

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia termasuk negara ketiga penghasil beras di dunia setelah Cina dan India (Shahbandeh, 2020). Provinsi Sulawesi Selatan, termasuk salah satu penghasil beras dengan berbagai varietas. Menurut penelitian sebelumnya, padi dengan varietas berbeda memiliki kadar dan jenis senyawa bioaktif serta aktivitas biologis yang berbeda (Setyawati, E.P, *et al* 2018). Pada saat padi digiling menjadi beras, diperoleh hasil samping berupa bekatul dan sekam padi. Dalam 100 kg padi menghasilkan 5 - 10 kg bekatul (IRRI Rice, 2022).

Di Sulawesi Selatan penggunaan bekatul diperuntukkan untuk pakan ternak. Bekatul ini menjadi salah satu bahan utama untuk komposisi pakan ternak, khususnya ayam petelur. Penggunaan bekatul sebagai bahan untuk obat dan nutrisi belum banyak digunakan di masyarakat. Pada beberapa daerah lain, penggunaan bekatul untuk pengobatan tradisional sudah biasa digunakan, misalnya untuk konsumsi pengobatan alternatif dan sekaligus untuk preventif. Misalnya air seduhan bekatul digunakan untuk pencegahan hipertensi. Penggunaan bekatul sebagai pengobatan alternatif masih belum optimal. Bekatul ini jika dikembangkan untuk bahan baku obat herbal, maka



potensial, mengingat posisi Sulawesi Selatan yang  
kan daerah

penghasil bekatul yang cukup besar. Misalnya di Kabupaten Sidrap yang mampu menghasilkan sekitar 35.000 ton bekatul setiap tahunnya.

Bekatul diketahui kaya akan senyawa-senyawa bioaktif, antara lain:  $\gamma$ -oryzanol, tokotrienol, tokoferol dan asam-asam lemak tak jenuh yang banyak terkandung dalam hasil ekstraksi minyak dedak.  $\gamma$ -oryzanol adalah campuran ester dari asam ferulat dan fitosterol yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi (Garofalo *et al*, 2020). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Imam, dkk (2012), menunjukkan bahwa ekstrak bekatul dan  $\gamma$ -oryzanol memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar gula darah. Pemberian dosis per oral oryzanol 50 dan 100 mg/kg BB mampu mereduksi kadar glukosa darah pada tikus diabetik dalam dosis tunggal dan dosis ganda (Ghatak *et al*, 2012).

Bekatul merupakan sumber berbagai vitamin, senyawa fenolik, senyawa steroid, dan karbohidrat polimer (Friedman, 2013). Bekatul juga banyak mengandung senyawa fenol dan flavonoid, serta fitoaktif yang sangat berpotensi untuk pengobatan herbal.

Komponen bekatul telah dilaporkan menunjukkan aktivitas anti kanker melalui berbagai mekanisme yang melibatkan aktivitas anti apoptosis, aktivitas anti inflamasi, tindakan komprotektif dan lain sebagainya (Yu *et.al*.2019). Senyawa fitoaktif lain dari bekatul juga telah didokumentasikan untuk menunjukkan aktivitas farmasi lainnya seperti aktivitas antidiabetes,



nasi, antihipertensi, penurunan kolesterol, antioksidan, aktivitas obat dan lain-lain yang menjelaskan

pentingnya bekatul sebagai obat. Demikian pula ekstrak dedak terstandar yang mengandung  $\gamma$ -oryzanol 2% memiliki aktivitas antidiabetik (Ajuzuddin, 2010).  $\gamma$ -oryzanol dan fraksi etilasetat bekatul yang mengandung asam ferulat dilaporkan mampu menurunkan kolesterol plasma darah dan Low Density Lipoprotein (LDL), serta menurunkan level glukosa darah dan meningkatkan level insulin plasma darah.

Bekatul mengandung berbagai senyawa fenolik yang memiliki khasiat obat dan farmasi yang signifikan. Asam galat, asam caffeic, asam ferulat, asam vanilat, asam p-kumarat, asam p-hidroksibenzoat dan asam gentisat adalah beberapa senyawa fenolik signifikan yang ditemukan dalam bekatul (Pourali *et al.*, 2010). Senyawa-senyawa ini telah dianggap bertanggungjawab atas sifat farmasi yang berbeda seperti anti jamur, anti bakteri, anti inflamasi, dan anti kanker (Arun, *et.al.*,2020).

Mekanismenya diduga meningkatkan aktivitas enzim glucokinase dan produksi glikogen di darah (Jung *et al.*, 2007). Selain itu,  $\gamma$ -oryzanol dari Bekatul mampu memodulasi sekresi kelenjar endokrin, menghambat sekresi asam gastrik, memiliki aksi antioksidan, dan menghambat agregasi keping darah (M.Spaggiari,2021). Ekstraksi  $\gamma$ -oryzanol umumnya menggunakan pelarut non polar, seperti heksan, petroleum eter, yang bersifat toksik pada manusia dan lingkungan (Garofalo *et al.*, 2020), sehingga saat ini peneliti-peneliti memanfaatkan teknologi ekstraksi hijau



*Extraction Technology*), yaitu antara lain menggunakan pelarut air, alkohol dengan ekstraksi menggunakan bantuan *microwave*,

ultrasonikasi, *supercritical water*, *Enzyme-assisted aqueous extraction*.

Untuk itu dilakukan penelitian awal untuk mengetahui kandungan kimia  $\gamma$ -oryzanol yang terkandung dalam Bekatul terhadap tiga varietas padi yang bersumber dari tiga tempat/daerah kabupaten di Sulawesi Selatan. Ketiga varietas itu adalah varietas Inpari, Ciliwung dan Ciherang. Varietas Inpari diperoleh dari Kabupaten Sinjai, varietas Ciliwung diperoleh dari Kabupaten Barru, dan varietas Ciherang diperoleh dari Kabupaten Sengkang.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ternyata masing-masing varietas memiliki jumlah kadar  $\gamma$ -oryzanol yang berbeda-beda. Kadar  $\gamma$ -oryzanol varietas Ciliwung dalam bentuk ekstrak n-heksan adalah sebesar 244,3032 ppm, varietas Ciherang dalam bentuk ekstrak etanol adalah sebesar 29,7433 ppm dan varietas Inpari dalam bentuk ekstrak etanol adalah sebesar 84,5236 ppm. Selanjutnya pengujian bioaktivitas hanya dilakukan terhadap varietas Inpari dan varietas Ciherang. Adapun terhadap varietas Ciliwung tidak dilakukan pengujian bioaktivitas, karena jenis varietas ini sangat jarang ditemukan sebagai pilihan bibit bagi petani pada setiap musim tanam, sehingga ketersediaan bahan baku bekatul varietas Ciliwung sangat terbatas. Kandungan kadar  $\gamma$ -oryzanol varietas Ciliwung tertinggi jika dibanding dengan varietas Ciherang dan varietas Inpari. Hal ini disebabkan karena pelarut yang digunakan pada saat

straksi dedak varietas Ciliwung adalah pelarut non polar n-heksan.

ini bahwa kandungan kimia  $\gamma$ -oryzanol akan lebih banyak terserap



dalam pelarut non polar.

