

EKSTRAKSI ANTIOKSIDAN ALAMI DARI SORGUM LOKAL VARIETAS COKELAT SERTA PENINGKATAN AKTIVITASNYA DENGAN PERKECAMBAHAN DAN GELOMBANG MIKRO

Extraction of Natural Antioxidant from Local Sorghum Brown Variety and Its Activity Enhancement by Germination and Microwave

Fithri Choirun Nisa

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian-Fakultas Teknologi Pertanian-Universitas Brawijaya
Jl. Veteran - Malang
Email: fithri_cn@yahoo.com

ABSTRACT

Brown sorghum was reported as a source of antioxidants such as phenolic, tannin, anthocyanin. This research was designed into 2 steps. The first step was aimed to find out the best type of solvent (methanol, ethanol, and acetone) for antioxidant extraction in each fraction (milled grain and bran) of sorghum. The aim of the second step was to observe the effect of germination and microwave on antioxidant activity. Nested design was used in the first step. The results of the first step showed that best treatment in milled grain was obtained from ethanol with phenolic content of 100,28 mg/g, anthocyanin content of 28.34 ppm, tocopherol content of 2.24 mg/mL, antioxidant activity of 95.96%, and yield of 10.105%. The best treatment in bran was obtained from methanol with phenolic content of 89.74 mg/g, anthocyanin content of 50.70 ppm, tocopherol content of 10.55 mg/mL, antioxidant activity of 97.15%, and yield of 9.02%. The results of the second step research showed that germination has significantly affected ($\alpha=0.05$) antioxidant activity and yield extract. The extract was characterized by phenolic content of 108.67 mg/g, anthocyanin content of 35.80 ppm, tocopherol content of 2.97 mg/mL, antioxidant activity of 98.00%, and yield of 16.94%. While microwave had significantly affected ($\alpha=0.05$) tocopherol content, antioxidant activity, and yield extract. The characteristics of product were phenolic content of 113.71 mg/g, anthocyanin content of 48.68 ppm, tocopherol content of 17.40 mg/mL extract, antioxidant activity of 98.71%, and yield of 12.47%.

Keywords: brown sorghum, natural antioxidant, microwave

PENDAHULUAN

Antioksidan alami dapat diperoleh dari beberapa sumber, salah satunya adalah sorgum. Beberapa varietas sorgum mengandung tanin dan fenol-fenol lain yang terkonsentrasi pada lapisan luar dari biji dan merupakan sumber alami antioksidan untuk pangan. Awika *et al.* (2000) melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan beberapa varietas sorgum (cokelat, hitam, putih). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan fenol (mg/100 mg) untuk masing-masing varietas adalah sebesar 0,16 (putih), 1,01 (hitam), dan 0,85 (cokelat) pada bagian biji

dan sebesar 0,28 (putih), 2,13 (hitam), 3,79 (cokelat) pada bagian *bran*. Sorgum cokelat mempunyai kandungan katekin (mg ekuivalen katekin/g) sebesar 2,4 pada bagian biji dan 18 pada bagian *bran*. *Bran* sorgum mempunyai nilai ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*) sebesar 21 (putih), 133 (hitam), dan 177 (cokelat) ($\mu\text{mol TE/g}$). *Bran* sorgum yang tinggi antosianin dan tanin mempunyai kemampuan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan *blueberry* dan bawang. Fraksi ini dapat menjadi sumber antioksidan yang baik.

Kepolaran antioksidan dalam gandum berbeda-beda. Menurut Oufnac *et al.*

(2007), keberadaan tipe antioksidan yang berbeda dalam ekstrak yang diperoleh dengan menggunakan pelarut yang berbeda memungkinkan perbedaan kemampuan dalam mencegah oksidasi lipid.

Beberapa antioksidan alami mempunyai aktivitas yang lebih rendah dibandingkan antioksidan sintetik, oleh karena itu diperlukan upaya untuk meningkatkan aktivitas antioksidan dengan proses perkecambahan pada biji sorgum dan penggunaan gelombang mikro pada dedak sorgum. Perkecambahan diketahui dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dalam biji sereal beberapa kali lipat bergantung pada kondisi perkecambahan (Briggs, 1998 *dalam Pike et al., 2007*). Hasil penelitian Oufnac *et al.* (2007) pada *brangdandum* menunjukkan bahwa ekstraksi pelarut menggunakan metanol dengan gelombang mikro meningkatkan secara signifikan kadar senyawa fenol total, kadar tokoferol total, dan kapasitas penangkapan radikal bebas.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari biji sorgum dan dedak sorgum diolah dari biji sorgum. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi metanol (teknis dan p.a.), etanol (teknis), aseton (teknis), HCl, KCl, Na Asetat, natrium bikarbonat, reagen Folin-Ciocalteu, air deionisasi, dan standar asam galat, standar-standar tokoferol, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), asam asetat glasial, kloroform, petroleum eter, serta minyak goreng sawit non antioksidan (merk Bimoli).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari HPLC (Shimadzu SPD-GA UV *Spectrofotometer Detector*, Shimadzu Le-9A *Liquid Chromatograph*, Shimadzu C-R4A *Chromatopach*, Microliter Hamilton Co. RENO. NEVADA, *Water HPLC Columns*), spektrofotometer (UV Visible 2100 merk UNICO), *rotary vacuum evaporator* (Set Rotavap BUCHI, rotavapor R-205 *heating bath* B-409, Vac V-500),

oven *microwave* (merk Electrolux), sentrifusa (merk Heraeus, kecepatan maksimum 5500 rpm), *waterbath*, *plate stirrer*, *magnetic stirrer*, alat semprot nitrogen (PEGO-M78), pHmeter (merk EZIDO), vortex, timbangan analitik.

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap. Penelitian tahap I bertujuan untuk mencari jenis pelarut terbaik (metanol, etanol, dan aseton) untuk mengekstrak masing-masing fraksi sorgum (biji sorgum dan dedak). Penelitian tahap I diulang sebanyak 3 kali. Tujuan dari penelitian tahap II adalah untuk mengetahui efek perkecambahan dan gelombang mikro terhadap aktivitas antioksidan. Penelitian tahap II diulang sebanyak 2 kali.

