banyaknya noda yang dihasilkan. Eluen yang memberikan pemisahan terbaik akan digunakan dalam pemisahan dengan KLT Preparatif. Dan

diidentifikasi menggunakan spektrofotometer menggunakan instrumen FTIR (*Fourier Transform Infrared*).

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel,
2. Penentuan kadar air secara thermogravimetri,
3. Ekstraksi bekatul menggunakan metode maserasi,
4. Uji fitokimia,
5. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) pada konsentrasi 10, 50, 100, 150, 200, 400 dan 800 ppm,
6. Pemisahan senyawa aktif dengan kromatografi lapis tipis (KLT),
 - a. Penentuan eluen terbaik dengan KLTA
 - b. Pemisahan dengan KLTP
7. Identifikasi senyawa antioksidan menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared*),
8. Analisis Data.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel (Moko dkk., 2014)

Bekatul yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis beras putih varietas pertiwi hasil penggilingan padi di Desa Tumpang, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Bekatul sebanyak 40 gram diayak dengan ukuran 40 mesh dan dibungkus dengan *aluminium foil*. Setelah itu, sampel diinkubasi dengan menggunakan oven selama 3 menit pada suhu 120 °C, selanjutnya didinginkan

pada suhu ruang. Sampel kering disimpan pada suhu 4 °C untuk analisis lebih lanjut.

3.5.2 Penentuan Kadar Air secara Thermogravimetri (AOAC, 1984)

Sampel yang telah dipreparasi, selanjutnya dilakukan penentuan kadar air pada sampel. Sebelumnya, disiapkan cawan porselen terlebih dahulu, kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya. Kemudian cawan porselen disimpan dalam desikator selama 10 menit, kemudian ditimbang berat cawan kosong sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Setelah itu, dimasukkan sebanyak 5 gram sampel dalam cawan porselen dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 100-105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar air dalam sampel. Kemudian sampel didinginkan dalam desikator sekitar 10 menit dan ditimbang. Selanjutnya, sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven sekitar 15 menit, lalu didinginkan dalam desikator sekitar 10 menit dan ditimbang kembali sampai diperoleh berat konstan. Perlakuan ini diulang sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam bekatul dihitung menggunakan persamaan (3.1) (AOAC, 1984) :

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \dots\dots\dots(3.1)$$

Dimana : a = bobot cawan kosong
 b = bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan
 c = bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

3.5.3 Ekstraksi Bekatul menggunakan Metode Maserasi

Ekstraksi pada bekatul menggunakan metode maserasi dengan variasi pelarut. Sebanyak 40 gram bekatul direndam menggunakan pelarut etanol,

kloroform, dan petroleum eter masing-masing sebanyak 240 mL. Perbandingan bahan dengan pelarut adalah 1:6 b/v (Widarta, 2013). Kemudian di-*shaker* selama 3 jam dan disaring menggunakan penyaring *vacum*. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali sebanyak dua kali dengan perlakuan yang sama. Hasil masing-masing ekstrak yang diperoleh digabung menjadi satu untuk masing-masing pelarut. Filtrat bekatul dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Kemudian, dialiri dengan gas N₂ untuk menghilangkan pelarut yang masih tersisa pada filtrat etanol, kloroform dan petroleum eter. Ekstrak pekat dimasukkan ke dalam gelas vial yang dilapisi aluminium dan disimpan pada suhu 4 °C (Moko dkk., 2014). Rendemen dari masing-masing ekstrak dapat dihitung dengan rumus berikut (Harborne, 1987).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.2)$$

3.6 Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Langkah awal membuat absorbansi kontrol yaitu 1 mL larutan DPPH 0,2 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 3 mL metanol 80 %. Setelah itu, diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Kemudian, larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada λ 517 nm (Dewi, dkk., 2007).

Sampel dilarutkan dalam metanol 80% dengan konsentrasi 10, 50, 100, 150, 200, 400 dan 800 ppm. Tabung reaksi disiapkan untuk masing-masing konsentrasi, kemudian tiap-tiap tabung reaksi diisi dengan 3 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL, setelah itu diinkubasi dengan suhu

37 °C selama 30 menit dan dimasukkan kedalam kuvet hingga penuh dan diukur pada panjang gelombang λ 517 nm (Dewi, dkk., 2007). Perlakuan tersebut diulangi sebanyak tiga kali. Perbandingan menggunakan asam askorbat diperlakukan seperti sampel. Data absorbansi yang diperoleh tiap konsentrasi masing-masing ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Yuliani (2010) mengatakan apabila % aktivitas antioksidan sampel sama atau mendekati nilai aktivitas antioksidan perbandingan maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan. Nilai tersebut diperoleh dari Persamaan 3.3 (Damayanthi, 2010).

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \% \dots \dots \dots (3.3)$$

Keterangan : A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi sampel

3.7 Uji Fitokimia dengan Reagen

Skринing fitokimia sampel dalam bentuk basah meliputi pemeriksaan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid/steroid, tanin dan saponin menurut prosedur yang telah dilakukan oleh Harborne (1987) dan Depkes (1995). Sampel yang digunakan adalah ekstrak bekatul dengan variasi pelarut. Tiap ekstrak yang akan di uji fitokimia dibuat konsentrasi 10.000 ppm.

3.7.1 Uji Alkaloid (Astuti, 2012)

Ekstrak bekatul sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 mL HCl 2%. Lapisan asam yang tak berwarna diuji dengan menambahkan reagen Mayer dan Dragendroff masing-masing 3-4 tetes. Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid,

dengan pereaksi Mayer memberikan endapan berwarna putih, dan pereaksi Dragendroff memberikan endapan berwarna kuning-merah.

3.7.2 Uji Flavonoid (Astuti, 2012)

Ekstrak bekatul sebanyak 0,5 mL diambil dan ditambahkan 2 mL metanol 50% panas, ditambahkan 10 tetes HCl pekat dan logam Mg secukupnya. Adanya flavonoid terbentuknya warna pink atau merah magenta dalam 3 menit.

3.7.3 Uji Steroid dan Triterpenoid (Astuti, 2012)

Ekstrak bekatul sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 mL kloroform, 1 mL asetat anhidrat dan 0,5 mL H₂SO₄ pekat. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau terdapat cincin, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu.

3.7.4 Uji Tanin (Kurniawan, dkk., 2013)

Ekstrak bekatul sebanyak 0,5 mL diambil dan ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna biru atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin.

3.7.5 Uji Saponin (Astuti, 2012)

Ekstrak bekatul sebanyak 0,5 mL dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 mL akuades sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Apabila busa terbentuk tetap stabil ± 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.8 Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

3.8.1 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Analitik (KLTA)

Identifikasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan plat silika gel F₂₅₄ dengan ukuran 60 mesh dan mampu berfluorosensi di bawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm. Plat disiapkan dengan ukuran 1cm × 10 cm

menggunakan pensil, penggaris, dan *cutter*. Selanjutnya plat diberi garis batas dengan jarak 1 cm pada bagian bawah plat dan 1 cm dari tepi atas plat menggunakan pensil. Plat silika gel F₂₅₄ diaktivasi terlebih dahulu di dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat.

Ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ppm ditotolkan (5 – 10 totolan) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat silika gel F₂₅₄ menggunakan pipa kapiler. Dikeringkan dengan *hairdryer* dan dielusi dengan masing-masing fase gerak dari golongan senyawa aktifnya. Campuran dari masing-masing fase gerak ini dilakukan penjuanan terlebih dahulu dalam suatu bejana tertutup agar tekanan uap pada seluruh bagian bejana sama. Plat dimasukkan ke dalam *great chamber* yang berisi fase gerak yang telah dijenuhkan dan diletakkan pada jarak setinggi ± 1 cm dari dasar plat. Selanjutnya *great chamber* ditutup rapat selama ± 10 menit hingga fase geraknya mencapai jarak ± 1 cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikering anginkan.

Noda atau bercak pada permukaan plat diamati dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kemudian disemprot dengan penampak noda dari masing-masing golongan senyawa dan dipanaskan di oven pada suhu 60 °C selama 10 menit. Selanjutnya diamati masing-masing noda yang terbentuk, meliputi jumlah noda, warna noda dan jarak perpindahan noda dari tempat asalnya, dan dihitung nilai Rf nya. Adapun eluen pengembang masing-masing golongan senyawa yang digunakan adalah sebagai berikut (Tabel 3.1):

Tabel 3.1 Jenis Eluen dan Pendeteksi Masing-masing Golongan Senyawa Aktif

Golongan Senyawa	Fase Gerak	Pendeteksi	Hasil Warna Noda
Alkaloid	1. Kloroform:metanol (9:1) (Idrus, 2011)	Pereaksi Dragendorff	1. Jingga
	2. Kloroform:metanol (9:1) (Aksara, 2013)		2. Jingga
	3. Kloroform:metanol (9,5:0,5) (Hayati, dkk., 2012)		3. Jingga
	4. Kloroform:metanol (95:5) (Mursiti, 2013)		4. Biru
	5. etil asetat:metanol:air (100:16,5:13,5) (Marliana, dkk., 2005)		5. Hijau kekuningan
Flavonoid	1. Kloroform:etil asetat (60:40) (Wonohadi, dkk., 2006)	Diuapi dengan amoniak	1. Kuning
	2. Butanol:asam asetat:air (3:1:1) (Marliana, dkk., 2005)		2. Biru
	3. n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Sitorus dkk., 2011)		3. Hijau tua
	4. n-heksan:etil asetat (8:2) (Jayanti, dkk., 2012)		4. Lembayung gelap
	5. kloroform:metanol:air (9,7:0,2:0,1) (Fitriyani, dkk., 2011)		5. Kuning
Triterpenoid	1. Kloroform:metanol:etil asetat (20:60:10) (Ernawati, 2013)	Pereaksi Liebermann-Burchard	1. Coklat
	2. Etanol:air (7:1) (Rita, 2010)		2. Merah keunguan
	3. n-heksana:etil asetat (2:8) (Hayati dan Halimah, 2010)		3. Merah keunguan
	4. n-heksana:etil asetat (8:2) (Reveny, 2011)		4. Merah keunguan
	5. kloroform:metanol (4,7:0,3) (Nadia, 2012)		5. Ungu muda
Steroid	1. n-heksana:etil asetat (8:2) (al-Quais, 2015)	Pereaksi Liebermann-Burchard	1. Hijau
	2. n-heksana:etil asetat (7:3) (Hayati, dkk., 2012)		2. Hijau
	3. sikloheksana:etil	Pereaksi	3. Jingga

	asetat(1:1) (Harborne, 1987)	Liebermann-Burchard	
	4. sikloheksana:etil asetat(6:4) (Tsaniyah, 2013)		4. Hijau kebiruan
	5. kloroform:metanol (3:7) (Gunawan, dkk., 2008)		5. Ungu muda
Saponin	1. Kloroform:metanol:air (20:60:10) (Kristianingsih, 2005)	H ₂ SO ₄	1. Ungu gelap
	2. Kloroform:metanol:air (3:1:0,1) (Ernawati, 2013)	Pereaksi Liebermann-Burchard	2. Biru
	3. Kloroform:metanol:air (20:60:10) (Kristianingsih, 2005)	H ₂ SO ₄	3. Hijau
	4. Kloroform:metanol:air (13:7:2) (Suharto, dkk., 2009)		4. Hijau
	5. N-heksan:aseton (4:1) (Marliana, 2005)		5. Hijau
Tanin	1. Kloroform:metanol:air (7:3:0,4) (Fitriyani, dkk., 2011)	Pereaksi FeCl ₃	1. Hitam
	2. n-heksana:etil asetat (6:4) (Mangunwardoyo, dkk., 2009)		2. Hijau kekuningan
	3. Asam asetat glasial:air:HCl pekat (30:10:3) (Sriwahyuni, 2010)		3. Lembayung
	4. n-butanol:asam asetat:air (4:1:5) (Hayati dkk, 2010)	AlCl ₃ 1%	4. Coklat kehijauan
	5. n-butanol:asam asetat:air (2:0,5:1,1) (Yulia, 2006)		5. Lembayung

3.8.2 Pemisahan Senyawa Aktif dengan KLT Preparatif (KLTP)

Pemisahan KLT preparatif menggunakan plat KLTG₆₀ F₂₅₄ dengan ukuran yaitu 10 x 20 cm. Ekstrak bekatul ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah. Selanjutnya dikering anginkan dan ditotolkan kembali ekstrak

sampai 2 kali penotolan. Eluen yang digunakan pada pemisahan KLT preparatif adalah eluen terbaik dari hasil pemisahan pada KLT analitik. Elusi dihentikan ketika gerakan larutan pengembang sampai pada garis batas. Plat hasil elusi dikeringkan, noda yang terbentuk diamati dengan lampu UV pada panjang gelombang maksimum 366 nm. Noda yang dihasilkan dari KLTP dikerok dan dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, pelarut yang merupakan pelarut terbaik dari hasil aktivitas antioksidan. kemudian disentrifugasi untuk mengendapkan silikanya. Filtrat hasil sentrifugasi diuapkan pelarutnya dengan dimasukkan dalam desikator *vacum*.

3.9 Identifikasi Senyawa Antoksidan menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared*)

Isolat hasil KLT preparatif kemudian diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer Infra Merah merk varian tipe FT 1000. Pelet KBr (Kalium bromida) dibuat dengan cara ditimbang sekitar 0,1 gram padatan KBr yang bebas air. Kemudian digerus sampai halus dan dipress pada tekanan 80 torr dan ditunggu sampai 10 menit hingga diperoleh pellet KBr yang sudah jadi. Kemudian sampel dimasukkan kedalam alat Infra Merah merk varian FT 1000 pada rentang bilangan gelombang $4000-400\text{ cm}^{-1}$, ditunggu proses pembacaan data dan muncul kromatogram pada komputer.

3.10 Analisis Data

Metode analisis yang digunakan adalah dengan menginterpretasikan data yang berupa bentuk gambar, tabel dan grafik. Data analisis yang diperoleh ini berupa absorbansi-absorbansi dari kontrol, sampel dan pembanding asam askorbat

pada konsentrasi 10, 50, 100, 150, 200, 400 dan 800 ppm. Setelah didapatkan data persen (%) aktivitas antioksidan pada masing-masing konsentrasi sampel dan pembanding. Selanjutnya, membandingkan nilai sampel dengan pembanding untuk mengetahui aktivitas antioksidan alami dengan antioksidan sintetik. Hasil uji aktivitas antioksidan yang terbaik dilakukan uji fitokimia dan KLT. Identifikasi senyawa antioksidan menggunakan FTIR.



BAB IV

PEMBAHASAN

Bekatul memiliki berbagai macam potensi salah satunya sebagai senyawa antioksidan. Pemanfaatan bekatul ini selain senyawa antioksidan juga untuk mengetahui senyawa-senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak bekatul. Penelitian bekatul ini menggunakan ekstraksi maserasi, uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, uji fitokimia dengan reagen dan pemisahan senyawa aktif (KLT). Identifikasi suatu senyawa aktif dilakukan dengan menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infrared*).