Pemilihan terhadap varietas Ciherang dan varietas Inpari untuk dilakukan uji bioktivitas diperuntukkan dalam pengembangan bahan baku herbal yang diharuskan menggunakan pelarut polar. Selain itu alasan memilih varietas Ciherang dan varietas Inpari untuk diteliti lebih jauh, karena konsumsi beras di daerah Sulawesi Selatan adalah terbanyak pada kedua varietas tersebut jika dibandingkan dengan konsumsi beras varietas Ciliwung.

Pengujian biokaktivitas kedua varietas ekstrak Bekatul ini menggunakan mencit untuk melihat efek penurunan gula darah. Hasil pengujian menunjukkan bahwa varietas Ciherang lebih efektif dalam menurunkan gula darah mencit. Atas dasar itulah pengembangan selanjutnya adalah melakukan penelitian terhadap varietas Ciherang. Untuk itu Varietas Ciherang diambil dari 3 daerah yang berbeda, yaitu dari Kabupaten Sengkang, Kabupaten Sidrap dan Kabupaten Pinrang. Penelitian dilakukan untuk melihat kadar  $\gamma$ -oryzanol yang terdapat dalam varietas Ciherang dari 3 daerah yang berbeda. Hasil pengukuran kadar  $\gamma$ -oryzanol dengan variasi waktu yang digunakan adalah 3; 5 dan 10 menit.

Untuk dapat dikonsumsi sebagai sediaan food supplement ataupun herbal terstandar perlu diformulasi dalam bentuk berbagai sediaan farmasi berdasarkan sifat-sifat bioaktif dari bekatul, seperti dibuat mikroemulsi



*et al.*, 2010), nano partikel (Rawal *et al.*,2018; Rodsuwan *et al.*, atau dibuat dalam bentuk fitosom, etosom,

transfersom, atau dalam bentuk granul dan tablet (Chitropas *et al.*, 2004).

Diperkirakan 40 % senyawa bahan alam memiliki kelarutan yang rendah di dalam air atau bahkan memberikan toksisitas yang tinggi, kurangnya kemampuan permeabilitas menembus barrier absorpsi dapat mempengaruhi bioavailabilitas senyawa bahan alam di dalam tubuh (Ramadhon, 2016). Berdasarkan hal tersebut, maka telah dilakukan pengembangan terhadap  $\gamma$ -oryzanol yang terdapat dalam ekstrak bekatul lokal varietas Ciherang dalam bentuk sediaan fitosom. Fitosom merupakan salah satu teknologi yang dikembangkan dalam formulasi obat dan produk nutrasetika yang mengandung senyawa aktif bahan alam dengan membentuk kompleks senyawa aktif (phytoconstituent) di dalam fosfolipid, sehingga biasa disebut dengan fitosom (Gandhi, 2012). Fitosom dikembangkan pada tahun 1989 di Italia melalui suatu reaksi kimia antara ekstrak fenolik dengan fosfolipid yang mengandung fosfatidilkolin. Keunggulan dari fitosom antara lain, dapat meningkatkan efikasi efek terapeutik karena adanya peningkatan absorpsi oleh fosfatidilkolin, sehingga ekstrak dapat menembus membran lipid bilayer dengan lebih baik, dan dapat menurunkan dosis obat. Selain itu, karakteristik fosfolipid yang menyerupai sifat membran sel manusia menjadikan sistem ini sangat kompatibel dengan sistem fisiologis manusia (Ramadhon, 2016).

Inovasi dalam penelitian ini adalah memanfaatkan bekatul lokal



i Selatan untuk mendapatkan ekstrak yang kaya akan gamma-  
sebagai obat anti diabetes yang diformulasi dalam bentuk

fitosom.

Selanjutnya, dilakukan pengujian untuk mengetahui kelayakan dan potensi sediaan fitosom yang dihasilkan sehingga dapat memperkuat kedudukan obat tradisional, khususnya bagi ekstrak bekatul yang kaya akan  $\gamma$ -oryzanol .

## 1.2. Rumusan Masalah

Permasalahan utama dalam penelitian ini adalah :

1. Bagaimana melakukan karakterisasi dan standarisasi ekstrak bekatul lokal varietas Ciherang kaya  $\gamma$ -oryzanol.
2. Bagaimana ekstrak bekatul varietas Ciherang terhadap penurunan gula darah mencit sebagai efek antidiabetik.
3. Bagaimana formula fitosom yang optimal dari bahan aktif  $\gamma$ -oryzanol.
4. Bagaimana menentukan kelayakan sediaan fitosom berdasarkan hasil pengujian spektro UV-Vis, FTIR, SEM dan HPLC

## 1.3. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan yang ingin diperoleh dalam penelitian ini adalah untuk :

1. Menentukan karakterisasi dan standarisasi ekstrak bekatul lokal kaya  $\gamma$ -oryzanol 3 varietas padi dan 3 Kabupaten di Sulawesi Selatan.



Mengetahui ekstrak bekatul memiliki bioaktivitas terhadap penurunan glukosa darah pada mencit.

3. Menentukan formula fitosom yang optimal dari bahan aktif  $\gamma$ -oryzanol .
4. Menentukan kelayakan sediaan fitosom berdasarkan hasil pengujian bioaktivitas, spektro UV-Vis, FTIR, SEM dan HPLC.

#### 1.4. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan menjadi referensi yang kuat dalam pengembangan pengobatan antidiabetik secara transdermal yaitu sediaan farmasi yang digunakan pada permukaan kulit secara noninvasif, tanpa melukai jaringan dan tidak menimbulkan rasa sakit, dengan cara di oleskan, di tempelkan atau di semprotkan sehingga terjadi proses permeasi molekul obat yang menembus lapisan kulit menuju sirkulasi darah yang berbahan aktif  $\gamma$ -oryzanol .