Penelitian Tahap I

Preparasi bahan baku

Biji sorgum dianalisis dalam bentuk tepung. Cara membuatnya yakni dengan menghilangkan kulit luar biji sorgum dengan menggunakan *dehuller* padi sehingga didapatkan hasil yang disebut biji sorgum. Rendemen biji sorgum yang dihasilkan sebesar 96,23%. Biji sorgum ditepungkan kemudian diayak dengan ayakan 100 mesh. Tepung yang lolos ayakan 100 mesh merupakan bahan baku yang akan digunakan dalam ekstraksi fraksi biji sorgum.

Dedak sorgum dibuat dengan cara menyosoh biji sorgum dengan menggunakan mesin *polisher* padi sebanyak 3 kali. Rendemen yang dihasilkan sebesar 15,73%. Dedak yang didapat dari mesin *polisher* kemudian dipanaskan melalui proses sterilisasi, suhu 121°C selama 3 menit. Selanjutnya dedak diayak dengan ayakan 40 mesh. Dedak yang lolos ayakan 40 mesh merupakan bahan baku yang akan digunakan dalam ekstraksi fraksi dedak.

Ekstraksi antioksidan

Tepung biji sorgum dikstrak dengan menggunakan pelarut metanol, etanol, dan aseton. Rasio pelarut dengan bahan 1:5 b/v. Proses ekstraksi diulang

sebanyak 3 kali. Pengocokan dengan *plate stirrer* dengan kecepatan 500 rpm selama 15 menit. Sentrifugasi selama 20 menit pada kecepatan 5500 rpm. Penyaringan supernatan dengan kertas saring halus sebanyak dua kali dan dikumpulkan ke dalam erlenmeyer yang telah dibungkus dengan alumunium foil. Supernatan hasil penyaringan dikumpulkan dalam satu wadah. Penguapan pelarut dengan *rotavapor* pada suhu 40°C dan tekanan 175 mBar sehingga menghasilkan ekstrak antioksidan kasar. Penyemprotan gas nitrogen kedalam ekstrak antioksidan kasar untuk menghilangkan sisa pelarut. Penyimpanan ekstrak antioksidan kasar dalam *freezer* sampai pengujian selanjutnya.

Dedak dikstrak dengan menggunakan pelarut metanol, etanol, dan aseton. Penempatan dedak (10 g) dalam tabung reaksi (25 x 150 mm). Penambahan 40 mL pelarut dan vortex selama 30 detik. Penutupan tabung reaksi. Inkubasi dalam *waterbath* dengan suhu 60°C selama 20 menit. Vortex tabung reaksi sebanyak dua kali selama inkubasi. Sentrifugasi pada kecepatan 5500 rpm selama 15 menit. Penyaringan supernatan dengan kertas saring halus sebanyak dua kali dan ditampung kedalam erlenmeyer yang telah dibungkus dengan alumunium foil. Pencampuran residu hasil ekstraksi pertama dengan 20 ml pelarut yang sama. Inkubasi dan pemisahan supernatan seperti cara sebelumnya kemudian dicampurkan dengan supernatan sebelumnya. Penguapan pelarut dengan *rotavapor* pada suhu 40°C dan tekanan 175 mBar sehingga menghasilkan ekstrak antioksidan kasar. Penyemprotan gas nitrogen kedalam ekstrak antioksidan kasar untuk menghilangkan sisa pelarut. Penyimpanan ekstrak antioksidan kasar dalam *freezer* sampai pengujian selanjutnya.

Penelitian Tahap II

Preparasi bahan baku

Perkecambahan biji sorgum dilakukan dengan merendam biji sorgum dalam air pada suhu 28-30°C selama 3 jam. Penirisan kemudian penganginan selama se-

kitar 12 jam. Perendaman kedua selama 4 jam. Perkecambahan pada suhu 25-30°C dan lingkungan yang lembab dengan menempatkannya pada kain yang basah sampai tumbuh tunas sepanjang 0,1-0,5 mm (3 jam). Pengeringan kecambah dengan menggunakan *vacuum dryer* selama 4 jam. Penggilingan dan fraksinasi kecambah dengan tahapan yang sama dengan preparasi bahan baku biji sosoh pada penelitian tahap I. Persiapan bahan baku dedak sama dengan pada penelitian tahap I.

Ekstraksi antioksidan

Ekstraksi antioksidan dari biji sosoh yang telah dikecambahkan sama dengan pada proses ekstraksi biji sosoh pada penelitian tahap I.

Antioksidan dari dedak sorgum diekstrak dengan menggunakan gelombang mikro. Tahapan-tahapannya yakni penempatan dedak (1 g) dalam tabung reaksi kecil tertutup. Penambahan 4 mL pelarut terbaik ekstraksi tahap I kedalam dedak, selanjutnya divortex selama 30 detik. Tabung reaksi dipanaskan didalam *microwave* selama 20 menit dengan level energi 180 W, suhu 60°C. Pendinginan selama 30 menit pada suhu kamar kemudian tutup tabung reaksi dibuka. Pemindahan isi secara kuantitatif ke dalam tabung sentrifusa dengan supernatan disiapkan seperti ekstraksi pelarut konvensional. Pencampuran residu dengan 2 mL pelarut dan divortex lagi. Pemisahan supernatan pelarut dengan sentrifugasi pada kecepatan 5500 rpm dan dicampurkan dengan supernatan sebelumnya. Penyaringan supernatan dengan kertas saring halus sebanyak dua kali dan dikumpulkan kedalam erlenmeyer yang telah dibungkus dengan alumunium foil. Penguapan supernatan dengan *rotavapor* pada suhu 40°C dan tekanan 175 mBar untuk menghilangkan pelarut sehingga menghasilkan ekstrak antioksidan kasar. Penyemprotan gas nitrogen ke dalam ekstrak antioksidan kasar untuk menghilangkan sisa pelarut. Penyimpanan ekstrak antioksidan kasar dalam *freezer* sampai pengujian selanjutnya.