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul beras putih. Proses pengayakan bekatul menggunakan ayakan berukuran 40 mesh. Proses pengayakan ini bertujuan untuk memperluas permukaan sampel, mempermudah kelarutan komponen bioaktif dan meningkatkan rendemen ekstraksi. Sampel diinkubasi dengan menggunakan oven selama 3 menit pada suhu 102 °C, inkubasi ini dilakukan untuk inaktivasi enzim lipase yang ada di dalam bekatul (Cahyanine, 2008). Bekatul kering diperoleh berwarna coklat kekuning-kuningan dan disimpan pada suhu 4 °C untuk analisis lebih lanjut. Hasil dari preparasi dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Preparasi Sampel Bekatul

4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan dengan menggunakan metode thermogravimetri yaitu pemanasan dengan metode modifikasi Helrich (1984). Metode dengan penguapan air yang ada didalam sampel pada suhu 100-105°C. Kadar air pada sampel bekatul yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh sebesar 8,27% (b/b). Kadar air tersebut cukup baik untuk dilakukan proses ekstraksi secara maksimal dan dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup panjang. Kadar air yang kurang dari 10% (b/b) dapat menghentikan reaksi enzimatik yang dapat menguraikan senyawa aktif (Ditjen POM, 1985). Menurut Kumala (2007) semakin kecil kadar air suatu sampel, maka semakin mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif, sehingga akan diperoleh rendemen semakin besar. Perhitungan analisis kadar air dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.3 Ekstraksi Bekatul

Proses ekstraksi bekatul menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol, kloroform, dan petroleum eter. Masing-masing dari ketiga pelarut tersebut memiliki sifat kepolaran berbeda-beda. Penggunaan perbedaan tingkat kepolaran

masing-masing pelarut bertujuan untuk mengoptimalkan hasil ekstraksi bekatul beras putih.

Ekstraksi maserasi dilakukan dengan merendam sampel selama 24 jam. Proses pengadukan menggunakan *shaker* berkecepatan 150 rpm (*rotation per minutes*). Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan hasil ekstraksi, karena proses ekstraksi berlangsung optimal dengan tersedianya waktu kontak antara sampel dengan pelarut. Maserasi bekatul dilakukan sampai didapatkan filtrat berwarna kuning pucat. Filtrat hasil penyaringan pertama berwarna coklat kekuningan dan filtrat yang terakhir diperoleh filtrat yang berwarna kuning pucat. Filtrat hasil ekstraksi dipisahkan dengan *rotary evaporator vacuum*. Perhitungan rendemen dapat dilihat dalam Lampiran 4. Hasil rendemen maserasi ekstrak bekatul ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil rendemen ekstraksi bekatul

Pelarut	Berat Sampel (gram)	Berat Ekstrak Pekat (gram)	Rendemen (%) (b/b)	Warna Ekstrak Pekat
Etanol 99,5%	40	3,56	8,89	Coklat Kekuningan
Kloroform 99%	40	1,88	4,70	Coklat Kekuningan
Petroleum eter	40	0,273	0,683	Coklat Kekuningan

4.4 Uji Fitokimia Senyawa Aktif dengan Reagen

Uji fitokimia merupakan uji kualitatif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam sampel. Golongan senyawa metabolit sekunder yang diuji berupa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpen, tanin dan saponin. Berikut ini hasil pengujian fitokimia reagen ekstrak bekatul dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji fitokimia reagen ekstrak bekatul

Golongan senyawa aktif	Ekstrak		
	Etanol	Kloroform	Petroleum eter
Alkaloid			
- Mayer	-	-	-
- Dargendorf	-	-	-
Flavonoid	-	-	-
Steroid	+	++	+
Triterpen	++	+	+
Tanin	-	-	-
Saponin	-	-	-

Keterangan : Tanda ++ : terkandung senyawa lebih /warna pekat

Tanda + : terkandung senyawa/warna muda

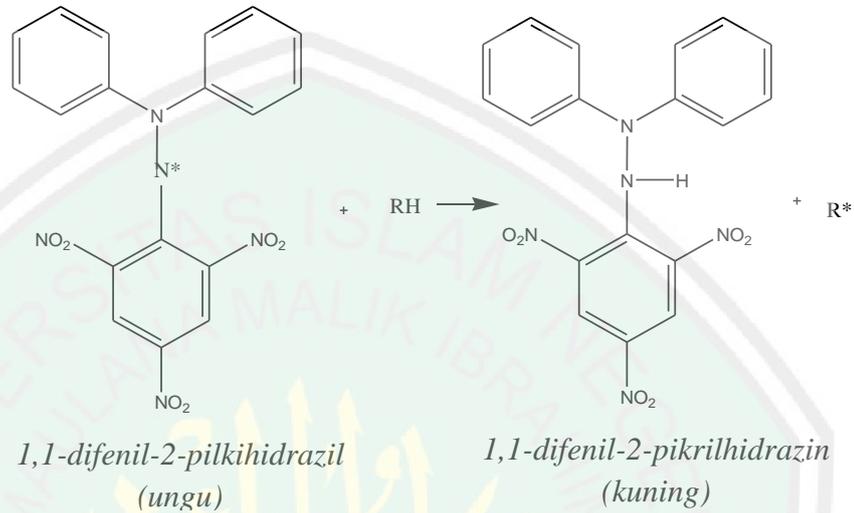
Tanda - : tidak terkandung senyawa/ tidak terbentuk warna

Berdasarkan hasil pengamatan uji fitokimia pada Tabel 4.2, diketahui bahwa ekstrak etanol, kloroform dan petroleum eter mengandung senyawa triterpenoid dan steroid. Senyawa steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan, sedangkan senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Moko (2014) bahwa pengujian fitokimia ekstrak bekatul menghasilkan senyawa fenolik, flavonoid, triterpenoid, alkaloid dan saponin.

4.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak bekatul dalam penelitian ini dilakukan dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode DPPH berperan sebagai radikal bebas akan bereaksi dengan antioksidan membentuk DPPH-H (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazin*) dan radikal antioksidan. Antioksidan akan mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal DPPH untuk melengkapi kekurangan elektron dan membentuk radikal antioksidan yang lebih stabil

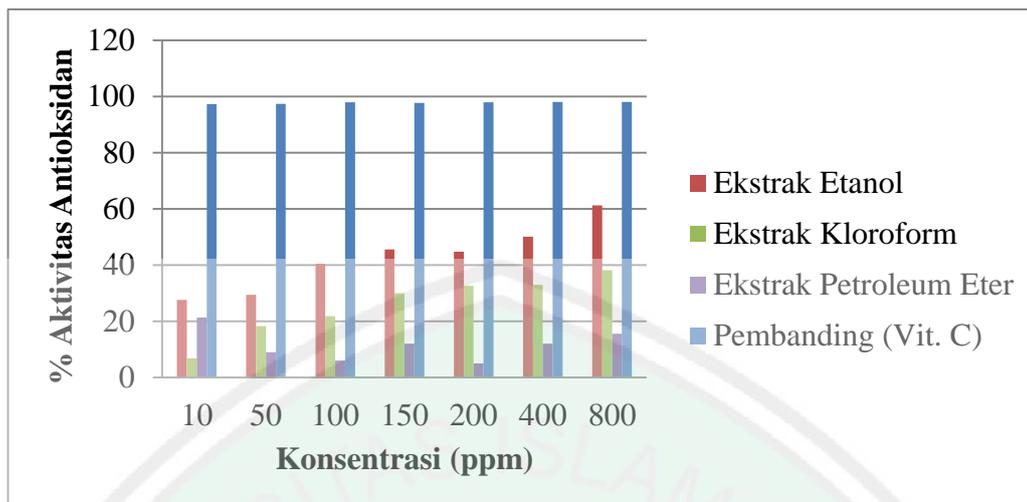
(Prakash, 2001). Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan ditunjukkan pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan (Prakash dkk., 2001)

Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan berbagai konsentrasi yaitu 10, 50, 100, 150, 200, 400 dan 800 ppm. Sampel yang diuji aktivitas antioksidannya yaitu ekstrak etanol, ekstrak kloroform dan ekstrak petroleum eter. Pengujian aktivitas antioksidan diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan waktu kestabilan 30 menit (Dewi, dkk., 2007).

Perubahan warna DPPH dari ungu akan berubah menjadi kuning ketika ditambahkan dengan sampel. Perubahan warna mengakibatkan penurunan nilai absorbansi radikal bebas dari DPPH, sehingga semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi antioksidannya. DPPH yang bereaksi dengan senyawa antioksidan akan menghasilkan bentuk DPPH tereduksi dan radikal antioksidan (Sulandi, 2013). Hasil persentase aktivitas antioksidan dari ekstrak bekatul dengan menggunakan variasi pelarut ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Grafik aktivitas antioksidan ekstrak bekatul

Berdasarkan Gambar 4.3 diketahui bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar % aktivitas antioksidan. Hasil ini didukung oleh penelitian Hanani, dkk (2005); Dewi, dkk (2007) yang menyatakan bahwa persentase aktivitas antioksidan terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Konsentrasi 800 ppm merupakan konsentrasi maksimum ekstrak etanol dan ekstrak kloroform karena pada konsentrasi tersebut memiliki nilai persen aktivitas antioksidan tertinggi yaitu 61,17% dan 38,19%. Hal ini diduga akibat terjadinya sinergisme antar senyawa-senyawa antioksidan dalam ekstrak sehingga aktivitas antioksidan tetap stabil dan naik secara signifikan. Berbeda dengan ekstrak petroleum eter yang mengalami fluktuasi terhadap bertambahnya konsentrasi pada sampel hingga konsentrasi 800 ppm. Hal ini disebabkan adanya pengaruh pelarut terhadap sampel yang mengakibatkan sampel tidak larut sempurna dalam DPPH. Menurut Dewi, dkk., (2007) pelarut yang berbeda dapat mempengaruhi terhadap besarnya aktivitas antioksidan. Selain itu, diakibatkan senyawa yang ada dalam ekstrak petroleum

eter tidak dapat mendonasikan atom hidrogen dan elektron untuk menangkai radikal bebas (Sulandi, 2013).

Aktivitas antioksidan pada ekstrak bekatul diduga karena pada ekstrak tersebut terdapat senyawa steroid dan triterpenoid. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya terhadap senyawa steroid yang terdapat pada ekstrak etanol dari *inonotus obliquus* mampu meredam radikal DPPH (Cui, 2003). Senyawa triterpenoid dilaporkan memiliki sebagai aktivitas biologis seperti antimalaria (Graziose dkk., 2012) dan antioksidan (Hashem dkk., 2012; Marliana, 2007). Aktivitas antioksidan pada senyawa steroid dan triterpenoid merupakan golongan senyawa fenolik, yaitu senyawa dengan gugus OH yang terikat langsung pada gugus cincin hidrokarbon aromatik. Senyawa fenolik ini mempunyai kemampuan untuk menyumbangkan atom hidrogen, sehingga radikal bebas DPPH dapat tereduksi menjadi bentuk yang lebih stabil. Semakin banyak gugus hidroksil yang dimiliki senyawa fenolik, maka semakin besar aktivitas antioksidan yang diperoleh (Sulandi, 2013).

Sampel pembanding pada pengukuran aktivitas antioksidan dalam penelitian ini yaitu vitamin C. Hasil presentase aktivitas antioksidan vitamin C sangat aktif dalam meredam radikal DPPH yaitu sebesar 98,05%. Parameter lain yang digunakan untuk mengetahui kekuatan antioksidan ialah IC_{50} (Inhibition Concentration 50 Value). IC_{50} merupakan konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil IC_{50} menandakan semakin besar aktivitas antioksidan (Molyneux, 2013). Nilai IC_{50} ekstrak bekatul variasi pelarut ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Nilai IC₅₀ sampel

Sampel	Nilai IC ₅₀ (mg/L)
Ekstrak etanol	437
Ekstrak kloroform	1053
Ekstrak petroleum eter	Tidak Valid

Hasil pengukuran IC₅₀ ekstrak etanol dan ekstrak kloroform masing-masing sebesar 437 dan 1053 mg/L. Ekstrak etanol tergolong memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dibandingkan ekstrak kloroform. Menurut Molyneux (2004) suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC₅₀ yang diperoleh berkisar antara 200-1000 mg/L, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan. Ekstrak petroleum eter tidak diketahui nilai IC₅₀. Hal ini dimungkinkan karena sampel masih berupa ekstrak kasar dan belum merupakan produk murni. Oleh karena itu, masih ada kemungkinan senyawa murni yang dikandung memiliki aktivitas peredaman radikal bebas lebih kuat dibandingkan ekstraknya.

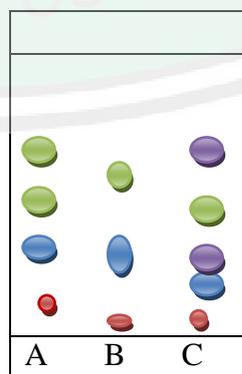
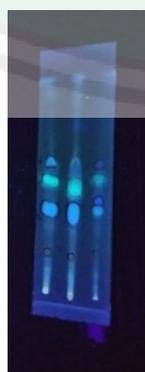
4.6 Pemisahan Senyawa Aktif menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Pemisahan golongan senyawa aktif menggunakan beberapa variasi eluen dari penelitian yang dilakukan sebelumnya. Variasi eluen dapat dilihat dalam Lampiran 6. Hasil pemisahan senyawa aktif dengan eluen yang terbaik yaitu n-heksan:etil asetat (8:2) ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.4 Hasil uji KLTA ekstrak etanol, kloroform dan petroleum eter dibawah sinar UV 366 nm dengan eluen n-heksan:etil asetat (8:2)

No	Sampel ekstrak	Jumlah noda	Nilai Rf	Warna
1.	Etanol	4	0,2	Merah
			0,4	Biru
			0,5	Hijau
			0,6	Hijau
2.	Kloroform	3	0,2	Merah
			0,4	Biru
			0,5	Hijau
3.	Petroleum eter	5	0,2	Merah
			0,4	Biru
			0,4	Ungu
			0,5	Hijau
			0,6	Ungu

Berdasarkan Tabel 4.3 Hasil eluen tersebut menunjukkan terbentuknya beberapa noda yang terpisah di bawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm. Ekstrak etanol (A); ekstrak kloroform (B) dan ekstrak petroleum eter (C) menunjukkan 4, 3, dan 5 noda. Hasil pemisahan KLT analitik di bawah lampu UV pada panjang gelombang 366 nm ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.4 Hasil KLTA eluen terbaik n-heksan : etil asetat (8:2)

Noda yang dihasilkan diduga terdapat senyawa steroid dan senyawa triterpenoid yang ditandai dengan warna hijau dan coklat kemerahan. Eluen terbaik dari hasil KLTA pemisahan senyawaan steroid dan triterpenoid akan digunakan untuk analisis lebih lanjut pada KLT preparatif.