#### 1.5. Ruang Lingkup

Penelitian ini dilakukan untuk melakukan kajian terhadap kandungan kimia  $\gamma$ -oryzanol yang terdapat dalam bekatul dari tiga varietas yaitu Ciherang, Cliwung dan Inpari. Selanjutnya dipilih yang terbaik dari salah satu varietas berdasarkan hasil uji bioaktivitasnya untuk dikembangkan dalam bentuk sediaan fitosom. Selanjutnya Varietas Ciherang dipilih dan dilakukan pengujian kelayakan kadar  $\gamma$ -oryzanol dari tiga daerah Kabupaten



beda yaitu Sidrap, Pinrang, dan Sengkang. Berdasarkan hasil an kadar  $\gamma$ -oryzanolnya, maka yang dipilih

untuk dikembangkan adalah bekatul varietas Ciherang dari Kabupaten Sengkang dalam bentuk fitosom. Analisis kelayakan dilakukan terhadap sediaan fitosom yang diperoleh meliputi : Analisis uji bioktivitas, uji SEM, uji HPLC, uji VIS dan FTIR.

### 1.6. Kebaruan Penelitian

Penelitian ini menghasilkan kebaruan dalam penemuan yaitu :

1. Penggunaan  $\gamma$ -oryzanol yang diperoleh dari bekatul varietas Ciherang sebagai varietas lokal di Sulawesi Selatan untuk penggunaan antidiabetik.
2. Diperoleh bentuk sediaan fitosom perbandingan 1 : 1 dan 1 : 1,5 dari ekstrak bekatul varietas Ciherang ini berdasarkan uji kelayakan bioaktivitas, uji SEM, uji HPLC, uji VIS dan FTIR.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ajuzuddin, Saraf .s. 2010. Aplication of novel drug delivery system for *formadabin ,fitoterapia*, vol 81 no7. 680
- Andriani, R. , Subroto, T. , Ishmayana, S. , & Kurnia, D. 2022 . Metode peningkatan kapasitas antioksidan dalam dedak padi:Sebuah tinjauan . *Makanan* , 11 ( 19 ), 2994.<https://doi.org/10.3390/foods11192994>
- Chitropas, P., Priprem, A., Siri, B., Khamlert, C., & Sripanidkulchai, B. 2004. Factors affecting antioxidation and  $\gamma$ -oryzanol in developed Hom Dok Mali 105 rice bran tablets. *Warasan Wichai Mokho*.
- Friedman, M. 2013 . Bekatul, minyak Bekatul, dan sekam padi: Komposisi, kegunaan makanan dan industri, serta bioaktivitas pada manusia, hewan, dan sel . *Jurnal Kimia Pertanian dan Pangan* , 61 ( 45 ), 10626 – 10641 .<https://doi.org/10.1021/jf403635v>
- Gandhi,A Dutta.,Pal, A.,N Balski,P, 2012, Recent Trends of itosome for daivering herbalekstrack with improved bioactivity, *Journal of pharmacologi*, Vo.1 No.4:6-13
- Garofalo, S. F., Tommasi, T., & Fino, D. 2020. A short review of green extraction technologies for rice bran oil. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-19.
- Ghatak SB, panchal SJ,  $\Gamma$ -oryzanol -a multi- purpose Steryl ferulate, *Curr Nutr food Sci*, 2011; 7:10-20
- Ghatak, S. B., & Panchal, S. S. 2012. Anti-diabetic activity of oryzanol and its relationship with the anti-oxidant property. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 32(4), 185-192.
- Ghasemzadeh, A. , Baghdadi, A. , ZE Jaafar, H. , Swamy, MK , & Megat Wahab, PE 2018 . Optimalisasi ekstraksi flavonoid dari Bekatul merah dan coklat serta evaluasi sifat antioksidannya . *Molekul* , 23 ( 8 ), 1863.<https://doi.org/10.3390/molecules23081863>
- H., Ran Kim, S., Hwang, I. K., & Youl Ha, T. 2007. Hypoglycemic æcts of a phenolic acid fraction of rice bran and ferulic acid in 7BL/KsJ-db/db mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 24), 9800



- Lerma – garcia Mj Herro-Martinez JM, Simo-Alfonso EF, Mendonca CRB, Ramis-Ramos G composition, Industrial processing and applications Of rice brain -Oryzanol *Food Chem*, 2009; 115-389-404
- Pourali, O. , Asghari, FS , & Yoshida, H. ( 2010 ). Produksi senyawa fenolik dari biomassa Bekatul pada kondisi air subkritis . *Jurnal Teknik Kimia* , 160 ( 1 ), 259 - 266  
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.02.057>
- Ramadhon, D, dan Nunim A, 2016, Pemanfaatan nanoteknologi dalam system penghantaran obat baru untuk produk bahan alam ., *jurnal Kefarmasian Indonesia* Vol.14, No.2., 121-123
- Rawal, T., Mishra, N., Jha, A., Bhatt, A., Tyagi, R. K., Panchal, S., & Butani, S. (2018). Chitosan nanoparticles of  $\gamma$ -oryzanol : formulation, optimization, and in vivo evaluation of anti-hyperlipidemic activity. *Aaps Pharmscitech*, 19(4), 1894-1907.
- Rodsuwan, U., Pithanthanakul, U., Thisayakorn, K., Uttapap, D., Boonpisuttinant, K., Vatanyoopaisarn, S., ... & Rungsardthong, V. 2021. Preparation and characterization of  $\Gamma$ -ORYZANOL loaded zein nanoparticles and its improved stability. *Food Science & Nutrition*, 9(2), 616-624.
- Shahbandeh M 2020 Top countries based on production of milled rice 2018/2019. Statista <https://www.statista.com/statistics/255945/top-countries-of-destination-for-us-rice-exports-2011/> accessed 11 Apr 2020
- Vorarat, S., Managit, C., lamthanakul, L., Soparat, W., & Kamkaen, N. 2010. Examination of antioxidant activity and development of rice bran oil and  $\gamma$ -oryzanol microemulsion. *Journal of Health Research*, 24(2), 67-72.
- Yu, Y. , Zhang, J. , Wang, J. , & Sun, B. 2019 . Aktivitas anti kanker dan potensi aplikasi klinis ekstrak dedak padi dan produk fermentasi . *RSC Maju* , 9 ( 31 ), 18060 - 18069 .<https://doi.org/10.1039/C9RA02439E>