Analisis

Analisis yang dilakukan pada biji sosoh dan dedak sorgum adalah kadar air, kadar fenol, kadar antosianin, dan aktivitas antioksidan (metode DPPH). Pengujian yang dilakukan terhadap semua ekstrak antioksidan kasar (hasil ekstraksi antioksidan tahap I dan tahap II) adalah kadar fenol, kadar antosianin, kadar tokoferol dengan HPLC, aktivitas antioksidan (metode DPPH), dan rendemen.

Analisis Data

Penelitian tahap I menggunakan rancangan bersarang dengan faktor utama yaitu fraksi sorgum (biji sosoh dan dedak) dan faktor bersarang yaitu jenis pelarut (metanol, etanol, dan aseton). Penelitian tahap II membandingkan perlakuan perkebunan dan ekstraksi gelombang mikro dengan hasil terbaik pada penelitian tahap I.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Bahan Baku

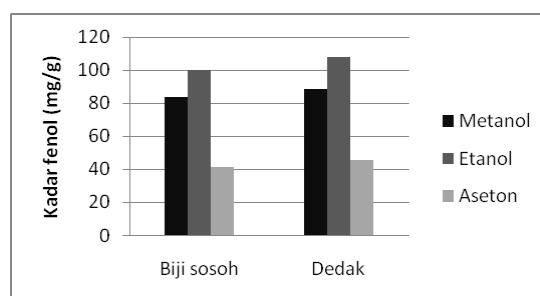
Bahan baku biji sosoh memiliki kadar fenol sebesar 10,7 mg/g, kadar antosianin sebesar 0,016 mg/g dan aktivitas antioksidan sebesar 84,75%, sedangkan dedak mempunyai kadar fenol sebesar 14,3 mg/g, kadar antosianin sebesar 0,018 mg/g, dan aktivitas antioksidan sebesar 85,46%.

Kadar fenol, kadar antosianin dan aktivitas antioksidan pada dedak mempunyai nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan biji sosoh. Kadar fenol dan kadar antosianin lebih banyak terdapat di dedak dikarenakan senyawa-senyawa antioksidan lebih banyak yang terkonsentrasi pada bagian dedak. Decker *et. al.* (2002) menyebutkan bahwa biji sosoh juga memiliki bermacam-macam kandungan antioksidan. Mayoritas kandungan antioksidan tersebut terkonsentrasi pada bagian dedak dan *germ* yang hilang selama penggilangan.

Karakteristik Ekstrak Antioksidan Kasar

Kadar fenol

Kadar fenol rata-rata berkisar antara 41,30-107,73 mg/g pada kedua fraksi sorgum dengan pelarut metanol, etanol, dan aseton. Gambar 1 menunjukkan bahwa kadar fenol pada fraksi dedak cenderung lebih besar dibanding fraksi biji sosoh. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Awika *et. al.* (2000) bahwa sorgum cokelat memiliki kandungan fenol sebesar 0,85 mg/100mg pada biji sosoh dan 3,79 mg/100g pada dedak. Urutan jenis pelarut yang menghasilkan kadar fenol mulai dari yang tertinggi, pada kedua jenis fraksi sorgum, adalah etanol > metanol > aseton.

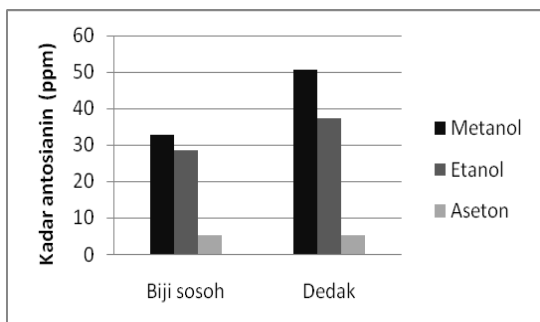


Gambar 1. Grafik pengaruh fraksi dan jenis pelarut terhadap kadar fenol pada ekstrak antioksidan kasar sorgum

Nilai kadar fenol pada perlakuan jenis pelarut metanol lebih rendah dibanding etanol dapat dikarenakan tingginya kemampuan metanol dalam mengekstrak senyawa polar sehingga selain mengekstrak senyawa antioksidan, metanol juga mengekstrak senyawa-senyawa polar lainnya. Oufnac *et. al.* (2007) melaporkan bahwa pelarut metanol tidak hanya mengekstrak lemak dan molekul-molekul berukuran kecil yang bersifat polar, tetapi juga beberapa molekul-molekul berukuran besar yang bersifat polar seperti protein-protein yang terlarut dalam alkohol dan karbohidrat dari dedak gandum.

Kadar antosianin

Kadar antosianin rata-rata berkisar antara 5,07-50,70 ppm pada kedua fraksi dan pelarut metanol, etanol, dan aseton



Gambar 2. Grafik pengaruh fraksi dan jenis pelarut terhadap kadar antosianin pada ekstrak antioksidan kasar sorgum

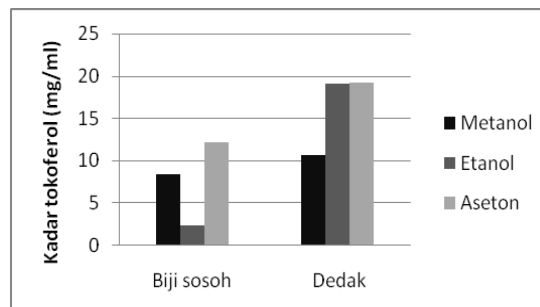
Metanol memberikan kadar antosianin tertinggi pada kedua jenis fraksi sorgum. Antosianin merupakan antioksidan yang bersifat polar, sementara metanol bersifat lebih polar dibanding etanol dan aseton, sehingga antosianin lebih dapat terekstrak oleh metanol dibanding etanol dan aseton. Menurut Harbone (1996) metanol yang ditambah HCl 1% adalah pelarut yang sering disarankan untuk mengekstrak antosianin karena sifatnya yang polar dan asam.