4.7 Pemisahan Golongan Senyawa Steroid dengan KLT Preparatif

KLTP merupakan pemisahan analit dalam jumlah yang banyak sehingga senyawa tersebut dianalisis lanjut. KLTP ini adalah tahap lanjutan dari pemisahan menggunakan KLTA. Pemisahan menggunakan KLTP ini bertujuan untuk mendapatkan isolat senyawa aktif yang telah tampak pada pemisahan KLTA. Pelarut pengembang menggunakan eluen n-heksan:etil asetat (8:2). Hasil pemisahan KLTP dan nilai Rf eluen n-heksan:etil asetat (8:2) ditunjukkan pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil pemisahan KLTP dan nilai Rf eluen n-heksan : etil asetat (8:2)

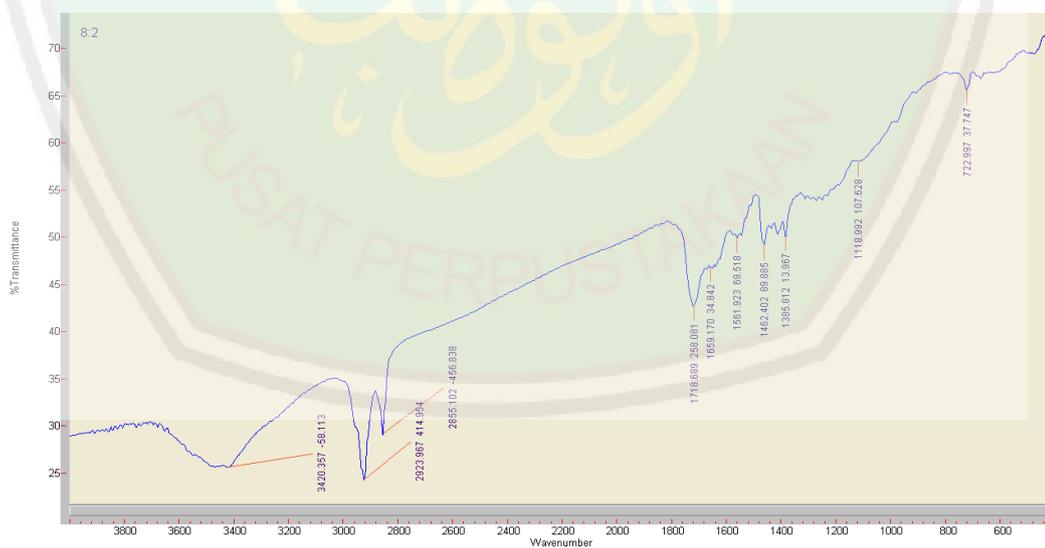
No	Rf noda	Warna noda dibawah sinar UV 366 nm
1.	0,24	Merah
2.	0,39	Biru
3.	0,54	Hijau
4.	0,63	Biru

Berdasarkan Tabel 4.5 hasil pemisahan KLTP pada eluen n-heksan : etil asetat (8:2) diperoleh 4 noda. Berdasarkan hasil KLTP senyawa steroid diduga terdapat dalam isolat 3 yaitu berwarna hijau dengan nilai Rf 0,54. Dugaan tersebut berdasarkan warna hijau yang dihasilkan dibawah sinar UV pada λ 366 nm. al-Quais (2015) melakukan identifikasi senyawa steroid dari rumput bambu dengan

menggunakan eluen yang sama, di dapatkan penampak noda berwarna hijau saat disinari UV 366 nm. Harborne (1987) juga menyatakan steroid dapat dideteksi dengan sinar UV berupa warna hijau.

4.8 Identifikasi Senyawa Steroid dengan Spektrofotometer FTIR

Hasil isolat KLTP dilakukan identifikasi menggunakan FTIR untuk menentukan gugus-gugus fungsi yang terdapat pada suatu senyawa. Serapan yang dihasilkan pada spektrum FTIR akan memperkuat dugaan bahwa terdapat senyawaan steroid. Prinsip kerja dari FTIR yaitu interaksi senyawa dengan radiasi elektromagnetik berdasarkan vibrasi atom terhadap molekul pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Hasil FTIR isolat steroid ditunjukkan pada Gambar 4.7 dan interpretasinya ditunjukkan pada Tabel 4.6.



Gambar 4.5 Hasil spektra FTIR

Tabel 4.6 Interpretasi hasil spektra FTIR

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Range pustaka (Socrates, 1994)	Jenis vibrasi	Intensitas
3420	3550-3230	Rentang O-H dari ikatan hidrogen intermolekuler	sedang
2923 dan 2855	3000-2800	Rentang C—H _{sp³}	sedang
1718	1780-1730	Rentangan C=O	sedang
1659 dan 1561	1690-1620	Rentangan C=C	sedang
1462 dan 1385	1480-1440	Bengkokan —CH ₂	lemah
1118	1125-1000	Rentangan C-O alkohol sekunder	lemah
723	995-650	Bengkokan =C-H siklik	lemah

Sumber: Al-Quais, 2015

Hasil spektra FTIR isolat (8:2) ekstrak etanol sebanyak 10 menunjukkan adanya rentangan (O-H) dari ikatan hidrogen intermolekuler dengan intensitas sedang pada bilangan gelombang 3420 cm⁻¹. Adanya gugus (O-H) ini didukung dengan munculnya serapan lemah pada bilangan gelombang 1118 cm⁻¹ dari rentangan (C-O) alkohol sekunder (Socrates, 1994). Rentangan (C sp³—H) alifatik ditunjukkan dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 2923 cm⁻¹ dan 2855 cm⁻¹. Adanya rentangan (C sp³—H) alifatik ini, maka dimungkinkan adanya gugus metil (CH₃) dan metilena (CH₂) (Socrates, 1994). Dugaan ini diperkuat dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang 1462 cm⁻¹ dan 1385 cm⁻¹ ditunjukkan adanya bengkokan (—CH₂). Munculnya pita serapan pada bilangan gelombang 1718 cm⁻¹ menunjukkan adanya rentangan (C=O). Serapan ini dengan adanya vibrasi (C-H) tekuk pada spektra inframerah mengindikasikan adanya gugus gem dimetil yang lazim ditemukan pada senyawa terpenoid dan steroid (Astuti, dkk., 2014). Serapan ini juga diperkuat oleh adanya gugus bengkokan

=C-H siklik pada bilangan gelombang 723 cm^{-1} . Pita serapan ini dimungkinkan bahwa isolat merupakan senyawa siklik (senyawa steroid) (al Quais, 2015).

Gugus alifatik 2923 dan 2855 cm^{-1} menunjukkan adanya senyawa steroid yang diperkuat dengan adanya gugus $\text{C}_{\text{sp}^3}\text{-H}$ alifatik, bengkokan -CH_2 gem dimetil dan =C-H siklik. Vibrasi O-H pada serapan bilangan gelombang 3420 cm^{-1} dan regangan C=O pada serapan bilangan gelombang 1718 cm^{-1} juga mendukung bahwa isolat merupakan senyawa steroid golongan sterol (steroid alkohol) karena terdapat gugus -OH (alkohol sekunder).

4.9 Pemanfaatan Bekatul dalam Perspektif Agama Islam

Allah Swt telah menciptakan alam semesta beserta isinya sesuai manfaatnya masing-masing. Kekuasaan Allah Swt yang begitu besar bagi makhluk hidup yang ada di bumi merupakan suatu tanda bagi mereka tentang adanya sang Maha pencipta. Allah Swt memberikan hikmah atas segala penciptaan alam semesta supaya manusia beribadah kepada Allah Swt dengan mengingatNya, memikirkan tentang penciptaanNya serta bersyukur kepadaNya. Allah Swt berfirman dalam Al Qur'an surat Luqman [31] ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَالْقَى فِي الْأَرْضِ رَواسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا
مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿١٠﴾

“Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (Qs. Luqman : 10).

Qarni (2007) menafsirkan bahwa Allah Swt menciptakan langit dan meninggikan dari 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. Tanaman yang mudah menyesuaikan diri pada kondisi ini adalah bekatul.

Bekatul merupakan hasil samping dari proses penggilingan padi menjadi beras. Bekatul mengandung asam amino yang lebih tinggi dibandingkan beras. Bekatul juga kaya akan kandungan B kompleks (B1, B2, B3, B5, B6 dan tokoferol) dan serat yang tinggi (Balai Besar Pelatihan Pertanian, 2013). Allah Swt menciptakan segala sesuatu yang ada di muka bumi ini tidak ada yang sia-sia, diantaranya sebagai salah satu sumber yang dapat diambil hasilnya untuk kemaslahatan umat manusia. Bekatul yang berasal dari limbah padi bisa dimanfaatkan sebagai obat untuk manusia. Allah Swt berfirman dalam al Qur'an surat asy Syu'ara ayat 80.

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

“ dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan Aku” (Qs. asy Syu'ara : 80)

Allah Swt berfirman bila aku (manusia) sakit, tiada yang mampu menyembuhkanku dari pennyakit kecuali Allah Yang Maha Esa. Dialah yang memberi penyakit dan menurunkan obat (Al-Qarni, 2007). Asbabun Nuzul ayat ini turun ketika Nabi Ibrahim menyampaikan kepada masyarakat yang hidup pada saat itu supaya sadar bahwa sesungguhnya yang memberi sakit adalah Allah Swt,

dan Dialah pula yang akan menyembuhkan penyakit tersebut. Ayat ini menjelaskan bahwa yang sebenarnya menyembuhkan penyakit adalah Allah Swt karena pada hakikatnya nikmat yang kita terima adalah dari Allah Swt (al-Jazairi, 2009). Segala macam penyakit yang telah diberikan oleh Allah Swt, pasti ada obat atau penawarnya yang diberikan olehNya bahkan manusia tidak menyadarinya. Seperti halnya pada sabda Rasulullah saw dalam HR. Ibnu Majah :3430 berikut :

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ قَالَ: قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

"Abu Hurairah dia berkata, Rasulullah saw bersabda: "Allah tidak menurunkan suatu penyakit kecuali menurunkan obat baginya" "(HR. Ibnu Majah: 3430).

Hadist di atas menunjukkan bahwa betapa Allah Swt Maha Adil, yang mana dengan variasi penyakit yang telah Allah Swt berikan, Allah Swt senantiasa selalu menyediakan bahkan menunjukkan penawarnya (obat) bagi mereka yang berfikir dengan keimanannya (Farooqi, 2005). Kata berfikir tidak pernah lepas dengan pengetahuan, dimana dengan pengetahuan segala sesuatu yang awalnya merupakan masalah akan berubah menjadi berkah.

Sebagian besar masyarakat tidak menyadari bahwa bahan limbah hasil penggilingan padi berupa bekatul memiliki potensi sebagai antioksidan yang dapat mencegah reaksi oksidasi atau radikal bebas dalam tubuh. Reaksi oksidasi terjadi setiap saat bahkan ketika kita bernafas pun terjadi reaksi oksidasi. Reaksi ini membentuk radikal bebas yang sangat reaktif yang dapat merusak struktur serta fungsi sel. Reaktivitas radikal bebas dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang melengkapi sistem kekebalan tubuh. Antioksidan ini akan bereaksi dengan oksidan untuk menghambat oksidasi pada sel-sel tubuh. Potensi tersebut dibuktikan dengan kuatnya aktivitas antioksidan dengan nilai persen tertinggi

61,17% pada konsentrasi 800 ppm. Ekstrak etanol dengan nilai % aktivitas antioksidan tertinggi cukup berpotensi bila digunakan sebagai sumber antioksidan alami. Maha Besar Allah Swt dengan segala penciptaanNya, bahwa yang awalnya bekatul hanya di anggap sebagai limbah ternyata Allah Swt tidak menciptakan sesuatu (limbah) dengan sia-sia, bahkan memiliki potensi dan manfaat yang sangat besar bagi tubuh manusia.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Aktivitas antioksidan terbaik terdapat pada ekstrak pelarut etanol sebesar 61,17% dengan nilai IC_{50} 437 mg/L pada konsentrasi 800 ppm.
2. Ekstrak bekatul aktivitas antioksidan terbaik teridentifikasi golongan senyawa steroid
3. Pola spektra FTIR yang terkandung dalam ekstrak bekatul memiliki gugus fungsi $C_{sp^3}-H$, $-CH_2$ dimetil, $=C-H$ siklik, $C=O$ dan $O-H$

5.2 Saran

1. Pada penelitian ini, pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan pelarut petroleum eter kurang memberikan hasil yang bagus. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada petroleum eter dengan menggunakan penambahan surfaktan.
2. Pada pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH disarankan untuk menggunakan penentuan waktu inkubasi karena pada penelitian ini tidak dilakukan penentuan waktu inkubasi, sehingga mempengaruhi rendahnya potensi antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adom, K.K. dan Liu, R.H. 2002. Antioxidant Activity of Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Vol.50 : 6182-6187.
- Ahmad, M. M. 2006. *Anti Inflammatory Activities of Nigella Sativa Linn. (kalogi, black seed)*, (online), (<http://lailanurhayati.Multiply.com/jurnal>) (diunduh pada tanggal 29 Juni 2016).
- Al-Jazairi, S. A. B. J. 2009. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aishar Jilid 6*. Jakarta: Darus Sunnah.
- Al-Qarni, 'Aidh. 2007. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi Press.
- Al-Quais, K. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana dan Identifikasi Senyawa Steroid Akar Rumput Bambu (*Lophatherum gracile Brongn.*). *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist, Inc.* Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.
- Ash-Shiddiqie, M. Hasbi dan Teungku. 2000. *Tafsir Al-Quranul Majid An-Nuur*. Semarang: Pustaka Rizki Putra.
- Astawan, M. 2009. *Sehat dengan Hidangan Kacang dan Biji-bijian*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Astuti, M.S. 2012. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman Binahong (*Anrederacordifolia (Ten) Steenis*). *Jurnal Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan (BBPMSOH) dan Fakultas Kejuteraan Kimia dan Sumber Asli (Bioproses)*. Indonesia-Malaysia, 1-13.
- Astuti, M. D., Maulana, A., dan Kuntowati, E. M. 2014. Isolasi Steroid Fraksi n-Heksana Batang Bajakah Tampala (*Spatholobus littoralis Hassk.*). *Prosiding Seminar Nasional*, ISBN: 978-602-0951-00-3.
- Auliana, R. 2011. Manfaat Bekatul. *Kegiatan Dharma Wanita*. FT UNY.
- Bawa, I.G.A.G. 2009. Isolasi dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif dari Daging Buah Pare (*Momordicacharantia L.*). *Jurnal Kimia*. FMIPA Universitas Udayana.

- Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. 2007. Mengolah Dedak menjadi Minyak (*Rice Bran Oil*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. Vol.29 (4).
- Burke, R.W., Diamondstone, B.A., Velapoidi, R.A dan Menis, O. 1974. Mechanisms of the Liebermann-Burchard and Zak Color Reaction for Cholesterol. *Clinical Chemistry Journal*. Vol. 20(7).
- Cahyanine, M. Estiasih, T. Nisa, F. C. 2008. Fraksi Kaya Tokoferol dari Bekatul Beras (*Oryza sativa*) dengan Teknik Rekrystalisasi Pelarut Suhu Rendah. *Jurnal Teknologi Pertanian* Vol. 9 No. 3 165-172.
- Chen, M.H. dan Bergman, C.J. 2005. A Rapid Procedure for Analysing Rice Bran Tocopherol, Tocotrienol and γ -Oryzanol Contents. *Journal Food Compos Analisys*. Vol.18:139–151.
- Chanphrom, P. 2007. Antioxidants and Antioxidant Activities of Pigmented Rice Varieties and Rice Bran. [Thesis]. Thailand: Faculty of Gratuated Studies, Mahidol University.
- Creswell, Clifford J, Olaf A Runquist, dan Malcolm M. Campbell. 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Bandung : ITB.
- Cui Y, Kim D, dan Park K. 2003. Antioxidant Effect of *Inonotus obliquus*. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol 96. Hal 78-95.
- Damayanthi, E. Kustiyah, L. Khalid, M. Farizal, H. 2010. Aktivitas Antioksidan Bekatul Lebih Tinggi Daripada Jus Tomat dan Penurunan Aktivitas Antioksidan Serum Setelah Intervensi Minuman Kaya Antioksidan. *Journal of Nutrition and Food*: 5 (3).
- Day dan Underwood. 1998. *Kimia Analisis Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Depkes RI. 1994. Persyaratan Obat Tradisional: Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 661-MENKES/SK/VII-1994. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dermawan, R. 2012. Metode Analisis Uji Warna Senyawa Metabolit Sekunder. *Makalah Kimia Organik Analisis*. Makassar: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan. Vol. 13: 2-11.
- Dewi J. R. Estiasih Teti, dan Murtini E. S. 2007. Aktivitas Antioksidan Dedak Sorgum Lokal Varietas Coklat (*Shorgum bicolor*) Hasil Ekstraksi Berbagai Pelarut. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 8 No. 2.
- Farooqi, M. I. H. 2005. *Terapi Herbal Cara Islam; Manfaat Tumbuhan menurut Al-Qur'an dan Sunah Nabi*. Penj. Ahmad Y. Samantho. Jakarta: Penerbit Hikmah (PT Mizan Publika).

- Fessenden dan Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Diterjemahkan oleh Alyosius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Garcia CA, Gavino G, Mosqueda MB, Hevia P, dan Gavino VC. 2007. Correlation of tocopherol, tokotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. *Journal Food Chem.* 102: 1228-1232. Doi:10.1016.
- Gritter, R. J., J. M. Robbit dan S. E. Schwarting. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terjemahan Kokasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Guenther, E. 2011. *Minyak Atsiri*. Jakarta: UI Press.
- Gunawan IW.G, Bawa Gede IG.A, dan Sutrisnayanti N.L. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid yang Aktif Antibakteri pada Herba Meniran (*phyllanthus niruri linn*). *Jurnal*. Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana.
- Hadipernata, M. 2007. Mengolah Dedak Menjadi Minyak (*Rice Bran Oil*). *Balai Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian Bogor*. Vol.29(4).
- Hanani, E., Abdul, M dan Ryany, S. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam *Spons Callyspongiasp* dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. ISSN: 1693-9883. Vol. 2(3) :127-133.
- Harborne, J.B., 1987. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, terbitan ke-2, terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro, Penerbit ITB, Bandung, 8-9, 13-14, 85.
- Hashem, F.A. 2012. Antioxidant Activity of Mayodendron Igneum Kurz and the Cytotoxicity of the Isolated Terpenoids. *Journal of Medicinally Active Plants*, Volume, 1(3): 88-97.
- Hayati, E. K., Jannah, A., dan Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria in Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*AcalyphaIndicaL.*). *Molekul*, Vol. 7. No. 1. Hal:20-32.
- Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: Remaja Posdakarya.
- Hidajat, B. 2005. *Penggunaan Antioksidan Pada Anak*. Artikel Kimia. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Iskandar, Y. 2007. Karakterisasi Zat Metabolit Sekunder Daun Ekstrak Bunga Krisan (*Chrysanthemum inerariaefolium*) Sebagai Bahan Pembuatan Biopestisida. *Skripsi*. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang.

- IUPAC. 1989. *Standard Methods for the Analysis of Oils Fats and Derivatives*. Pergamon Press, New York, USA.
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kumala, C. D. 2007. Kajian Ekstrak Umbi Gadung (*Dioscoreahispida*), Rerak (*Sapindusrarak*) dan Biji Sirsak (*Annonamuricata L.*) sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu. *Skripsi*. Bandung: Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.
- Kurniawan J. C., Suryanto Edi, dan Yudistira A. 2013. Analisis Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Getah Kulit Buah Pisang Goroho (*Musa acuminata* (L.)). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. UNSRAT Vol 2 No. 3.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida. *Karya Ilmiah Tidak Diterbitkan*. Medan: MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth Yang Berfungsi Sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian Mipa*. Universitas Mulawarman. Volume 1, No.1
- Marliana, S.D., Venty, S dan Suyono.2005. Skrinning Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Labu Siam dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*. ISSN: 1693-2242. Vol. 3(1): 26-31.
- Mikarno E, Y. Okada, A. Semma, Y. Otto, dan Morimoto I. 2000. Studies On Structural Correlation-Ship with Antioxidant Activity of Flavonoids. *Jpn. J. FoodChem*. 7(2): 93-101.
- Moko, E. M., Purnomo, H., Kusnadi, J. Dan Ijong, F.G. 2014. Phytochemical content and antioxidant properties of colored and non colored varieties of rice bran from Minahasa, North Sulawesi, Indonesia. *International Food Research Journal* 21(3): 1053-1059.
- Molyneux. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal Science Technolgy*. Vol.26 (2): 211-219.
- Mulyono, HAM. 2006. *Kamus Kimia*. Jakarta: PT. BumiAksara.
- Mumpuni, P.D. dan Ayustaningwarno, F. 2013. Analisis Kadar Tokoferol, γ -Oryzanol dan B-Karoten Serta Aktivitas Antioksidan Minyak Bekatul Kasar. *Journal Of Nutrition College*, Vol.2(3):350-357.
- Mutiara, E dan Wulan, H. 2011. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Dan Kualitas Minyak Bekatul Yang Berasal dari Bekatul Beras (*Oryza Sativa L.*). *Media Farmasi Indonesia*. Vol. 8(2).

- Ovani, I. 2013. Pengembangan Minuman Emulsi Minyak Bekatul Berflavor Kaya Antioksidan Untuk Pencegahan Penyakit Tidak Menular. *Skripsi* tidak diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- 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*. III (1): 7-13.
- Perron, R. N dan Brumaghim, L. J. 2009. A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding. *Cell Biochem Biophys*. (53): 75 -100.
- Prakash, A., Rigelhof, F dan Miller, E. 2001 Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*. Vol. 10 No.2.
- 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.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- Rohman, A., Riyanto. 2005. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.). *Agritech*, Vol. 25. No. 3: 131-136.
- Sari P, Fitriyah A, Mukhamad K, Unus, Mukhamad F, dan Triana L. 2005. Ekstraksi dan Stabilitas Antosianin dari Kulit Buah Duwet (*Syzygium cumini*). *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* XVI No. 2 Th 2005.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Sax, D., dan Lewis, R. 1998. *Dictionary Chemistry*. Canada: Galler International.
- Shihab, M.Q. 2002. Tafsir Al Mishbah: pesan, kesan dan keserasian Al Quran. Jakarta: Lentera Hati.
- Sinulingga, S. E. 2011. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Steroid atau Triterpenoid dari Akar Tanaman Ekor Naga (*Rhaphidophorapinnata* Schott). *Skripsi*. Sumatra Utara: Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara.
- Socrates, G. 1994. *Infrared Characteristic Grup Frequencies Tables and Charts*. Newyork: John Wiley and Sons.
- Sofiandari, A. 2015. Ekstraksi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawaan Oryzanol Dalam Bekatul. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

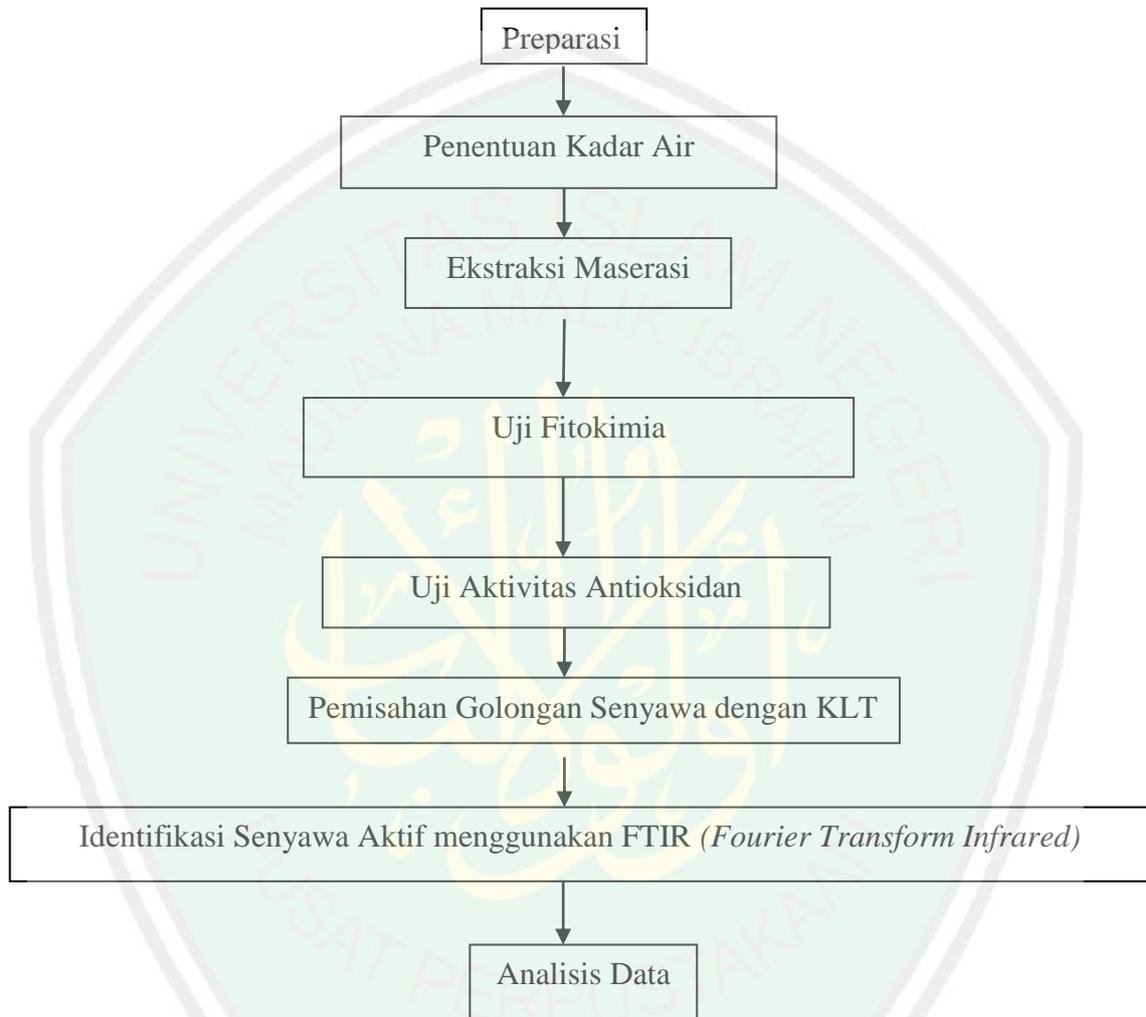
- Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G. dan Berghofer, E. 2011. Physicochemical and antioxidative propertise of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chemistry* 124: 132-140.
- Soetamaji, D.W. 1998. Peran Stes Oksidatif dalam Patogenesis Argiopat Mikro dan Makro. *DM Medica*. Vol.(24) : 318-325.
- Sudarmadji, S., Haryadi, dan Suhardi.2003. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty Press.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sulandi, A. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kloroform Buah Lakum (*Cayratia trifolia*) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil). *Naskah Publikasi*. Pontianak: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. 11 Desember.
- Susanti, A.D., Ardiana, D. Gumelar, G dan Bening, Y. 2012. Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul Dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza Sativa Glatinosa*) Simposium Nasional Rapi Xi Ft Ums : 1412-9612.
- Suseno, J.E., dan Firdausi, K.S. 2008. *Rancang Bangun Spektroskopi FTIR (Fourier Transform Infrared)* untuk Penentuan Kualitas Susu Sapi. *Berkala Fisika*. Vol.11(1): 23-28.
- Utami, C. 2009. Studi In Vivo Produk Sereal Dari Tepung Bekatul Dan Tepung Ubi Jalar Sebagai Pangan. *Jurnal Teknologi Industri Dan Hasil Pertanian*. Vol. 14, No 2.
- Widarta I W. R, Nocianitri K. A. Sari L. P. I. P. 2013. Ekstraksi Komponen Bioaktif Bekatul Beras Lokal Dengan Beberapa Jenis Pelarut. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. Vol. 2 No 2.
- Winarno, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- 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. 2011. Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa, L.*). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Xu, H. 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-methylpropionamide)

dihydrochloride. *Journal Agricultural Food Chemistry*.Vol.49: 2077-2081.