## BAB II

### PENELITIAN I

#### **EKSTRAKSI DAN IDENTIFIKASI $\gamma$ -ORYZANOL DARI BEKATUL (*ORYZA SATIVA* L.CV CILIWUNG) DENGAN METODE *MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION (MAE)***

##### 2.1 Abstrak

Maryono **Ekstraksi dan Identifikasi  $\gamma$ -oryzanol Dari Bekatul (*Oryza Sativa* L.CV Ciliwung) dengan metode *Microwave Assisted Extraction (MAE)* (dibimbing oleh Elly Wahyudin, Aliyah dan Sartini)**

Bekatul (*Oryza sativa* L.cv Cilliwung) adalah produk sampingan proses penggilingan padi menjadi beras, yang terdiri atas lapisan terluar beras. Minyak Bekatul merupakan hasil ekstraksi Bekatul. Minyak bekatul mengandung senyawa antioksidan, salah satunya adalah  $\gamma$ -oryzanol. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan menentukan kandungan kadar  $\gamma$ -oryzanol dalam Bekatul. Tahap-tahap penelitian mencakup penyiapan sampel, kemudian ekstraksi menggunakan bantuan gelombang mikro (MAE), yang diikuti dengan fraksinasi dengan menggunakan kolom kromatografi cair vakum (VLCC). Ekstraksi yang menggunakan metode MAE menghasilkan 30 mL ekstrak minyak Bekatul. Secara keseluruhan, diperoleh 8 gram ekstrak Bekatul difraksinasi dengan kromatografi cair vakum yang menggunakan perbandingan pelarut (n- hexane: etil asetat) dengan perbandingan 9:1, 7:3, dan 1:1. Kemudian, lima fraksi yang diperoleh diidentifikasi dengan menggunakan HPLC, dan GC/MS untuk mengetahui kandungan kadar  $\gamma$ -oryzanol. Kadar  $\gamma$ -oryzanol yang diperoleh pada ekstrak n-hexana bekatul adalah 244,3032 ppm.

Kata kunci: Gamma-oryzanol, Microwave assisted extraction (MAE)  
Ekstraksi, Bekatul (*Oryza sativa* L. cv Cilliwung).



## 2.2 Pendahuluan

Produksi beras di Indonesia cukup produktif. Setiap tahunnya mengalami peningkatan yang cukup signifikan. Lembaga Statistik Pusat mengungkapkan bahwa produksi beras pada tahun 2018 diperkirakan berjumlah 80 juta ton diperoleh dari gabah kering giling (GKG), atau kenaikan 15 juta ton dibanding tahun 2011. Kondisi produksi beras yang terus meningkat seperti ini dapat memberi peluang yang baik untuk Indonesia (Hapsari *et.al*/2013)

Di sisi lain, produksi beras yang besar itu juga memberi hasil sampingan yang cukup besar setelah menggiling padi menjadi beras. Proses produksi beras ini menghasilkan produk sampingan seperti benir, broken (beras patahan), sekam dan bekatul. Bekatul adalah produk sampingan dari proses penggilingan beras, yang terdiri dari lapisan luar beras dengan sejumlah campuran halus benir.

Minyak bekatul atau yang dikenal sebagai minyak dedak adalah hasil ekstraksi dari bekatul. Minyak bekatul dapat dikonsumsi dan mengandung vitamin, antioksidan, serta nutrisi yang dibutuhkan tubuh manusia. Minyak bekatul juga mengandung antioksidan alami seperti tokopherol, tocotrienol, dan oryzanol, yang bermanfaat untuk melawan radikal bebas dalam tubuh, khususnya sel-sel kanker, dan membantu mengurangi kolesterol dalam darah dan kolesterol liver, serta menghambat menopause. Oleh karena itu,



bekatul dapat digunakan sebagai bahan makanan untuk atkan mutu kesehatan manusia (Cho JY

et. al 2012).

Gamma-oryzanol ( $\gamma$ -oryzanol ) adalah campuran *phytosteryls ferulate* dalam minyak bekatul. Xu dan Godber (1999) menemukan bahwa 24 *methylene cycloartenylferulate*, *cycloartenyl ferulate*, *campesteryl ferulate*, *beta-sitosteryl ferulate*, dan *campestanyl ferulate* yang telah diidentifikasi sebagai komponen utama dan ditemukan memiliki aktivitas antioksidan sepuluh kali lebih besar dari pada tocopherol dan tocotrienol. Vitamin E dilaporkan mengandung  $\gamma$ -oryzanol yang tidak hanya bermanfaat untuk mengobati gejala menopause, tetapi juga bermanfaat untuk mengurangi kolesterol dalam darah, liver, dan bermanfaat untuk melawan radikal bebas (Xu H and Godber JS. 2000).

Siti Zullaikah (2009) mengisolasi oryzanol menggunakan metode pengkristalan 2 tahap, yaitu tahap 1 menggunakan suhu  $-60^{\circ}\text{C}$  dan tahap 2 menggunakan suhu  $-22^{\circ}\text{C}$ . Hasilnya menunjukkan bahwa pengkristalan oryzanol pada suhu  $-60^{\circ}\text{C}$  memberikan hasil yang relatif tinggi, yaitu sebesar 13,68% dalam fasa cair 1 (LP1), dengan perolehan kembali 63,34%. Sementara pada suhu  $-22^{\circ}\text{C}$  pada tahap pengkristalan pertama juga memperoleh oryzanol dengan konsentrasi dalam fasa cair 1 (LP1) sebesar 12,59% dengan perolehan kembali 47,17%. Pada akhir fasa pengkristalan kedua diperoleh kristal oryzanol dengan kemurnian 93-95% dan nilai perolehan kembali sebesar 59%. Namun demikian dengan hasil



erikan, metode ini memiliki kelemahan bahwa suhu yang dilakukan proses pengkristalan pertama terlalu rendah,

sehingga tidak mudah diterapkan pada pendingin sederhana (Zullaikah S,*et.al.* 2009). Oleh karena itu, penelitian yang dilakukan oleh peneliti pada saat ini adalah dalam bentuk pengembangan metode yang telah dilakukan oleh Siti Zullaikah yang menggunakan metode ekstraksi sokhletasi.