Kadar antosianin dari perlakuan jenis pelarut aseton memiliki nilai terendah. Hal ini dikarenakan aseton mempunyai nilai polaritas yang lebih rendah dibanding metanol dan etanol. Selain itu disebutkan oleh Awika *et al.* (2004) bahwa selama proses ekstraksi dengan pelarut aseton terjadi reaksi antara aseton-antosianin membentuk piranoantosianidin, dimana senyawa ini secara signifikan akan menurunkan kuantitas antosianin yang terdeteksi, namun reaksi ini tidak terjadi pada pelarut metanol.

Kadar tokoferol

Kadar tokoferol rata-rata berkisar antara 2,25-19,20 mg/mL pada kedua fraksi dan pelarut metanol, etanol, aseton. Gambar 3 menunjukkan bahwa kadar tokoferol pada fraksi dedak cenderung lebih besar dibanding fraksi biji sosoh. Kadar tokoferol pada ekstrak antioksidan kasar fraksi biji sosoh mempunyai nilai tertinggi sebesar 12,14 mg/mL ekstrak pada perlakuan jenis pelarut aseton sedangkan nilai terendah adalah 2,25 mg/mL ekstrak

pada perlakuan jenis pelarut etanol. Kadar tokoferol pada ekstrak antioksidan kasar dedak memiliki nilai tertinggi sebesar 19,20 mg/mL ekstrak pada perlakuan jenis pelarut aseton sedangkan nilai terendah adalah 10,55 mg/mL ekstrak pada perlakuan jenis pelarut metanol.



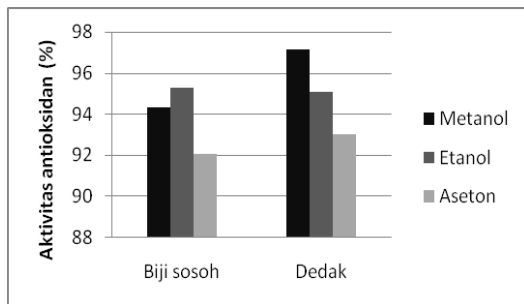
Gambar 3. Grafik pengaruh fraksi dan jenis pelarut terhadap kadar tokoferol pada ekstrak antioksidan kasar sorgum

Tokoferol merupakan jenis antioksidan yang bersifat non polar sehingga lebih mudah terekstrak oleh pelarut yang bersifat non polar pula. Perlakuan jenis pelarut aseton menghasilkan kadar tokoferol yang paling tinggi. Tingkat kepolaran aseton lebih rendah dibanding etanol maupun metanol sehingga lebih dapat mengekstrak tokoferol. Menurut Peltonen *et al.* (2002), konstanta dielektrikum dari metanol, etanol, dan aseton pada suhu 25°C berturut-turut adalah sebesar 32,7, 24,6, dan 20,7, hal ini menunjukkan bahwa polaritas metanol paling besar diikuti oleh etanol dan aseton.

Aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan rata-rata berkisar antara 93,03-97,15% pada kedua fraksi dan pelarut metanol, etanol, dan aseton. Gambar 4 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada fraksi dedak cenderung lebih besar dibanding fraksi biji sosoh. Hal ini dikarenakan kadar fenol pada ekstrak antioksidan kasar dedak juga lebih tinggi dibanding biji sosoh. Lee *et al.* (2007) menyatakan bahwa secara umum konsentrasi senyawa fenolik mempunyai hubungan yang positif dengan aktivitas antioksidan. Telah diketahui bahwa

fenol sorgum mengandung tanin yang bertanggungjawab terhadap tingginya aktivitas antioksidan sorgum cokelat. Tanin diketahui mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan senyawa fenol lainnya dan bertanggungjawab terhadap tingginya antioksidan dari sorgum cokelat (Awika *et. al.*, 2003).



Gambar 4. Grafik pengaruh fraksi dan jenis pelarut terhadap aktivitas antioksidan pada ekstrak antioksidan kasar sorgum

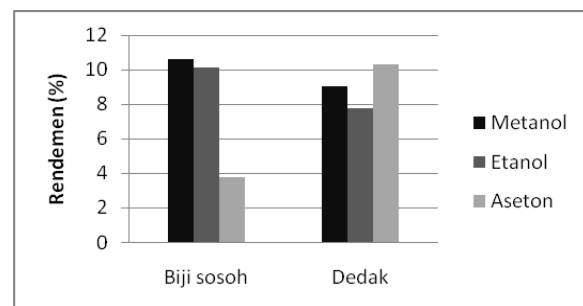
Urutan jenis pelarut yang menghasilkan aktivitas antioksidan mulai dari yang tertinggi pada fraksi biji sosoh adalah etanol > metanol > aseton, sedangkan pada fraksi dedak adalah metanol > etanol > aseton. Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari hasil perlakuan fraksi dedak dengan jenis pelarut metanol sedangkan aktivitas antioksidan terendah pada perlakuan fraksi biji sosoh dengan jenis pelarut aseton.

Tingkat kepolaran yang berbeda-beda menyebabkan senyawa antioksidan yang terekstrak juga akan berbeda. Selanjutnya besar aktivitas antioksidan yang dihasilkan berbeda-beda pula. Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh dari perlakuan jenis pelarut etanol (pada biji sosoh) dan metanol (pada dedak). Metanol dan etanol bersifat lebih polar dibanding aseton. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa antioksidan didalam sorgum yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi lebih mudah terekstrak oleh jenis pelarut yang bersifat lebih polar, dengan kata lain senyawa antioksidan didalam sorgum yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi juga bersifat polar. Fenol merupakan senyawa antioksidan polar yang yang terkandung di

dalam sorgum cokelat. Lee *et. al.* (2007) menyatakan bahwa secara umum konsentrasi senyawa fenolik mempunyai hubungan yang positif dengan aktivitas antioksidan. Tanin mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan senyawa fenol lainnya dan bertanggungjawab terhadap tingginya antioksidan dari sorgum cokelat (Awika *et. al.*, 2003).