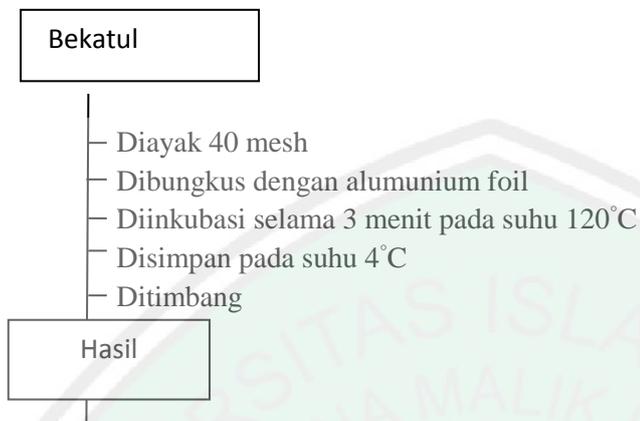
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

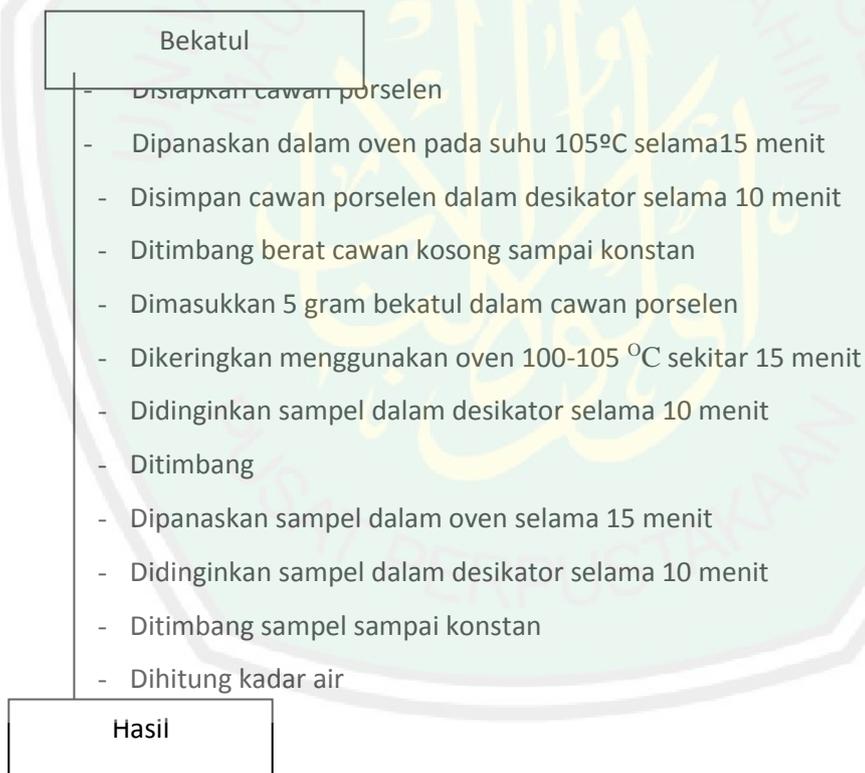


Lampiran 2. Diagram Penelitian

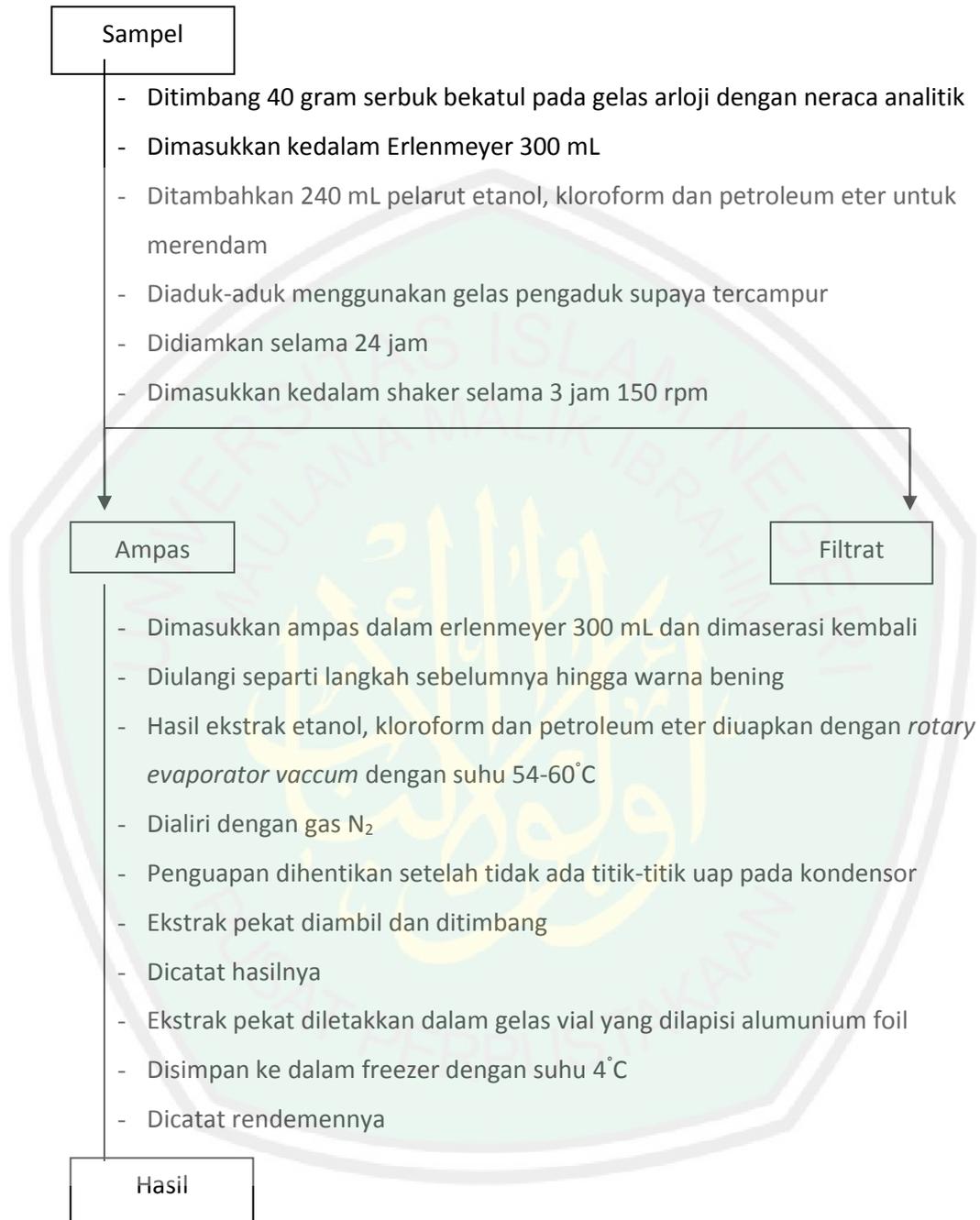
2.1 Preparasi Sampel



2.2 Penentuan Kadar Air



2.3 Ekstraksi Maserasi



2.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

- Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel
 - a. Absorbansi Kontrol

DPPH 0,2 mM

- Diambil sebanyak 1 mL
- Dimasukkan dalam tabung reaksi
- Ditambahkan metanol 80% sebanyak 3 mL
- Diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit
- Dipindahkan ke dalam kuvet
- Diukur absorbansinya pada λ 517 nm

Hasil

- b. Absorbansi Sampel

Ekstrak

- Dilarutkan pada metanol 80% dengan konsentrasi 10, 50, 100, 150, 200, 400 dan 800 ppm
- Diambil masing-masing ekstrak sebanyak 4,5 mL
- Ditambahkan 0,2 mM DPPH sebanyak 1,5 mL
- Diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit
- Dimasukkan kedalam kuvet dan diukur absorbansi pada λ 517 nm

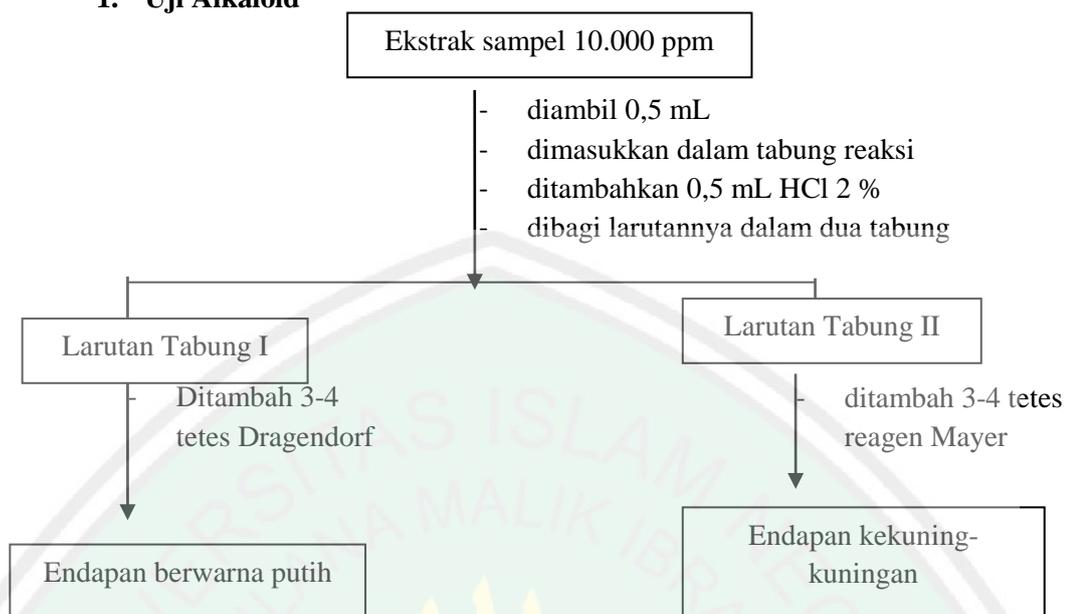
Hasil

*Pembanding asam askorbat (Vitamin C) diperlakukan seperti sampel tetapi sampel diganti dengan larutan asam askorbat (vitamin C)

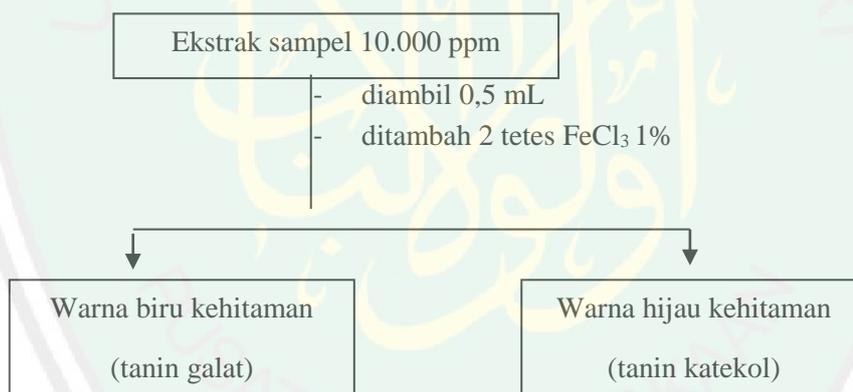
2.5 Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol, kloroform dan petroleum eter dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan steroid.