Ekstraksi  $\gamma$ -oryzanol dari bekatul (*Oryza sativa* L. cv Ciliwung) menggunakan metode Microwave Assisted Extraction (MAE) belum pernah dilaporkan. Alasan peneliti dalam penelitian ini menggunakan metode MAE adalah karena memiliki keuntungan, salah satunya adalah hasil ekstrak yang diperoleh lebih memuaskan dari metode ekstraksi sederhana (Ahmad I, *dkk* 2018). Selain itu, waktu yang dibutuhkan untuk melakukan satu ekstraksi hanya membutuhkan waktu 15-30 menit. Penelitian ini bertujuan untuk menerapkan metode MAE dan mengidentifikasi senyawa target  $\gamma$  oryzanol dari bekatul.

## 2.3 Metode Penelitian

### 2.3.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah evaporator rotari (Buchi), kolom (2,5 x 25 cm), kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) (Shimadzu), dan kromatografi gas spektrofotometer massa (GC/MS), dan microwave domestik dimodifikasi (Modena)

Sampel dedak (*Oryza sativa* L. cv Cilliwung) diperoleh melalui proses



nan padi menjadi beras yang berlokasi di Kabupaten Barru, i Selatan, Indonesia. Bahan kimia yang digunakan dalam

penelitian ini yaitu n-hexane, etil asetat, dan reagen test metabolit sekunder yang dibeli dari PT. SmartLab Indonesia, Silika gel 60 H, methanol, aqua pro injeksi, dichloromethane , dan acetonitrile dibeli dari Sigma Aldrich (via PT. Elo Karsa, Indonesia).

### 2.3.2 Prosedur

#### 1. Proses Ekstraksi MAE dan Skrining Metabolite Sekunder

Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi Microwave Assisted Extraction (MAE). Adapun prosedur yang dilakukan adalah pertama-tama sampel bekatul diayak dengan menggunakan ayakan mesin 100, kemudian ditimbang sebanyak 50 gram, lalu ditambahkan pelarut n-hexane sebanyak 200 mL dan pelarut etil asetat sebanyak 30 mL. Selanjutnya diekstraksi dengan bantuan gelombang mikro (MAE) selama 15 menit. Hasilnya adalah campuran pelarut dan bubuk dedak, lalu disaring menggunakan corong Buchner untuk memisahkan pelarut dan bubuk dedak. Hasil pemisahan kemudian disentrifuge selama 10 menit dengan kecepatan 180 rpm, selanjutnya dirotavapor pada suhu 50°C dengan kecepatan 50 rpm untuk menghilangkan pelarut yang tersisa. Selanjutnya untuk uji pendahuluan (uji tes golongan ) dilakukan terhadap ekstrak n-hexane yang diperoleh dengan menggunakan reagen  $\text{FeCl}_3$  1% (fenolil), Dragendorff dan Wagner untuk senyawa kimia (alkaloid)



#### 2. Uji pemurnian senyawa $\gamma$ -oryzanol

Uji pemurnian  $\gamma$ -oryzanol menggunakan kolom kromatografi cair

vakum (VLC). Kolom (2,5 x 25 cm) yang berisi 55 g silica gel 60 H digunakan untuk menghilangkan trigliserida dan lipid lainnya.

Ekstrak minyak dedak yang diperoleh dilarutkan dalam 100 mL campuran (n- hexane:etil acetate = 9: 1), kemudian dialirkan 100 mL pelarut n- hexane:etil acetate = 7:3 melalui kolom. Minyak yang diperoleh dikumpulkan, lalu kolom dicuci dengan 100 mL n- hexane:etil asetat 1:1, selanjutnya pelarut diuapkan hingga diperoleh  $\gamma$ -oryzanol.

### **3. Karakterisasi kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC) dan gas kromatografi /Mass Spectrometer (GC/MS)**

Sistem HPLC digunakan untuk mencatat kromatogra hasil fraksi yang diperoleh sehingga teridentifikasi dari setiap fraksi. Lima fraksi ditandai menggunakan HPLC, dengan persediaan kolom metanol, dan fase gerak campuran aqua pro injeksi, diklorometane, asetonitril dengan perbandingan 40: 56: 2:2, dengan kecepatan alir 1 mL/min. Volume injeksi yang digunakan adalah 20  $\mu$ L, dan panjang gelombang yang digunakan adalah 370 nm. Peak pada fraksi 2 dipilih untuk mengidentifikasi senyawa  $\gamma$ -oryzanol dengan menggunakan kromatografi gas/ spektrofotometer massa (GC / MS).





Gambar 1 : Fraksi dari ekstrak bekatul

#### 2.4. Hasil

Penerapan ekstraksi *Microwave Assisted Extraction* (MAE) bertujuan untuk memperoleh selektivitas senyawa atau kandungan kimia ekstrak dari berbagai bahan baku. Radiasi microwave diterapkan pada pelarut yang secara cepat dan efisien untuk mengurangi waktu ekstraksi. Daya microwave yang digunakan untuk mengekstrak minyak dedak baku adalah 380 watt, sedangkan volume pelarut yang digunakan adalah 230 ml.

Ekstrak yang diperoleh berupa minyak dengan warna kuning kecoklatan. Hasil yang diperoleh adalah 2,40%.

Uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak minyak bekatul. Senyawa metabolit sekunder yang diuji adalah alkaloid dan polifenol. Hasil uji kualitatif dapat di lihat pada tabel 1.

Dari berikut ini adalah hasil pengujian fitokimia dari reagen ekstrak dedak  
lihat pada tabel 1 dan 2.



Tabel 1: Hasil uji kualitatif kandungan senyawa minyak dedak bekatul

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Alkaloids	Wagner	Kecoklatan/lapisan Endapan Merah	+
	Dragendroff	Kecoklatan/lapisan Endapan Merah	+
Polifenol	FeCl <sub>3</sub>	Hijau ke Kuningan	+

Alkaloid dan polifenol merupakan golongan senyawa yang banyak terdapat pada tumbuhan. Dari tabel 1 terlihat bahwa minyak bekatul memberikan hasil positif (+) untuk kedua golongan senyawa tersebut. Hasil ini sesuai dengan penelitian Pamali et al (2010) yang menyatakan bahwa bekatul kaya akan senyawa fenolik.