Rendemen

Rendemen rata-rata ekstrak antioksidan kasar sorgum berkisar antara 3,74–10,58%. Gambar 5 menunjukkan bahwa rendemen ekstrak antioksidan kasar yang diekstrak dengan beberapa jenis pelarut pada fraksi biji sosoh dan fraksi dedak memiliki kecenderungan yang tidak sama. Penggunaan jenis pelarut yang berbeda juga berpengaruh pada rendemen. Urutan jenis pelarut yang menghasilkan rendemen mulai dari yang tertinggi, pada fraksi biji sosoh, adalah metanol > etanol > aseton, sedangkan pada fraksi dedak adalah aseton > metanol > etanol. Rendemen tertinggi diperoleh dari perlakuan fraksi biji sosoh dengan jenis pelarut metanol sedangkan rendemen terendah diperoleh dari hasil perlakuan fraksi biji sosoh dengan jenis pelarut aseton.



Gambar 5. Grafik pengaruh fraksi dan jenis pelarut terhadap rendemen pada ekstrak antioksidan kasar sorgum

Perlakuan jenis pelarut metanol pada fraksi biji sosoh memberikan hasil rendemen ekstrak antioksidan kasar yang lebih tinggi dibanding aseton. Hal ini dapat dikarenakan metanol tidak hanya mengekstrak senyawa antioksidan yang bersifat polar tetapi juga mengekstrak

senyawa lain yang juga dapat terlarut dalam pelarut polar misalnya air, protein, dan karbohidrat. Aseton memiliki tingkat kepolaran yang paling rendah sehingga nilai rendemen yang dihasilkan juga paling kecil. Wang *et. al.* (1993) *dalam* Oufnac *et. al.* (2007) melaporkan bahwa pelarut metanol tidak hanya mengekstrak lemak dan molekul-molekul berukuran kecil yang bersifat polar, tetapi juga beberapa molekul-molekul berukuran besar yang bersifat polar seperti protein-protein yang terlarut dalam alkohol dan karbohidrat dari dedak gandum.

Dedak sorgum dengan perlakuan jenis pelarut aseton menghasilkan rendemen ekstrak antioksidan kasar dengan nilai tertinggi. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut aseton yang memiliki tingkat kepolaran yang rendah dapat mengekstrak senyawa polar sekaligus memiliki kemampuan yang cukup tinggi untuk mengekstrak senyawa non polar. Oufnac *et. al.* (2007) menyatakan bahwa pelarut aseton akan lebih mengekstrak senyawa yang kurang polar seperti trigliserida, fitosterol, dan fosfolipid. Metanol memiliki kemampuan yang lebih tinggi untuk melarutkan senyawa polar dibandingkan dengan kemampuan etanol, sehingga rendemen ekstrak antioksidan kasar dedak hasil ekstraksi dengan pelarut metanol juga lebih tinggi dibanding etanol.

Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik ekstrak antioksidan kasar biji sosoh dan dedak sorgum ditentukan dengan menggunakan metode indeks efektifitas dengan hasil ditunjukkan Tabel 1.

Tabel 1. Data hasil perlakuan terbaik

Parameter	Biji Sosoh (Etanol)	Dedak (Metanol)
Fenol (mg/g)	100,28	89,75
Antosianin (ppm)	28,34	50,70
Tokoferol (mg/mL)	2,25	10,55
Aktivitas Antioksidan (%)	95,69	97,15
Rendemen (%)	10,11	9,02

Peningkatan Antioksidan dengan Metode Perkecambahan

Hasil analisis ekstrak antioksidan hasil aplikasi perkecambahan pada biji sosoh dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh perkecambahan terhadap parameter ekstrak antioksidan kasar

Parameter	Tanpa di-kecambahkan	Dikecambahkan
Fenol (mg/g)	100,28	108,671
Antosianin (ppm)	28,341	35,799
Tokoferol (mg/mL)	2,245	2,968
Aktivitas Antioksidan (%)	95,693	98,004
Rendemen (%)	10,105	16,936

Berdasarkan data pada Tabel 2 diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan nilai kadar fenol yang signifikan antara ekstrak antioksidan kasar biji sosoh yang dikecambahkan (108,67 mg/g) dengan yang tanpa dikecambahkan (100,28 mg/g). Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Lee *et al.* (2007) bahwa selama perkecambahan terjadi pemecahan dinding sel sehingga meningkatkan total fenol ekstrak beras pecah kulit dari 2,6; 2,1; dan 4,9 sebelum dikecambahkan menjadi 3,3; 3,1; dan 7,9 mg/g setelah dikecambahkan. Peningkatan total fenol dikarenakan perkecambahan melepaskan senyawa fenol yang terikat (Goupy *et. al.*, 1999; Maillard, *et. al.*, 1996; Maillard and Berset, 1995 *dalam* Pike, 2007).

Metode perkecambahan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan metode perkecambahan *oat* hasil penelitian Pike *et al.* (2007) yang telah dimodifikasi. Berbeda dengan sorgum, *oat* merupakan jenis sereal yang tumbuh di daerah beriklim dingin. Meskipun telah dimodifikasi, metode perkecambahan tersebut belum mampu meningkatkan nilai kadar fenol pada biji sosoh. Diduga metode perkecambahan *oat* tersebut kurang tepat untuk diterapkan pada sorgum. Kadar fenol terekstrak pada ekstrak antioksidan biji sosoh yang dikecambahkan sebesar

96,51%. Nilai ini mengalami peningkatan bila dibandingkan dengan ekstrak antioksidan biji sosoh tanpa dikecambahkan yakni sebesar 95,07%.

Hasil uji-t kadar antosianin juga menunjukkan hasil bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak antioksidan kasar biji sosoh tanpa dikecambahkan dengan yang dikecambahkan yakni sebesar 28,34 dan 35,80 ppm, secara berurutan. Antosianin merupakan turunan dari senyawa fenol. Tidak adanya perbedaan yang signifikan pada senyawa fenol menyebabkan kadar antosianin juga tidak meningkat secara signifikan. Nilai % antosianin terekstrak pada ekstrak antioksidan biji sosoh yang dikecambahkan sebesar 28,45%. Nilai ini mengalami peningkatan yang cukup tinggi bila dibandingkan dengan ekstrak antioksidan biji sosoh yang tidak dikecambahkan yakni sebesar 14,26%.