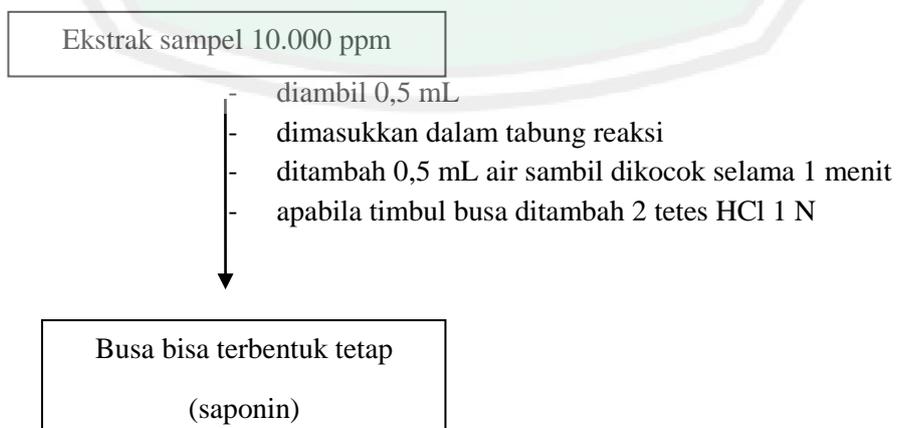
1. Uji Alkaloid



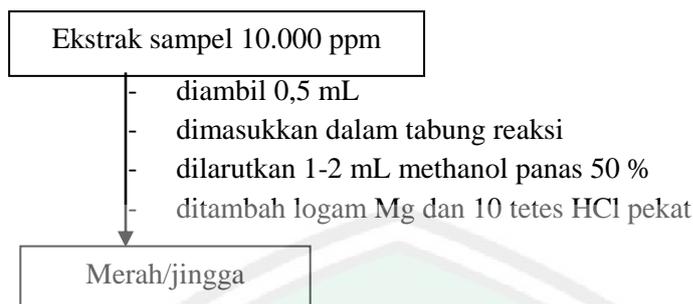
2. Uji Tanin



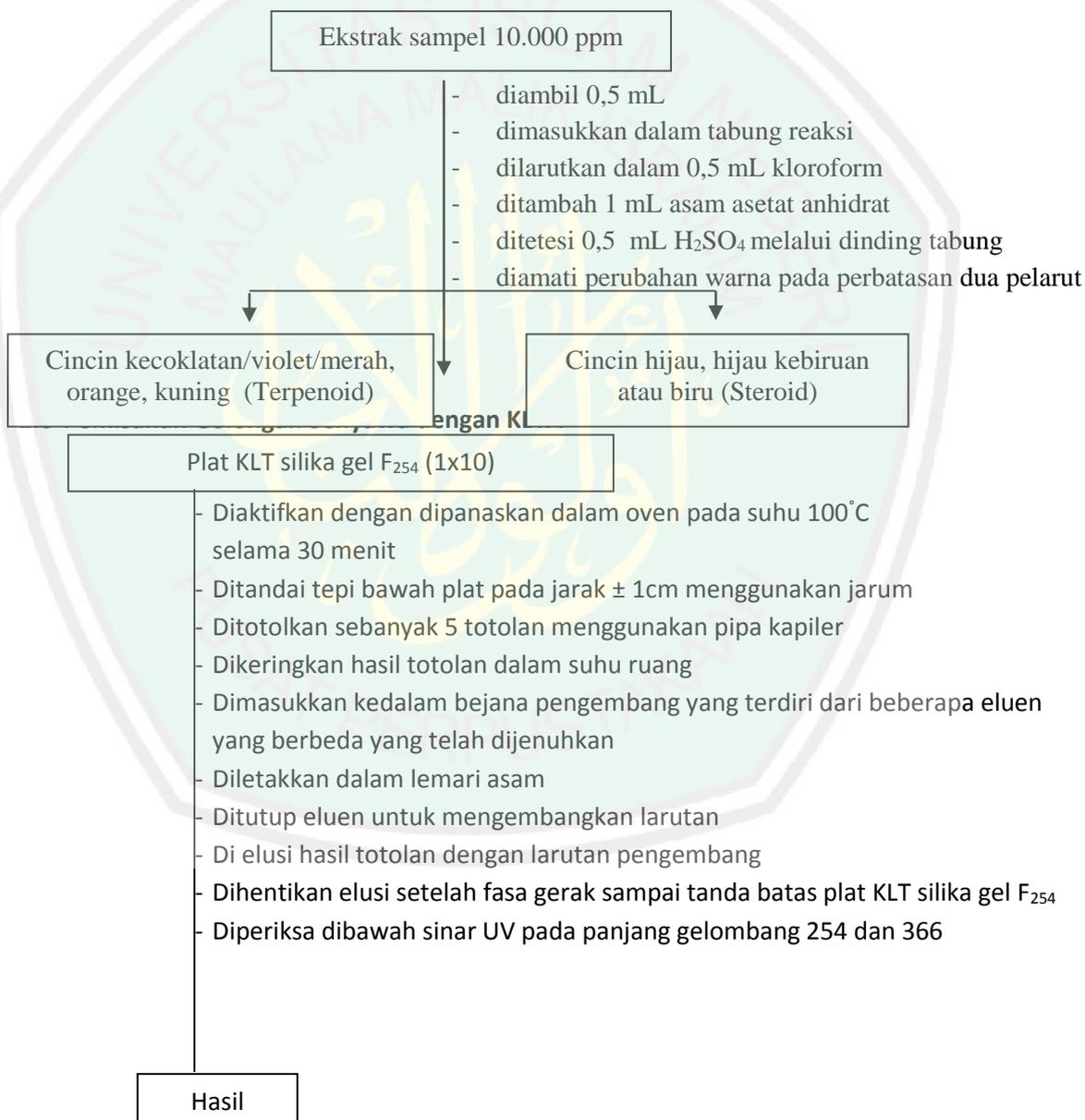
3. Uji Saponin



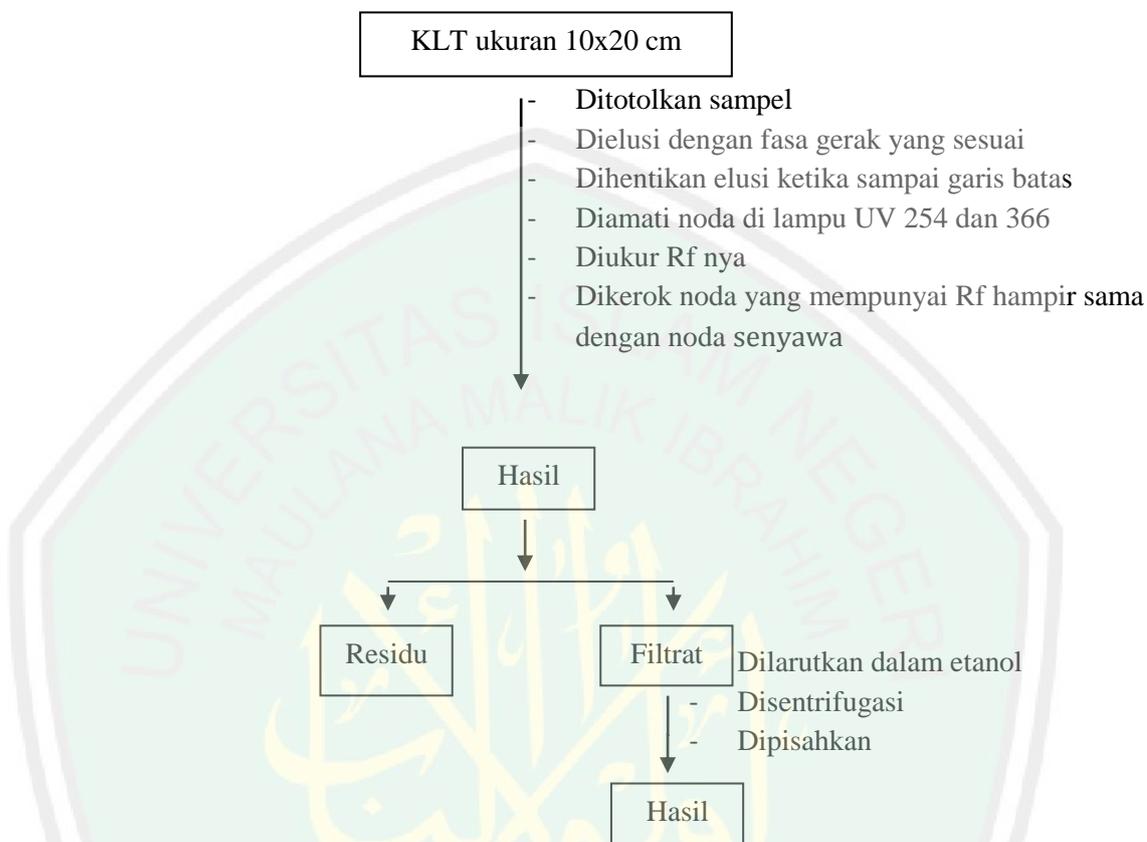
4. Uji Flavonoid



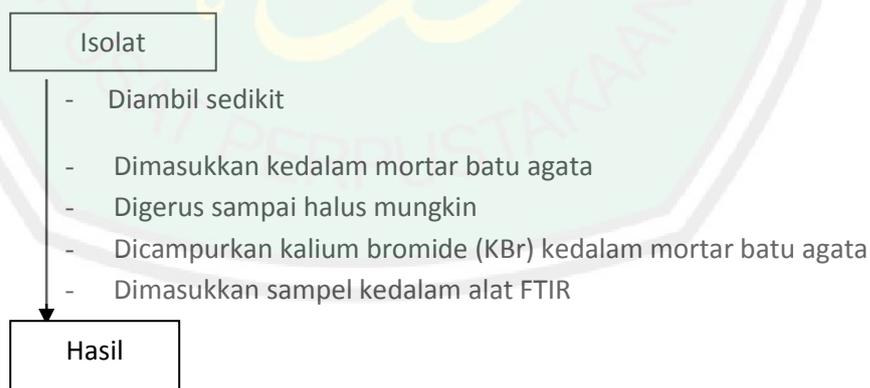
5. Uji Terpenoid dan Steroid



2.7 Pemisahandengan KLTP



2.8 Identifikasi Senyawa dengan Menggunakan FTIR



Lampiran 3. Perhitungan Uji Kadar Air

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

Keterangan: a = berat cawan kosong
b = berat cawan + sampel sebelum di oven
c = berat cawan + sampel

Data pengukuran kadar air sampel bekatul kering

1. Pengukuran berat cawan kosong sampai konstan

Ulangan	Berat cawan kosong		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Ulangan 1	65,055	51,746	57,705
Ulangan 2	65,052	51,741	57,702
Ulangan 3	65,053	51,741	57,704
Ulangan 4	65,053	51,740	57,702

2. Pengukuran berat cawan + sampel bekatul

Ulangan	Berat cawan kosong (gr) + bekatul		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Sebelum dioven	70,053	56,74	62,702
Ulangan 1	70,045	56,744	62,700
Ulangan 2	69,669	56,373	62,323
Ulangan 3	69,651	56,355	62,298
Ulangan 4	69,649	56,346	62,304
Ulangan 5	69,631	56,337	62,287
Ulangan 6	69,639	56,341	62,295
Ulangan 7	69,655	56,334	62,301
Ulangan 8	69,637	56,346	62,291
Ulangan 9	69,633	56,333	62,291
Ulangan 10	69,631	56,333	-

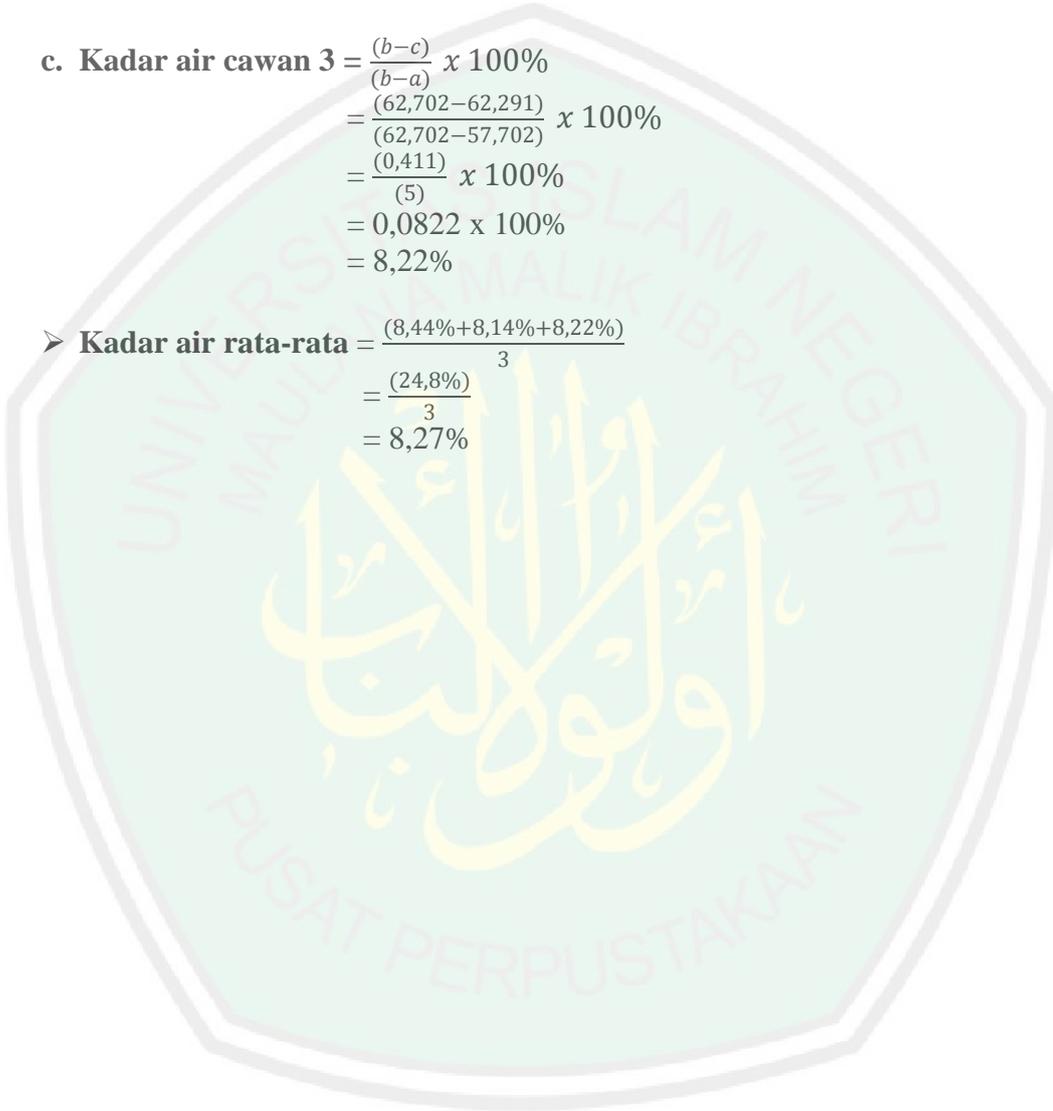
a. $\text{Kadar air cawan 1} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(70,053 - 69,631)}{(70,053 - 65,053)} \times 100\% \\
 &= \frac{0,422}{5} \times 100\% \\
 &= 0,8844 \times 100\% \\
 &= 8,44\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{b. Kadar air cawan 2} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(56,74-56,333)}{(56,74-51,740)} \times 100\% \\
 &= \frac{(0,407)}{(5)} \times 100\% \\
 &= 0,0814 \times 100\% \\
 &= 8,14\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{c. Kadar air cawan 3} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \\
 &= \frac{(62,702-62,291)}{(62,702-57,702)} \times 100\% \\
 &= \frac{(0,411)}{(5)} \times 100\% \\
 &= 0,0822 \times 100\% \\
 &= 8,22\%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{➤ Kadar air rata-rata} &= \frac{(8,44\%+8,14\%+8,22\%)}{3} \\
 &= \frac{(24,8\%)}{3} \\
 &= 8,27\%
 \end{aligned}$$



Lampiran 4. Perhitungan Rendemen

Ekstrak Etanol Bekatul

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 3,5565 \text{ gr}$$

$$\text{Berat sampel} = 40,001 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{3,5565 \text{ gr}}{40,001 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 8,8910 \% \end{aligned}$$

Ekstrak Kloroform Bekatul

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 1,8803 \text{ gr}$$

$$\text{Berat sampel} = 40,002 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{1,8803 \text{ gr}}{40,002 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 4,7005 \% \end{aligned}$$

Ekstrak Petroleum eter Bekatul

$$\text{Berat ekstrak pekat} = 0,2732 \text{ gr}$$

$$\text{Berat sampel} = 40,002 \text{ g}$$

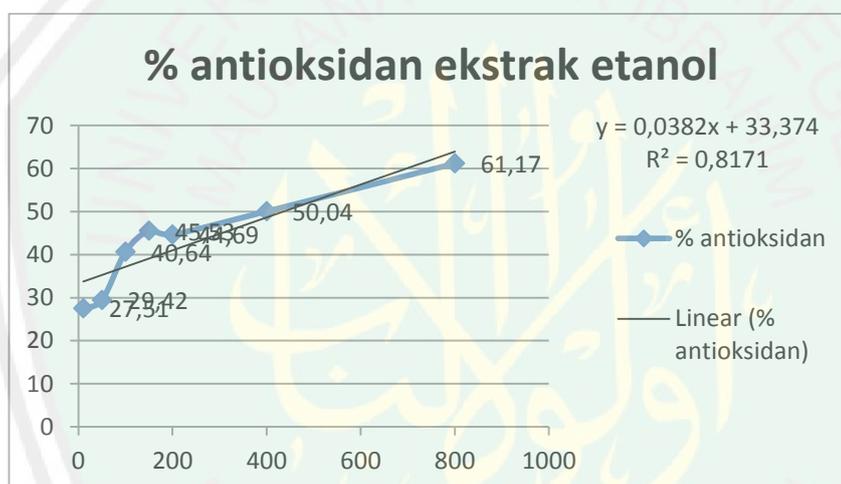
$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{0,2732 \text{ gr}}{40,002 \text{ gr}} \times 100 \% \\ &= 0,6829 \% \end{aligned}$$

Lampiran 5. Pengujian Antioksidan

5.1 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

➤ Ekstrak Etanol

Sampel (ppm)	Absorbansi					% Antioksidan
	Kontrol	1	2	3	Rata-rata	
10	0,3508	0,2545	0,2543	0,2540	0,2543	27,51
50	0,3494	0,2465	0,2466	0,2467	0,2466	29,42
100	0,3428	0,2038	0,2034	0,2035	0,2035	40,64
150	0,3398	0,1851	0,1852	0,1850	0,1851	45,53
200	0,3354	0,1856	0,1855	0,1855	0,1855	44,69
400	0,3443	0,1720	0,1721	0,1720	0,1720	50,04
800	0,3371	0,1311	0,1307	0,1309	0,1309	61,17