Ekstrak yang diperoleh kemudian dikromatografi dengan menggunakan kromatografi cair vakum (VLC) yang memakai adsorben silika gel 60 sebagai fase diam dan eluen n-heksana/etil asetat sebagai fase gerak. Hasil kromatografi cair vakum diperoleh enam fraksi dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 2: Fraksi Ekstrak Bekatul menggunakan Perbandingan Eluen n-Heksane-Ethyl (9: 1) (7: 3) (1: 1)

No.Fraksi	Perbandingan Eluen Hexane-Ethyl	Berat (g)	Keterangan
Fr-2	(9:1)	4,37	Orange
Fr-1	(7:3)	1,54	Kuning kecoklatan
Fr-5	(1:1)	0,16	Hijau



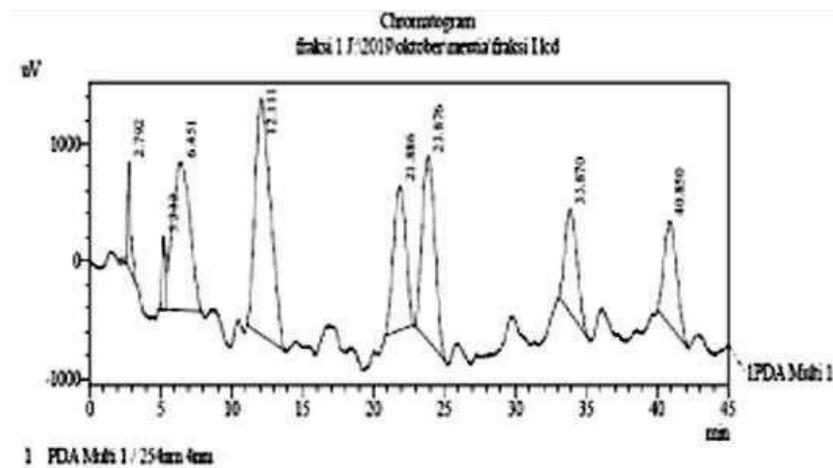
Pelarut kemudian diuapkan hingga kering dan diidentifikasi dengan menggunakan HPLC.

HPLC adalah teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk menganalisis senyawa murni tertentu dalam sampel. Tes ini bertujuan untuk melihat profil senyawa  $\gamma$ -oryzanol dalam sampel menggunakan instrumen HPLC. Fasa gerak yang digunakan adalah campuran metanol, aqua pro injeksi, dikloromethane, asetonitril dengan rasio 40: 56: 2 : 2. Fasa diam yang digunakan adalah kolom C18 yang non-polar dengan waktu mengelusi selama 45 menit.

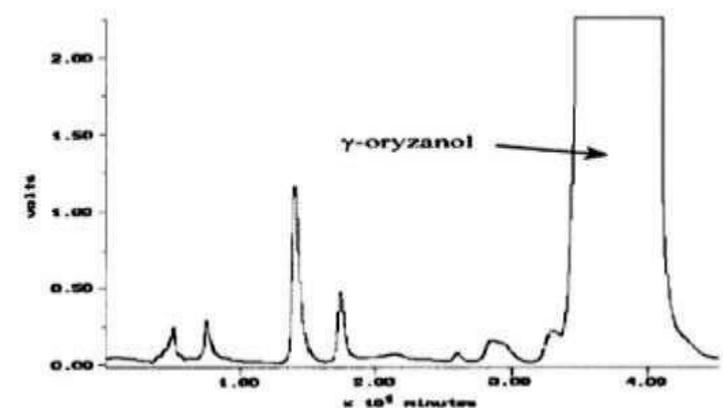
Analisis kandungan kimia dari metode GC-MS dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak minyak Bekatul (*Oryza sativa* L.cv Ciliwung). Fase diam yang digunakan adalah SPB-5 dengan panjang kolom 30 cm dan diameter internal 0,25 mm.

Sementara fasa gerak yang digunakan adalah gas helium dengan kecepatan aliran 1 mL/ menit. Dalam instrumen MS digunakan metode ionisasi electron dengan energi 70 Ev. Hasil tes GC-MS ekstrak n- hexane Bekatul dinyatakan dalam kromatogram pada gambar 2. Hasil tes GC-MS ekstrak n- hexane Bekatul dinyatakan dalam kromatogram pada gambar 3.





Gambar 2 : Kromatogram  $\gamma$ -oryzanol Fraksi 2 (9:1)



Gambar 3 : Kromatogram  $\gamma$ -oryzanol dalam preparasi HPL

## 2.5. Pembahasan

Perhitungan menunjukkan bahwa persentase dari minyak dedak yang diperoleh adalah 2,404%. Suhu dapat menyebabkan kurangnya



isi ekstrak pada saat ekstraksi. Suhu optimal yang harus an dalam ekstraksi dedak adalah di bawah 100°C. Jika suhu yang an sangat tinggi akan membuat komponen yang terkandung

dalam dedak akan rusak dan mempengaruhi hasil ekstrak minyak dedak yang dihasilkan.

Dibandingkan dengan hasil penelitian yang dilakukan (Nasir 2009) dalam ekstraksi dedak menjadi minyak dedak dengan pelarut n-hexane dan etanol dengan waktu ekstraksi 1 jam, 2 jam, dan 3 jam. Memberikan persentase hasil yang tinggi pada minyak dedak yang dihasilkan. Pada prinsipnya, proses ekstraksi dedak harus dilakukan secepat mungkin karena semakin lama proses ekstraksi berlangsung, persentase minyak meningkat dan semakin tinggi kandungan asam lemak bebas dalam minyak dedak. Ukuran persentase asam lemak bebas dapat mempengaruhi kualitas minyak, Di mana semakin tinggi kandungan persentase asam lemak bebas dalam minyak, maka akan lebih sulit untuk dimurnikan dan mempengaruhi kualitas minyak dedak yang diproduksi.

Tekanan dingin dalam semua proses fisik di mana kelenjar minyak pada dedak akan berubah untuk menghasilkan minyak dedak. Membuat minyak dengan tekanan dingin tanpa pemanasan, dilakukan pada bahan-bahan yang berbentuk benih, buah, atau kulit buah pada tanaman (Ghatak SB *et.al* 2012).

Sehingga proses ekstraksi yang paling optimal untuk menghasilkan hasil yang baik dan kualitas minyak dedak adalah dengan menggunakan ekstraksi tekanan dingin. Berdasarkan pengamatan pada tes fitokimia,

i bahwa ekstrak n-hexane mengandung alkaloid dan senyawa



flavonoid. Senyawa Alkaloid yang diuji menggunakan Wagner dan reaksi Dragendroff ditandai dengan membentuk lapisan merah bata. Senyawa flavonoid yang diuji dengan menggunakan  $\text{FeCl}_3$  ditandai dengan pembentukan warna hijau kekuning-kuningan. Hal ini menunjukkan bahwa ada kemungkinan bahwa senyawa  $\gamma$ -oryzanol ada di ekstrak n-hexana mengandung senyawa flavonoid (Goffman FD, *et.al* . 2003).