Kadar tokoferol tidak meningkat signifikan antara ekstrak antioksidan biji sosoh tanpa dikecambahkan dengan yang dikecambahkan yakni 2,25 dan 2,97 mg/mL, secara berurutan. Hal ini dikarenakan proses perkecambahan yang kurang tepat sehingga sintesis vitamin E yang terjadi selama perkecambahan juga sedikit. Aktivitas antioksidan mengalami peningkatan yang signifikan yakni sebesar 95,69 menjadi 98,00% pada ekstrak antioksidan biji sosoh yang tidak dikecambahkan dengan yang dikecambahkan, secara berurutan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Briggs (1998) dalam Pike (2007) bahwa perkecambahan diketahui dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dalam biji sereal.

Peningkatan aktivitas antioksidan dapat disebabkan karena total fenol dan kadar antosianin serta kadar kadar mengalami peningkatan. Meskipun peningkatan masing-masing kandungan antioksidannya tidak signifikan, namun diduga total kandungan dari ketiga antioksidan tersebut dapat meningkatkan aktivitas antioksidan totalnya secara signifikan. Berdasarkan laporan hasil penelitian, terdapat hubungan yang berbanding lurus antara aktivitas

penangkapan radikal oleh DPPH dengan konsentrasi kandungan senyawa fenol (Isabel *et. al.*, 2007 dalam Lee *et. al.*, 2007).

Peningkatan aktivitas antioksidan juga dapat dikarenakan selama perkecambahan juga terjadi sintesa beberapa jenis vitamin yang mempunyai kemampuan sebagai antioksidan. Nutrisi kecambah tanaman polong ditingkatkan melalui meningkatnya daya cerna protein, adanya asam amino, dan vitamin tertentu, termasuk tiamin, riboflavin, niasin, dan asam askorbat (Lee *et al.*, 2007).

Uji-t rendemen menunjukkan perbedaan yang signifikan antara ekstrak antioksidan biji sosoh tanpa dikecambahkan dengan yang dikecambahkan yakni 10,11 dan 16,94%, secara berurutan. Selama proses perkecambahan terjadi hidrolisis pati menjadi molekul yang lebih kecil sehingga lebih dapat diekstrak oleh pelarut etanol. Selain itu juga terjadi peningkatan kadar fenol, kadar antosianin, dan kadar tokoferol sehingga nilai rendemen juga meningkat. Lee *et. al.* (2007) melaporkan hasil penelitiannya bahwa perkecambahan meningkatkan rendemen ekstraksi beras pecah kulit secara signifikan, yaitu 4,5 dan 3,02% sebelum dikecambahkan menjadi 7,11 dan 7,18%. Ekstraksi meningkat selama perkecambahan karena jumlah pati yang terlarut juga meningkat dengan adanya hidrolisis pati.

Peningkatan Antioksidan dengan Metode Gelombang Mikro

Hasil analisis uji-t ($\alpha=0,05$) menunjukkan bahwa metode gelombang mikro berpengaruh nyata terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan, tetapi tidak berbeda nyata terhadap kadar fenol, kadar antosianin. Khusus pada analisis kadar tokoferol, tidak dilakukan pengulangan dalam pengujian sehingga tidak dapat dilakukan perhitungan uji-t. Hasil analisis uji-t ($\alpha=0,05$) terhadap ekstrak antioksidan kasar dedak metode ekstraksi konvensional dan metode gelombang mikro dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Pengaruh gelombang mikro terhadap parameter ekstrak antioksidan kasar

Parameter	Konvensional	Gelombang Mikro
Fenol (mg/g)	89,75	113,71
Antosianin (ppm)	50,70	48,68
Tokoferol (mg/ml)	10,55	17,40
Aktivitas Antioksidan (%)	97,15	98,71
Rendemen (%)	9,02	12,47

Tabel 3 menunjukkan bahwa tidak terdapat peningkatan kadar fenol yang signifikan antara ekstrak antioksidan dedak yang diekstrak menggunakan metode konvensional dengan metode gelombang mikro yakni 89,75 dan 113,71 mg/g. Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan hasil penelitian Oufnac *et al.* (2007) pada dedak gandum yang menunjukkan bahwa ekstraksi pelarut menggunakan metanol dengan gelombang mikro meningkatkan secara signifikan kadar senyawa fenol total dari 241,3 menjadi 467,5 dan 489,5 μg katekin ekuivalen ketika digunakan suhu 100 dan 120°C secara berturut-turut. Peningkatan suhu ekstraksi dan energi gelombang mikro akan memutuskan atau meningkatkan hidrolisis ikatan-ikatan pada beberapa ikatan senyawa fenol dan menyebabkannya menjadi lebih mudah untuk diekstrak.

Perbedaan hasil antara penelitian ini dengan literatur tersebut karena adanya perbedaan suhu yang digunakan. Suhu yang digunakan dalam penelitian ini adalah 60°C sedangkan suhu yang digunakan dalam penelitian tersebut adalah 100 dan 120°C. Suhu yang lebih tinggi menyebabkan hidrolisis ikatan-ikatan pada beberapa ikatan senyawa fenol juga meningkat. Nilai % fenol terekstrak pada ekstrak antioksidan dedak metode gelombang mikro sebesar 98,27%. Nilai ini mengalami peningkatan yang cukup tinggi bila dibandingkan dengan ekstrak antioksidan dedak metode konvensional yakni sebesar 76,64%.

Kadar antosianin ekstrak antioksidan kasar yang diekstrak menggunakan metode gelombang mikro mengalami pe-

nurunan yang tidak signifikan dibandingkan dengan yang diekstrak menggunakan metode konvensional yakni 48,68 dan 50,70 ppm. Gelombang mikro yang digunakan menyebabkan suhu ekstraksi meningkat menjadi 60°C. Hal ini dapat menyebabkan sebagian kecil senyawa antosianin terdegradasi sehingga nilainya berkurang ketika dilakukan pengukuran. Nilai % antosianin terekstrak pada ekstrak antioksidan bekatul metode gelombang mikro sebesar 14,57%. Nilai ini mengalami peningkatan bila dibandingkan dengan ekstrak antioksidan dedak metode konvensional yakni sebesar 12,78%.