Ekstrak etanol

$$Y = 0,038x + 33,37$$

$$R^2 = 0,817$$

$$50 = 0,038x + 33,37$$

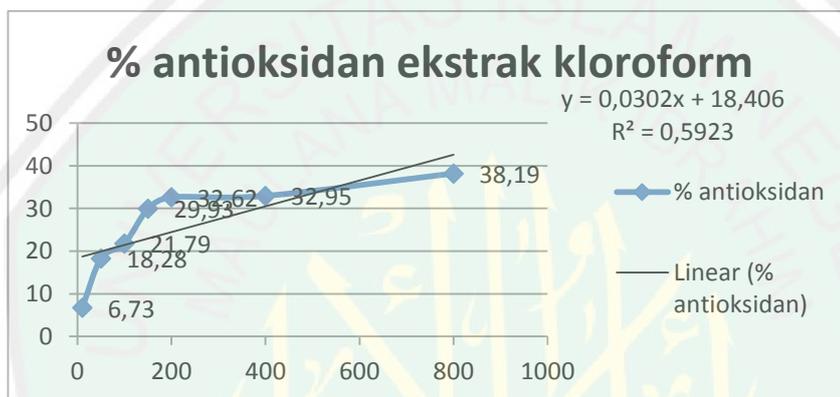
$$50 - 33,37 = 0,038x$$

$$\frac{16,63}{0,038} = x$$

$$X = 437,63$$

➤ **Ekstrak Kloroform**

Sampel (ppm)	Absorbansi					% Antioksidan
	Kontrol	1	2	3	Rata-rata	
10	0,3061	0,2853	0,2855	0,2856	0,2855	6,73
50	0,3015	0,2468	0,2461	0,2463	0,2464	18,28
100	0,2901	0,2269	0,2268	0,2270	0,2269	21,79
150	0,2993	0,1979	0,1976	0,1974	0,1977	29,93
200	0,2986	0,2013	0,2012	0,2011	0,2012	32,62
400	0,2962	0,1985	0,1986	0,1985	0,1986	32,95
800	0,2914	0,1798	0,1804	0,1801	0,1801	38,19



Ekstrak kloroform

$$Y = 0,030x + 18,40$$

$$R^2 = 0,592$$

$$50 = 0,030x + 18,40$$

$$50 - 18,40 = 0,030x$$

$$\frac{31,6}{0,030} = x$$

$$X = 1053,33$$

➤ **Ekstrak Petroleum eter**

Sampel (ppm)	Absorbansi					% Antioksidan
	Kontrol	1	2	3	Rata-rata	
10	0,1315	0,1036	0,1033	0,1034	0,1035	21,29
50	0,1288	0,1179	0,1169	0,1171	0,1173	8,929
100	0,1278	0,1202	0,1202	0,1201	0,1202	5,947
150	0,1276	0,1132	0,1133	0,1131	0,1132	11,29
200	0,1273	0,1211	0,1210	0,1210	0,1210	4,949
400	0,1264	0,1113	0,1114	0,1113	0,1113	11,95
800	0,1279	0,1081	0,1080	0,1080	0,1080	15,56

**Ekstrak petroleum eter**

$$Y = 0,003x + 10,53$$

$$R^2 = 0,030$$

$$50 = 0,003x + 10,53$$

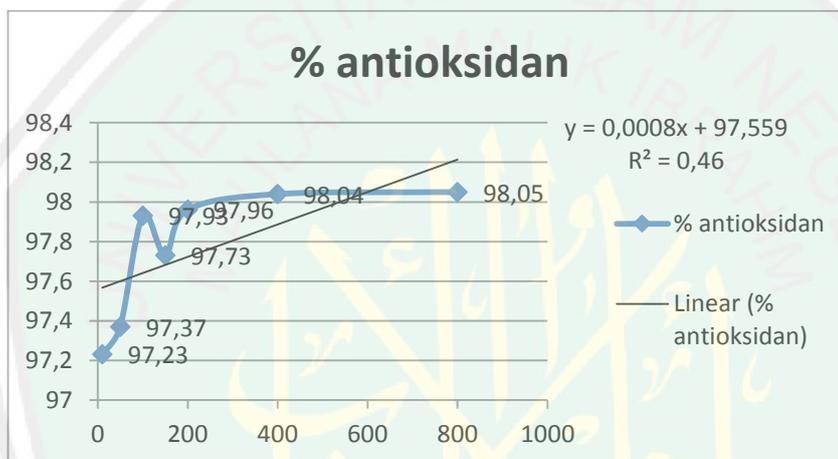
$$50 - 10,53 = 0,003x$$

$$\frac{39,47}{0,003} = x$$

$$X = 13156,67$$

➤ **Vitamin C**

Sampel (ppm)	Absorbansi					% Antioksidan
	Kontrol	1	2	3	Rata-rata	
10	0,2127	0,0060	0,0059	0,0059	0,0059	97,23
50	0,2128	0,0056	0,0055	0,0056	0,0056	97,37
100	0,2122	0,0043	0,0044	0,0046	0,0044	97,93
150	0,2114	0,0047	0,0048	0,0049	0,0048	97,73
200	0,2105	0,0043	0,0043	0,0043	0,0043	97,96
400	0,2094	0,0042	0,0041	0,0041	0,0041	98,04
800	0,2100	0,0041	0,0042	0,0041	0,0041	98,05



Vitamin C

$$Y = 0,000x + 97,55$$

$$R^2 = 0,46$$

$$50 = 0,000x + 97,55$$

$$50 - 97,55 = 0,000x$$

$$\frac{-47,55}{0,000} = x$$

$$X = -\infty$$

Lampiran 6. Perhitungan Nilai Rf (Retardation Factor) Hasil KLTA Ekstrak Bekatul

$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh noda}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

1. Hasil Nilai Rf KLTA Ekstrak Bekatul

➤ Senyawa Steroid dan Triterpenoid

a. Eluen 1 : N-heksan : Etil (8:2)

Ekstrak Etanol

$$\text{Rf noda 1} = \frac{1,4}{8} = 0,175 \text{ cm}$$

$$\text{Rf noda 2} = \frac{3}{8} = 0,375 \text{ cm}$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{4,1}{8} = 0,5125 \text{ cm}$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{4,8}{8} = 0,6 \text{ cm}$$

$$\text{Rf noda 1} = \frac{1,3}{8} = 0,1625 \text{ cm}$$

Ekstrak Kloroform

$$\text{Rf noda 2} = \frac{2,8}{8} = 0,35 \text{ cm}$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{3,8}{8} = 0,475 \text{ cm}$$

$$\text{Rf noda 1} = \frac{1,5}{8} = 0,1875 \text{ cm}$$

Ekstrak Petroleum eter

$$\text{Rf noda 2} = \frac{3}{8} = 0,375 \text{ cm}$$

$$\text{Rf noda 3} = \frac{3,3}{8} = 0,4125 \text{ cm}$$

$$\text{Rf noda 4} = \frac{4,1}{8} = 0,5125 \text{ cm}$$

$$\text{Rf noda 5} = \frac{4,2}{8} = 0,525 \text{ cm}$$

b. Eluen 2 : n-heksan : etil asetat (2:8)

Ekstrak Etanol

**Ekstrak
Kloroform**

**Ekstrak
Petroleum eter** $Rf \text{ noda 1} = \frac{7,5}{8} = 0,9375 \text{ cm}$

$$Rf \text{ noda 1} = \frac{6,9}{8} = 0,8625 \text{ cm}$$

c. Eluen 3 : n-heksan : etil asetat (7:3)

Ekstrak Etanol $Rf \text{ noda 1} = \frac{0,6}{8} = 0,9125 \text{ cm}$

$$Rf \text{ noda 2} = \frac{1,9}{8} = 0,2375 \text{ cm}$$

$$Rf \text{ noda 3} = \frac{2,9}{8} = 0,3625 \text{ cm}$$

**Ekstrak
Kloroform** $Rf \text{ noda 1} = \frac{0,6}{8} = 0,075 \text{ cm}$

$$Rf \text{ noda 2} = \frac{2,8}{8} = 0,35 \text{ cm}$$

**Ekstrak
Petroleum eter** $Rf \text{ noda 1} = \frac{0,5}{8} = 0,0625 \text{ cm}$

$$Rf \text{ noda 2} = \frac{2,7}{8} = 0,3375 \text{ cm}$$

d. Eluen 4: sikloheksana : etil asetat (1:1)

Ekstrak Etanol $Rf \text{ noda 1} = \frac{7}{8} = 0,875 \text{ cm}$

$$Rf \text{ noda 2} = \frac{7,4}{8} = 0,925 \text{ cm}$$

$$Rf \text{ noda 3} = \frac{7,9}{8} = 0,9875 \text{ cm}$$

**Ekstrak
Kloroform** $Rf \text{ noda 1} = \frac{6,3}{8} = 0,7875 \text{ cm}$

$$Rf \text{ noda 2} = \frac{7,1}{8} = 0,8875 \text{ cm}$$

$$Rf \text{ noda 3} = \frac{7,7}{8} = 0,9625 \text{ cm}$$

Ekstrak $Rf \text{ noda 1} = \frac{6,6}{8} = 0,825 \text{ cm}$

Petroleum eter $Rf \text{ noda 2} = \frac{7,2}{8} = 0,9 \text{ cm}$

$$Rf \text{ noda 3} = \frac{7,7}{8} = 0,8625 \text{ cm}$$

e. Eluen 5 : sikoheksana : etil asetat (6:4)

Ekstrak Etanol

Rf noda 1 = $\frac{6,6}{8} = 0,825$ cm

Rf noda 2 = $\frac{7,1}{8} = 0,8875$ cm

Rf noda 3 = $\frac{7,7}{8} = 0,9625$ cm

Ekstrak Kloroform

Rf noda 1 = $\frac{7}{8} = 0,875$ cm

Rf noda 2 = $\frac{7,8}{8} = 0,975$ cm

Ekstrak Petroleum
eter

Rf noda 1 = $\frac{6}{8} = 0,75$ cm

Rf noda 2 = $\frac{6,7}{8} = 0,8375$ cm

f. Eluen 6 : kloroform : metanol (3:7)

Ekstrak etanol Rf noda 1 = $\frac{6,1}{8} = 0,7625$ cmEkstrak Kloroform Rf noda 1 = $\frac{7,1}{8} = 0,8875$ cmEkstrak Petroleum eter Rf noda 1 = $\frac{5,9}{8} = 0,7375$ cm

g. Eluen 7 : kloroform : metanol : etil asetat (2:6:1)

Ekstrak Etanol Rf noda 1 = $\frac{7,3}{8} = 0,9125$ cmEkstrak Kloroform Rf noda 1 = $\frac{7,2}{8} = 0,9$ cmEkstrak Petroleum eter Rf noda 1 = $\frac{6,8}{8} = 0,85$ cm

h. Eluen 8 : etanol : air (7:3)

Ekstrak etanol Rf noda 1 = $\frac{0,6}{8} = 0,075$ cm

Rf noda 2 = $\frac{1,9}{8} = 0,2375$ cm

Rf noda 3 = $\frac{2,9}{8} = 0,3625$ cm

Ekstrak Kloroform

Rf noda 1 = $\frac{0,6}{8} = 0,075$ cm

Rf noda 2 = $\frac{2,8}{8} = 0,35$ cm

Ekstrak Petroleum
eter

Rf noda 1 = $\frac{0,5}{8} = 0,0625$ cm

Rf noda 2 = $\frac{2,7}{8} = 0,3375$ cm

Lampiran 7. Perhitungan pembuatan reagen dan larutan

1. Pembuatan Reagen Dragendorf

Larutan I. 0,6 gr $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 2 mL HCl pekat dan 10 mL H_2O

Larutan II. 6 gr KI dalam 10 mL H_2O .

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan ditimbang 0,6 gr $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, kemudian dimasukkan dalam *beaker glass* 100 mL, ditambahkan 2 mL HCl pekat. Setelah itu, dipindahkan ke labu ukur 10 mL dan ditambahkan *aquades* sampai tanda batas 10 mL. larutan II dibuat dengan ditimbang 6 gr KI dan diaduk. Setelah itu, ditambahkan dipindahkan ke labu ukur 10 mL dan ditambahkan *aquades* sampai tanda batas 10 mL. kedua larutan tersebut dicampur dengan 7 mL HCl pekat dan 15 mL $\text{Bi}(\text{NH}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Wagner, 2011).

2. Pembuatan Reagen Mayer

Larutan I. HgCl_2 1,358 gr dalam *aquades* 60 mL

Larutan II. KI 5 gr dalam *aquades* 10 mL

Cara pembuatannya adalah larutan I dibuat dengan ditimbang HgCl_2 1,358 gr, dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL, ditambahkan dengan *aquades* 60 mL dengan pipet ukur 100 mL. larutan II dibuat dengan ditimbang KI 5 gr, dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL, ditambahkan dengan *aquades* 10 mL dengan pipet *volume*. Larutan I dituangkan ke dalam larutan II, kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL, diencerkan dengan *aquades* sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL (Manan, 2006).

3. Pembuatan Reagen Liebermann-Burchard

Asam sulfat pekat 5 mL

Anhidrida asetat 5 mL

Metanol 5 mL

Cara pembuatannya adalah diambil asam sulfat pekat 5 mL dengan pipet *volume* dan diambil anhidrida asetat 5 mL dengan pipet *volume*, dituangkan dalam *beaker glass* 100 mL. diambil methanol 5 mL dengan pipet *volume* dan dimasukkan dalam *beaker glass* 100 mL. kemudian, masing-masing larutan dicampur dan didinginkan dalam lemari asam. Penggunaan reagen ini digunakan langsung setelah pembuatan reagen (Wagner, 2011).

4. Pembuatan FeCl₃ 1 %

$$\% \text{ konsentrasi} = \frac{g \text{ terlarut}}{g \text{ terlarut} + g \text{ pelarut}} \times 100 \%$$

$$G \text{ terlarut} + g \text{ pelarut} = \frac{g \text{ terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100 \%$$

$$1 \text{ g} + g \text{ pelarut} = \frac{1 \text{ g}}{1 \%} \times 100 \%$$

$$g \text{ pelarut} = 100 \text{ g} - 1 \text{ g} = 99 \text{ g}$$

$$\text{volume pelarut} = \frac{g \text{ pelarut}}{BJ \text{ pelarut}} = \frac{99 \text{ g}}{1 \text{ g/mL}} = 99 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang serbuk FeCl₃.6H₂O sebanyak 1 gr, dimasukkan ke dalam beaker glass 100 mL, kemudian diambil 99 mL *aquades* dengan pipet ukur 100 mL. 1 g serbuk FeCl₃.6H₂O dilarutkan dengan 99 mL *aquades* tersebut.

5. Pembuatan Metanol 50 %

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,8 \% \times V_1 = 50 \% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8 % sebanyak 5 mL dengan pipet *volume*, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang

berisi ± 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan *aquades* sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

6. Pembuatan HCl 1 N

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{Konsentrasi} = 37 \%$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

$$\text{normalitas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times \frac{37 \% \times \text{BJ HCl}}{\text{BM HCl pekat}}$$

$$= 1 \times \frac{37 \% \times 1190 \text{ g/L}}{36,42 \text{ g/mol}}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

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

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,27 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37 % sebanyak 8,3 mL dengan pipet ukur 10 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang telah berisi 15 mL *aquades*. Selanjutnya, ditambahkan *aquades* sampai tanda batas labu ukur 100 mL dan dikocok hingga homogen.

Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian

8.1 Preparasi



Gambar 1. Serbuk bekatul



Gambar 2. Pemanasan



Gambar 3. pendinginan dalam desikator



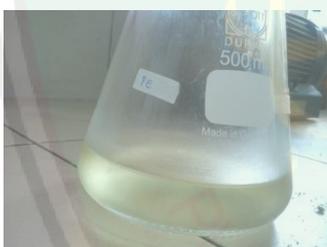
Gambar 4. Maserasi



Gambar 5. Rotary sampel



Gambar 6. Ekstrak etanol dan kloroform



Gambar 7. Ekstrak petroleum eter



Gambar 8. Rotary evaporator sampel

8.2 Fitokimia dengan reagen

9.2.1 Uji Senyawa Saponin



Ekstrak Kloroform (-)



Ekstrak Petroleum Eter(-)



Ekstrak Etanol (-)

Ket: apabila busa terbentuk tetap stabil selama ± 7 menit.

8.2.2 Uji Senyawa Steroid dan Triterpenoid



Ekstrak Kloroform (++)



Ekstrak Petroleum eter (++)



Ekstrak Etanol (++)

Ket: steroid memberikan warna hijau dan Triterpenoid memberikan warna coklat

8.2.3 Uji Senyawa Tanin



Ekstrak Kloroform (-)



Ekstrak Petroleum eter (-)

Ekstrak Etanol mayer (-)

Ket: pereaksi Mayer memberikan endapan warna putih, pereaksi Dragendroff memberikan endapan berwarna kuning-merah

8.2.5 Uji Senyawa Flavonoid



Ekstrak Kloroform (-)



Ekstrak Petroleum Eter (-)



Ekstrak Etanol (-)

Ket: terbentuknya warna merah atau magenta dalam 3 menit

8.3 Aktivitas Antioksidan Estrak Bekatul



Gambar 1. Variasi konsentrasi



Gambar 2. Ekstrak etanol



Gambar 3. Ekstrak kloroform



Gambar 4. Ekstrak petroleum eter



Gambar 5. Asam askorbat

8.4 Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)



Gambar 1. Eluen n-heksan:etil asetat (8:2)



Gambar 2. Eluen n-heksan:etil asetat (2:8)



Gambar 3. Eluen n-heksan:etil asetat (7:3)



Gambar 4. Eluen sikloheksana:etil asetat (1:1)



Gambar 5. Eluen sikloheksana:etil asetat (6:4)



Gambar 6. Eluen kloroform:metanol 1 (3:7)



Gambar 7. Eluen kloroform:metanol :etil asetat (2:6:1)



Gambar 8. Eluen etanol:air (7:3)

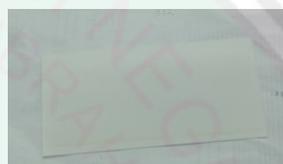
8.5 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)



Gambar 1. Elusi pelarut n-heksan:etil asetat (8:2)



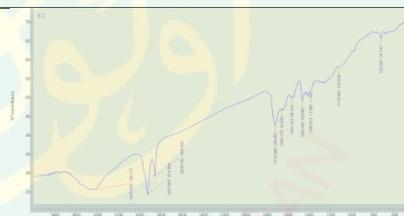
Gambar 2. Elusi sampel



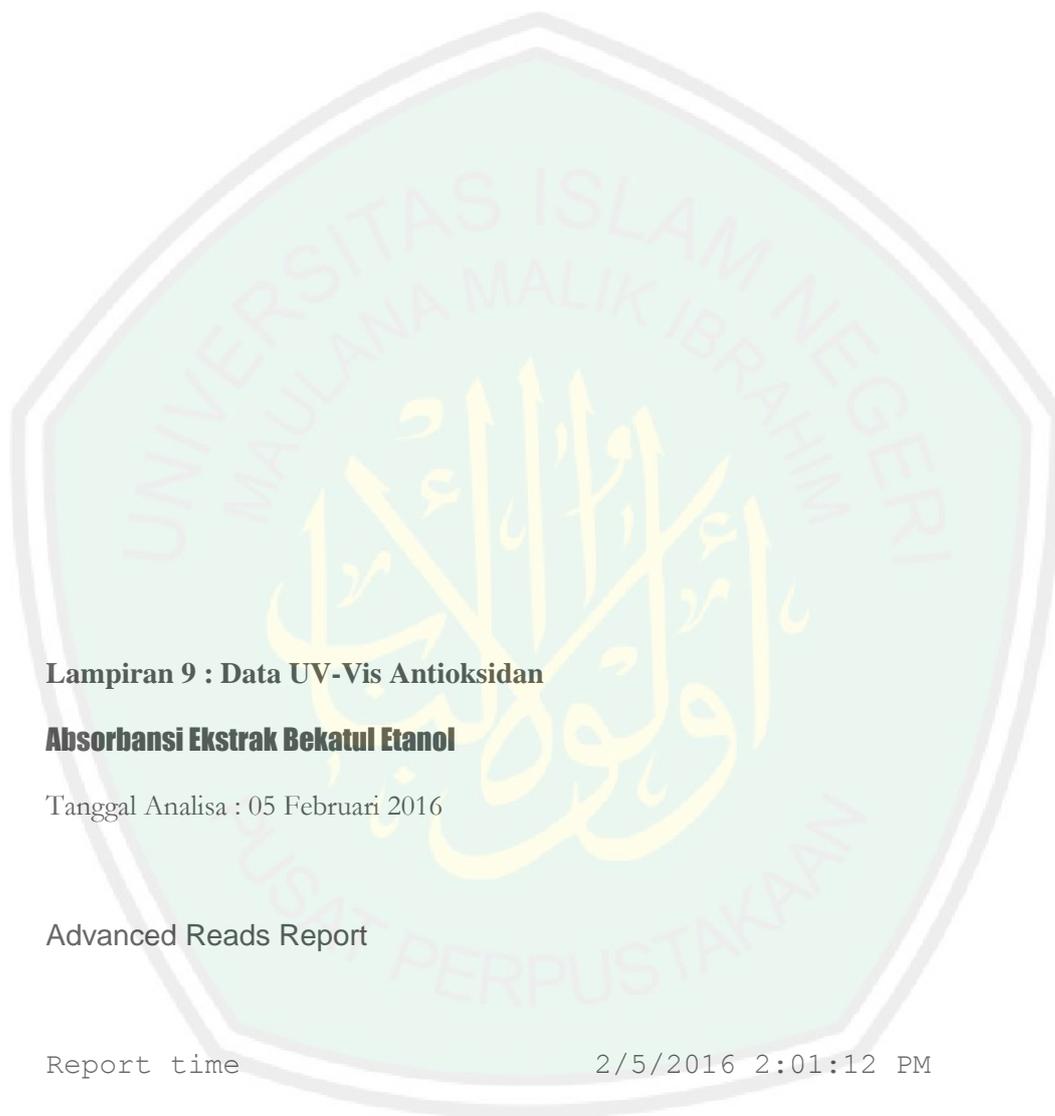
Gambar 3. Pengeringan plat



Gambar 4. Hasil KLTP eluen n-heksan:etil asetat (8:2)



Gambar 5. Hasil FTIR senyawa steroid



Lampiran 9 : Data UV-Vis Antioksidan

Absorbansi Ekstrak Bekatul Etanol

Tanggal Analisa : 05 Februari 2016

Advanced Reads Report

Report time 2/5/2016 2:01:12 PM

Method

Batch name D:\Siti Maria Ulfa\Absorbansi
Ekstrak Bekatul

Etanol (05-02-2016).BAB

Application

Advanced Reads 3.00 (339)

Operator

Susi

Instrument Settings

Instrument Cary 50
Instrument version no. 3.00
Wavelength (nm) 517.0
Ordinate Mode Abs
Ave Time (sec) 0.1000
Replicates 3
Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1005)	517.0

Analysis

Collection time 2/5/2016 2:01:12 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.3511
					0.3510
		0.3508	0.0005	0.14	0.3502
10 ppm					0.2545
					0.2543

	0.2543	0.0003	0.12	0.2540
Kontrol				0.3493
				0.3492
	0.3494	0.0002	0.05	0.3496
50 ppm				0.2465
				0.2466
	0.2466	0.0001	0.04	0.2467
Kontrol				0.3428
				0.3428
	0.3428	0.0001	0.02	0.3429
100 ppm				0.2038
				0.2034
	0.2035	0.0002	0.11	0.2035
Kontrol				0.3399
				0.3400
	0.3398	0.0002	0.06	0.3396
150 ppm				0.1851
				0.1852
	0.1851	0.0001	0.06	0.1850
Kontrol				0.3355
				0.3353

	0.3354	0.0001	0.03	0.3354
200 ppm				0.1856
				0.1855
	0.1855	0.0000	0.02	0.1855
Kontrol				0.3448
				0.3443
	0.3443	0.0005	0.16	0.3438
400 ppm				0.1720
				0.1721
	0.1720	0.0001	0.05	0.1720
Kontrol				0.3371
				0.3371
	0.3371	0.0001	0.02	0.3372
800 ppm				0.1311
				0.1307
	0.1309	0.0002	0.16	0.1309

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Absorbansi Ekstrak bekatul Kloroform

Tanggal Analisa : 05 Februari 2016

Advanced Reads Report

Report time 2/5/2016 2:11:04 PM

Method

Batch name D:\Siti Maria Ulfa\Absorbansi
Ekstrak Bekatul Kloroform (05-02-2016).BAB

Application Advanced Reads 3.00 (339)

Operator Susi

Instrument Settings

Instrument Cary 50

Instrument version no. 3.00

Wavelength (nm) 517.0

Ordinate Mode Abs

Ave Time (sec) 0.1000

Replicates 3

Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0990)	517.0

Analysis

Collection time

2/5/2016 2:11:04 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.3063
					0.3061
		0.3061	0.0002	0.07	0.3059
10 ppm					0.2853
					0.2855
		0.2855	0.0001	0.05	0.2856
Kontrol					0.2988
					0.3029
		0.3015	0.0023	0.76	0.3028
50 ppm					0.2468
					0.2461
		0.2464	0.0004	0.15	0.2463
Kontrol					0.2903
					0.2899
		0.2901	0.0002	0.07	0.2901
100 ppm					0.2269
					0.2268
		0.2269	0.0001	0.04	0.2270

Kontrol				0.2995
				0.2993
	0.2993	0.0002	0.07	0.2991

150 ppm				0.1979
				0.1976
	0.1977	0.0002	0.13	0.1974

Kontrol				0.2984
				0.2986
	0.2986	0.0003	0.09	0.2989

200 ppm				0.2013
				0.2012
	0.2012	0.0001	0.05	0.2011

Kontrol				0.2962
				0.2961
	0.2962	0.0001	0.03	0.2963

400 ppm				0.1985
				0.1986
	0.1986	0.0001	0.03	0.1985

Kontrol				0.2930
				0.2933
	0.2914	0.0031	1.06	0.2878

800 ppm				0.1798
				0.1804
	0.1801	0.0003	0.17	0.1801

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Absorbansi Ekstrak PE

Tanggal Analisa : 28 Januari 2016

Advanced Reads Report

Report time	1/28/2016 12:12:28 PM
Method	
Batch name	D:\Siti Maria Ulfa\Absorbansi
Ekstrak PE	(28-01-2016).BAB
Application	Advanced Reads 3.00 (339)
Operator	Rika

Instrument Settings

Instrument	Cary 50
Instrument version no.	3.00
Wavelength (nm)	517.0
Ordinate Mode	Abs
Ave Time (sec)	0.1000

Replicates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0966)	517.0

Analysis

Collection time 1/28/2016 12:12:28 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.1316
					0.1316
					0.1314
		0.1315	0.0001	0.10	
10 ppm					0.1036
					0.1033
					0.1034
		0.1035	0.0001	0.14	
Kontrol					0.1287
					0.1290
					0.1287
		0.1288	0.0002	0.15	

50 ppm				0.1179
				0.1169
	0.1173	0.0005	0.45	0.1171
Kontrol				0.1278
				0.1277
	0.1278	0.0001	0.05	0.1278
100 ppm				0.1202
				0.1202
	0.1202	0.0000	0.03	0.1201
Kontrol				0.1277
				0.1275
	0.1276	0.0001	0.08	0.1276
150 ppm				0.1132
				0.1133
	0.1132	0.0001	0.09	0.1131
Kontrol				0.1273
				0.1273
	0.1273	0.0001	0.04	0.1274
200 ppm				0.1211
				0.1210
	0.1210	0.0000	0.04	0.1210

Kontrol				0.1265
				0.1263
	0.1264	0.0001	0.11	0.1263

400 ppm				0.1113
				0.1114
	0.1113	0.0000	0.04	0.1113

Kontrol				0.1278
				0.1281
	0.1279	0.0002	0.13	0.1279

800 ppm				0.1081
				0.1080
	0.1080	0.0001	0.08	0.1080

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Absorbansi Asam Askorbat

Tanggal Analisa : 10 Februari 2016

Advanced Reads Report

Report time 2/10/2016 12:58:16 PM

Method

Batch name D:\Siti Maria Ulfa\Absorbansi
 Asam Askorbat
 (10-02-2016).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 517.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1038)	517.0

Analysis

Collection time 2/10/2016 12:58:16 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
--------	---	------	----	------	----------

Kontrol				0.2125
				0.2126
	0.2127	0.0002	0.10	0.2129
10 ppm				0.0060
				0.0059
	0.0059	0.0001	1.49	0.0059
Kontrol				0.2130
				0.2127
	0.2128	0.0002	0.08	0.2127
50 ppm				0.0056
				0.0055
	0.0056	0.0000	0.60	0.0056
Kontrol				0.2126
				0.2121
	0.2122	0.0003	0.14	0.2121
100 ppm				0.0043
				0.0044
	0.0044	0.0001	3.34	0.0046
Kontrol				0.2113
				0.2114
	0.2114	0.0001	0.05	0.2115

150 ppm				0.0047
				0.0048
	0.0048	0.0001	1.21	0.0049

Kontrol				0.2106
				0.2104
	0.2105	0.0001	0.05	0.2105

200 ppm				0.0043
				0.0043
	0.0043	0.0000	0.78	0.0043

Kontrol				0.2094
				0.2094
	0.2094	0.0001	0.04	0.2095

400 ppm				0.0042
				0.0041
	0.0041	0.0001	1.31	0.0041

Kontrol				0.2100
				0.2102
	0.2100	0.0001	0.07	0.2099

800 ppm				0.0041
				0.0042
	0.0041	0.0000	0.72	0.0041

Results Flags Legend

R = Repeat reading