Ekstrak yang diperoleh di VLCC menggunakan adsorben silika gel 60 H sebagai fasa diam dan eluen, etil asetat dan n-hexane sebagai fasa gerak.. Hasil dari kromatografi cair vakum diperoleh adalah lima fraksi. Kemudian pelarut menguap menjadi kering dan ditimbang serta dikarakterisasi dengan HPLC. Tes ini bertujuan untuk melihat profil senyawa  $\gamma$ -oryzanol dalam sampel menggunakan instrumen HPLC untuk dibandingkan dengan hasil kromatogram HPLC dari senyawa  $\gamma$ -oryzanol yang telah diidentifikasi (Xu H and Godber JS .2000).

Prinsip dasar HPLC didasarkan pada perbedaan distribusi komponen - komponen dalam sampel antara dua fase, fase bergerak dan fase diam. Fase gerak yang digunakan adalah campuran metanol, Aqua Pro Injeksi, dikloromethane, asetonitrile dengan perbandingan 40:56:2:2. Fase diam yang digunakan adalah kolom C 18 yang non polar dan mengelusi selama 45 menit. Oleh karena itu, tes ini menggunakan metode reverse HPLC karena fase gerak yang digunakan adalah polar, sementara fase diam non polar.



dasarkan hasil karakterisasi HPLC dari lima fraksi, hasil

kromatogram dalam fraksi 2 (9:1) memiliki kesamaan dengan hasil kromatogram yang dilakukan oleh Gunaratne *et al.* Waktu untuk senyawa  $\gamma$ -oryzanol berada di 8.50 menit, dengan luas area 54810, sehingga fraksi 2 dilanjutkan proses menggunakan instrumen GC/MS. Analisis GC/MS menunjukkan bahwa ekstrak dedak positif mengandung  $\gamma$ -oryzanol. Tes kuantitatif dengan metode ini menunjukkan bahwa pada berat molekul 69 m/z, jelas terlihat puncak senyawa  $\gamma$ -oryzanol memiliki waktu retensi 33.050 dengan daerah 5035 dengan konsentrasi 244,30327 ppm.

## 2.6 Kesimpulan

Ekstraksi pada Microwave Assited Extraction terjadi karena perubahan struktur sel yang disebabkan oleh gelombang elektromagnetik, perpindahan panas, dan massa dari beberapa bagian di media radiasi. dalam padat. Bekatul varietas Ciliwung telah diekstraksi dengan metode MAE. Jumlah kadar  $\gamma$ -oryzanol dalam ekstrak dedak n- hexana adalah 244,30327 ppm.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad I, Yanuar A, Mulia K, Mun'im A. Application of ionic liquid based microwave-assisted extraction of the secondary metabolite from *Peperomia pellucida* (L) Kunth. *Pharmacognosy Journal*. 2017; 9(2): 227-234.
- Ahmad I, Yanuar A, Mulia K, Mun'im A. Ionic liquid-based microwave assisted extraction: Fast and green extraction method of secondary metabolites on medicinal plant. *Pharmacognosy Review*. 2018; 12(23): 20-26.
- Aladedunye F, Przybylski R, Rudzinska M, Pawlik DK.  $\Gamma$ -ORYZANOL of North American Wild Rice (*Zizania palustris*). *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2013; 90(8): 1101-1109.
- Cho JY, Lee HJ, Kim GA, Kim GD, Lee YS, Shin SC, Park KH, Moon JH. Quantitative analyses of individual  $\gamma$ -oryzanol (steryl ferulates) in conventional and organic brown rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Cereal Science*. 2012; 55: 337-343.
- Chen Y, Xie MY, Gong XF. Microwave-Assisted Extraction used for the isolation of total triterpenoid saponins from *Ganoderma atrum*. *Journal of Food Engineering*. 2007; 80: 170-172.
- Gandhi, A Dutta., Pal, A., N Balski, P, 2012, Recent Trends of itosome for daivering herbalekstrack with improved bioactivity, *Journal of pharmacologi*, Vo.1 No.4:6-13
- Ghatak SB, Shital S, Panchal. Antidiabetic activity of oryzanol and its relationship with the antioxidant property. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*. 2012; 32: 185-192.
- Goffman FD, Shannon P, Christine B. Genetic diversity for lipid content and fatty acid profile in rice bran. *JAOCS*. 2003; 80(5): 485-490.
- Gunaratne A, Wu K, Li D, Bentota A, Corke H, Cai YZ. Antioxidant activity and nutritional quality of traditional red-grained rice varieties containing proanthocyanidins. *Food Chemistry*. 2013; 138(2-3): 1153-1161.



RP, Fikri AY, Zullaikah S, Rachimoellah HM. Isolasi dan karakterisasi Oryzanol dari Minyak Bekatul. *Jurnal Teknik Pomits*. 13;1(1): 1-7

- Nasir S, Fitriyanti, Kamila H. Ekstraksi Bekatul menjadi minyak mentah Bekatul (crude rice bran oil) dengan pelarut n-heksana dan etanol. *Jurnal Teknik Kimia* 2009; 2(16): 1-6.
- Xu H, Godber JS. Antioxidant Activity of Tocopherols, Tocotrienols, and  $\gamma$ -Oryzanol Components from Rice Bran Against Cholesterol Oxidation Accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride. *Journal Agricultural Food Chem.*2000; 49: 2077-2081.
- Yulianti D, Susilo B, Yulianingsih R. Pengaruh lama ekstraksi dan konsentrasi pelarut etanol terhadap sifat fisika-kimia ekstrak daun stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni M.) dengan metode microwave-assisted extraction. *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis.* 2014; 2(1): 7-10.
- Zullaikah S, Melwita E, Ju YH. Isolation of oryzanol from crude rice bran oil. *Bioresource Technology* 2009; 100: 299-302.