Kadar tokoferol ekstrak antioksidan dedak yang diekstrak dengan metode gelombang mikro mempunyai kadar tokoferol yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang diekstrak dengan metode konvensional yakni 17,40 dan 10,55 mg/mL. Dapat dikatakan bahwa gelombang mikro dapat meningkatkan kadar tokoferol dedak secara signifikan.

Hasil penelitian Oufnac *et al.* (2007) pada dedak gandum menunjukkan bahwa ekstraksi pelarut menggunakan metanol dengan gelombang mikro meningkatkan secara signifikan kadar tokoferol total dari 14,8 menjadi 18,7 dan 19,5 μg berturut-turut pada suhu ekstraksi 100 dan 120°C. Sama halnya dengan ekstraksi senyawa fenol, kondisi ekstraksi dengan suhu tinggi dan energi gelombang mikro dapat melepaskan tokoferol yang teresterifikasi menjadi bentuk yang lebih mudah diekstrak.

Uji-t aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan antara ekstrak antioksidan dedak yang diekstrak dengan metode konvensional dan dengan gelombang mikro yakni 95,33 dan 97,60%. Peningkatan aktivitas antioksidan yang signifikan pada ekstrak antioksidan yang diekstrak dengan metode gelombang mikro dikarenakan total fenol dan kadar antosianin serta kadar tokoferol mengalami peningkatan. Meskipun hanya kadar tokoferol yang meningkat signifikan, namun peningkatan kandungan dari ketiga anti-

oksidan tersebut dapat meningkatkan aktivitas antioksidan totalnya secara signifikan.

Ekstraksi dengan gelombang mikro pada suhu 100 dan 120°C meningkatkan kadar tokoferol menjadi 18,7 dan 19,5 µg/mL (Oufnac *et. al.*, 2007). Terdapat hubungan yang berbanding lurus antara aktivitas penangkapan radikal oleh DPPH dengan konsentrasi kandungan senyawa fenol (Isabel, *et. al.*, 2007 dalam Lee, *et. al.*, 2007).

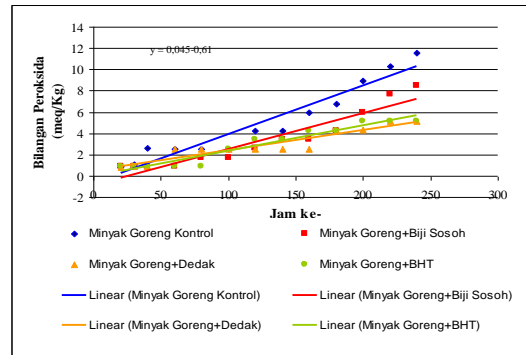
Uji-t rendemen menunjukkan perbedaan yang signifikan antara ekstrak antioksidan kasar dari dedak yang diekstrak menggunakan metode konvensional dan metode gelombang mikro yakni 9,02 dan 12,47%. Penggunaan gelombang mikro dapat meningkatkan pelepasan senyawa-senyawa mikro yang ada dalam bahan pangan sehingga dapat terekstrak oleh pelarut. Berdasarkan laporan penelitian yang telah dilakukan, ekstraksi pelarut dengan gelombang mikro dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa-senyawa kecil dari makanan dan lemak (Camel, 2000; Eskilsson dan Bjorklund, 2000; Kornilova dan Rosell-Mele, 2003 dalam Oufnac *et. al.*, 2007).

Aplikasi Ekstrak Antioksidan Kasar pada Minyak Goreng

Ekstrak antioksidan kasar hasil perlakuan terbaik dari proses ekstraksi antioksidan sorgum tahap I diaplikasikan pada minyak goreng. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pembentukan peroksida yang terjadi pada minyak goreng yang diberi antioksidan. Aplikasi dilakukan pada minyak goreng sehingga menghasilkan 4 macam sampel yaitu minyak goreng tanpa penambahan ekstrak antioksidan (kontrol), minyak goreng dengan penambahan ekstrak antioksidan biji sosoh sorgum 2500 µg/g, minyak goreng dengan penambahan ekstrak antioksidan dedak sorgum 2500 µg/g, dan minyak goreng dengan penambahan antioksidan sintesis BHT 75 µg/g.

Aplikasi pada penelitian ini, keempat sampel disimpan pada suhu 60°C di dalam

oven listrik selama 10 hari. Analisis bilangan peroksida dilakukan setiap 20 jam sekali, mulai jam ke 0–240. Grafik perubahan bilangan peroksida hasil aplikasi pada minyak goreng selama 10 hari tertera pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik perubahan bilangan peroksida pada minyak goreng

Gambar 6 menunjukkan bahwa bilangan peroksida semakin meningkat ketika waktu penyimpanan sampel semakin lama. Suhu penyimpanan 60°C jauh lebih tinggi dibanding suhu ruang sehingga juga meningkatkan laju dan jumlah peroksida yang terbentuk. Peroksida merupakan hasil dari proses oksidasi. Semakin tinggi laju pembentukan peroksida, berarti bahwa laju proses oksidasi juga semakin meningkat.

Gambar 6 juga menunjukkan bahwa minyak goreng kontrol memiliki nilai *slope* sebesar 0,045, minyak goreng yang ditambahkan ekstrak antioksidan biji sosoh sorgum sebesar 0,034, minyak goreng yang ditambahkan ekstrak antioksidan dedak sorgum sebesar 0,019, dan minyak goreng yang ditambahkan BHT sebesar 0,024. Nilai *slope* yang besar menunjukkan peningkatan bilangan peroksida yang signifikan. Nilai *slope* yang kecil menunjukkan kenaikan bilangan peroksida tidak signifikan. Berdasarkan nilai *slope*, maka dapat disimpulkan bahwa urutan sampel yang mengalami peningkatan bilangan peroksida dari yang paling tajam adalah minyak goreng kontrol, minyak goreng yang ditambahkan ekstrak antioksidan biji sosoh sorgum, minyak goreng yang ditambahkan BHT, dan minyak go-

reng yang ditambahkan ekstrak antioksidan dedak sorgum.