## LAMPIRAN

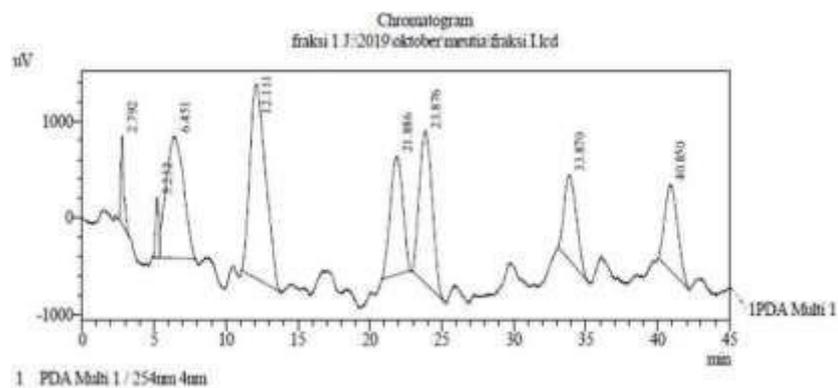
### HASIL HPLC DAN GCMS Varietas Padi Lokal Ciliwung

#### 1.1 Ekstraksi Microwave Assisted Extraction (MAE)



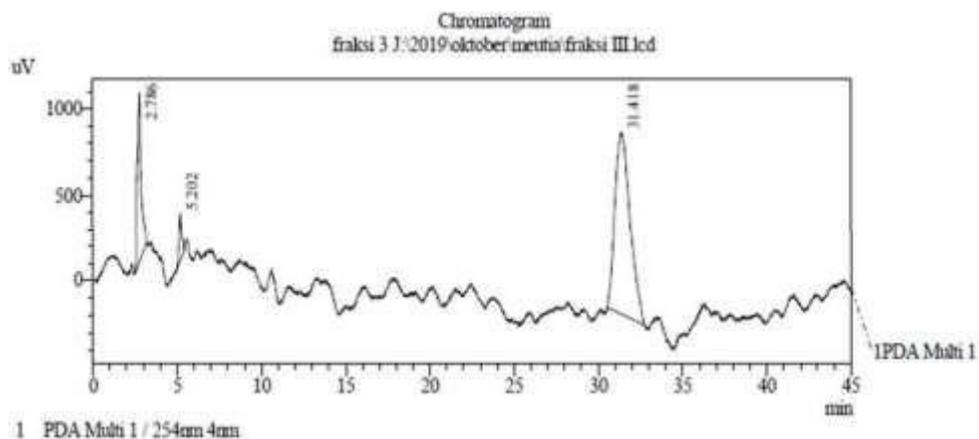
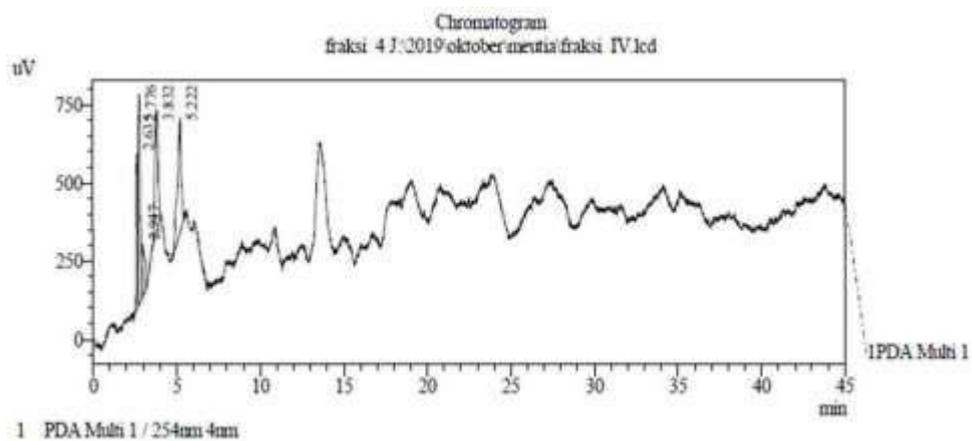
Gambar Ekstrak n-Hexan Bekatul

#### 2.1 Profil Kromatogram pada 3 perbandingan eluen yaitu (9 :1) (7:3) dan (1:1)



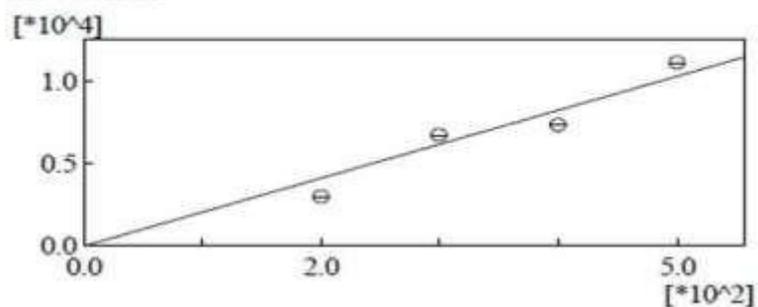
Gambar Kromatogram  $\gamma$ -oryzanol fraksi 2 (9:1)

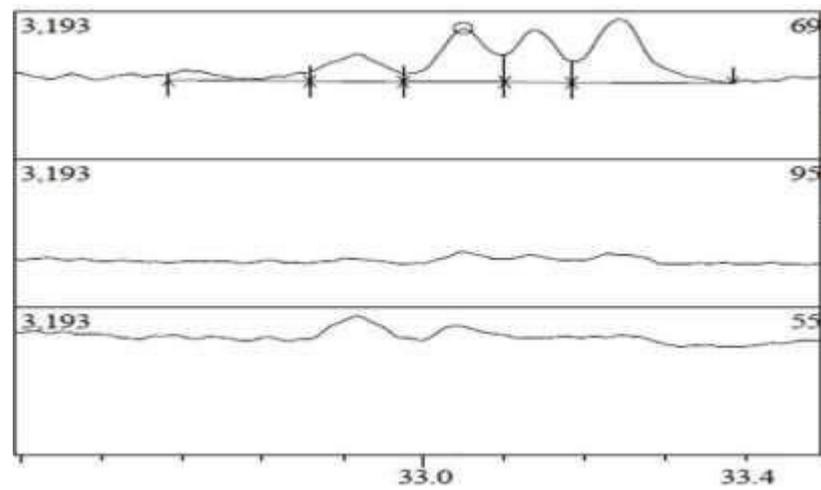


Gambar Kromatogram  $\gamma$ -oryzanol fraksi 4 (7:3)Gambar Kromatogram  $\gamma$ -oryzanol fraksi 5 (1:1)

### 3.1 Identifikasi menggunakan GC/MS

ID#:1 Mass:69.00 Name:gamma oryzanol  
 $f(x)=20.609630*x+0.000000$   
 $r^2=0.939513$

Gambar Kromatogram standar senyawa  $\gamma$ -oryzanol



Gambar Kromatogram kadar senyawa  $\gamma$ -oryzanol ekstrak n-hexan Bekatul (*Oryza Sativa* cv Ciliwung)





Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)