Minyak goreng kontrol mengalami peningkatan bilangan peroksida yang paling tajam. Sampel minyak sawit kontrol mengandung antioksidan alami antara lain karotenoid, tokoferol dan tokotrienol, namun konsentrasinya lebih rendah dibanding minyak goreng yang telah ditambahkan ekstrak antioksidan alami ataupun antioksidan sintetis sehingga kemampuan penghambatannya terhadap proses oksidasi juga lebih rendah. Raharjo (2007) menyatakan bahwa pada minyak nabati secara alami mengandung senyawa-senyawa antioksidan misalnya karotenoid, tokoferol, dan tokotrienol.

Minyak goreng yang ditambahkan ekstrak antioksidan dedak sorgum mengalami peningkatan bilangan peroksida yang paling kecil. Hal ini menunjukkan bahwa minyak goreng yang ditambahkan ekstrak antioksidan kasar dedak sorgum mengalami oksidasi yang paling rendah dibanding sampel minyak goreng yang lain, dengan kata lain aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh ekstrak antioksidan kasar dedak sorgum lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas antioksidan yang lain yang digunakan pada penelitian ini.

Ekstrak antioksidan dari biji sosoh dan bekatul sorgum mengandung senyawa fenol (termasuk didalamnya antosianin) dan tokoferol yang bertindak sebagai antioksidan primer. Senyawa fenol dan tokoferol mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan radikal lemak sehingga mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil dan proses oksidasi lebih lanjut dapat dihentikan. Radikal bebas senyawa fenol maupun tokoferol yang terbentuk karena telah mendonorkan hidrogennya bersifat lebih stabil daripada radikal bebas lemak sehingga tidak terjadi oksidasi lanjutan.

Antioksidan primer dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lemak (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil (Gordon, 1990). Senyawa-senyawa fenol berperan sebagai antioksidan, yakni mampu mengikat ion-

ion radikal bebas (Lee, *et. al.*, 2007). Radikal bebas antioksidan ini lebih stabil daripada radikal bebas lemak karena struktur resonansi elektron dalam cincin aromatik antioksidan. Struktur resonansi elektron tersebut akan menghentikan reaksi oksidasi berantai.

SIMPULAN

Ekstraksi antioksidan tahap I menunjukkan hasil bahwa fraksi sorgum tidak berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap semua parameter, yaitu kadar fenol, kadar antosianin, kadar tokoferol, aktivitas antioksidan, dan rendemen. Jenis pelarut berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap parameter kadar fenol, kadar antosianin, aktivitas antioksidan, dan rendemen, namun tidak berpengaruh nyata ($\alpha=0,05$) terhadap kadar tokoferol.

Hasil terbaik dari ekstraksi antioksidan tahap I yakni pelarut terbaik untuk fraksi biji sosoh adalah etanol. Fraksi dedak menunjukkan hasil yang terbaik ketika diekstrak menggunakan pelarut metanol.

Ekstraksi antioksidan tahap II menunjukkan hasil bahwa perkecambahan meningkatkan secara signifikan ($\alpha=0,05$) aktivitas antioksidan dan rendemen ekstrak antioksidan kasar biji sosoh sorgum. Gelombang mikro menyebabkan peningkatan yang signifikan ($\alpha=0,05$) pada kadar tokoferol, aktivitas antioksidan, dan rendemen ekstrak antioksidan kasar dedak sorgum.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada *Higher Education Implementing Unit* (HEI-IU), Universitas Brawijaya atas dukungan dalam pembiayaan Program *Research Grant* IMHERE, Tahun 2008, serta Imroatul Husnah Indahwati, selaku mahasiswa yang sudah membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Awika, J. M., L. W. Rooney, and R. D. Waniska. 2000. Comparing Antioxidant Potential of High Tannin Sorghums With Those of Common Fruits. Texas A&M University, Cereal Quality Lab, 2474 TAMUS, College Station, TX 77843-2474 USA
- Awika, J. M., L. W. Rooney, and X. Wu. 2003. Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (*Sorghum bicolor*) and sorghum products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 6657-6662
- Awika, J. M., L. W. Rooney, and R. D. Waniska. 2004. Properties of 3-deoxyanthocyanin from Sorghum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4388-4394
- Decker, E., G. Beecher, J. Slavin, H. E. Miller, and L. Marquart. 2002. Whole grain as a source of antioxidants. *Cereal Foods Worlds* 47(8): 370 – 373
- Gordon, M. H. 1990. The Mechanism of Antioxidants Action *In vitro*. Dalam B.E.J. Hudson. Food Antioxidant. Elsevier Applied Science, London
- Harbone, J. B. 1996. Phitochemistry Method. Diterjemahkan oleh Patma W.K. dan Soediro. Metode Fitokimia. Penerbit ITB, Bandung
- Lee, Y. R., K. S. Woo, K. J. Kim, J. R. Son, and H.S. Jeong .2007. Antioxidant activities of ethanol extracts from germinated specialty rough rice. *Food Science Biotechnology* 16(5): 765-770
- Peltonen, L., P. Koistinen, M. Karjalainen, A. Hakkinen, and J. Hirvonen. 2002. The effect of cosolvents on the formulation of nanoparticles from low-molecular weight poly(L) lactide. *AAPS PharmSciTech* 3 (4): 32
- Pike, P. R., E. M. Abdel-Aal, and A.R. McElroy. 2007. Antioxidant activity of oat malt extracts in accelerated corn oil oxidation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84(7): 663 – 667
- Oufnac, D. S., Z. Xu, T. Sun, C. Sabliov, W. Prinyawiwatkul, and J. S. Godber. 2007. Extraction of antioxidants from wheat bran using conventional solvent and microwave-assisted methods. *Cereal Chemistry* 84(2): 125 – 129
- Raharjo, S. 2007. Strategi menghindari kerusakan mutu produk pangan goreng. *Food Review* 2(10)