OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI KAROTENOID DAN KLOROFIL MINYAK BEKATUL PADI

Fajriyati Mas'ud[1)], Herman Bangngalino[1)], Muhammad Yusuf[1)], Pabbenteng[2)]
[1)] *Dosen Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang, Makassar*
[2)] *PLP Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang, Makassar*

ABSTRACT

This study examines the optimization of rice bran oil extraction which contain maximum carotenoid and chlorophyl. The study applies the Response Surface Methodology, a Central Composite Design model that uses the variables of temperature, time, and volume of ethanol as a solvent. The midpoint of the design is a temperature of 80ºC, a time of 1.5 h, and a volume of ethanol of 450 mL, the parameters studied were total carotenoids and chlorophyl of rice bran oil. The result showed that in the reflux method of extracting rice bran oil, carotenoid and chlorophyl were obtained of 9.93 mg/kg and 11.59 mg/kg, respectively. The process caried out under process conditions of 75.85ºC, 1.2 h, and the volume of ethanol was 548.4 mL/100 g of rice bran. The ethanol is suitable for the extraction of carotenoid and chlorophyl in rice bran.

Keywords: *carotenoid, chlorophyl, response surface methodology*

1. PENDAHULUAN

Karotenoid merupakan pigmen yang memberikan warna kuning, jingga hingga merah, serta pigmen pendamping klorofil yang berfungsi untuk penyerapan energi cahaya pada proses fotosintesis. Sumber karotenoid utama adalah tumbuhan, yang apabila dikonsumsi maka akan dimetabolisme dan terakumulasi dalam tubuh. Terdapat lebih dari 3000 jenis karotenoid, dan beberapa jenis telah diketahui memiliki manfaat bagi kesehatan. Beberapa studi telah melaporkan manfaat karotenoid sebagai antioksidan, antikanker, dan membantu memelihara kesehatan penglihatan/mata. Antioksidan berfungsi sebagai pemadam (*quencher*) oksigen singlet dan penangkal radikal bebas, proses ini berlangsung dalam sistem fotosintesis tumbuhan, dan juga dalam tubuh manusia maupun hewan. Karotenoid merupakan rantai polyene panjang yang memiliki 35-40 atom karbon, rantai polyene tersebut yang bertanggung jawab dalam fungsinya sebagai antioksidan pada karotenoid [1]. Oksigen singlet adalah molekul oksigen yang sangat reaktif, dapat menginisiasi peroksida lipid hingga terjadi reaksi berantai radikal bebas yang dapat mengoksidasi komponen sel lain, seperti protein dan DNA, yang dapat memicu penuaan dini pada manusia.

Salah satu fungsi penting karotenoid adalah sebagai prekursor vitamin A yang akan diubah oleh tubuh menjadi vitamin A [2]. Vitamin A sangat berguna dalam membantu proses penglihatan, pertumbuhan tulang dan gigi, reproduksi, pertahanan. keutuhan jaringan epitel, kekebalan tubuh, pembentukan dan pemeliharaan sel-sel kulit, saluran pencernaan dan selaput kulit, serta dapat mencegah timbulnya penyakit kanker [3]. Ekstrak karotenoid telah diaplikasikan dalam berbagai produk pangan, farmasi dan produk nutrasetikal. Saat ini, prospek pemanfaatan karotenoid sebagai pewarna alami dan produk nutrasetikal sudah sangat berkembang, sehingga sangat penting dipelajari sumber-sumber dan metode ekstraksinya.

Klorofil merupakan faktor utama yang berpengaruh pada fotosintesis. Fotosintesis adalah proses perubahan senyawa anorganik (CO_2 dan H_2O) menjadi senyawa organik (karbohidrat) dan O_2 dengan bantuan sinar matahari. Tiga fungsi utama klorofil yaitu pada pemanfaatan energi matahari, pemicu fiksasi CO_2 untuk menghasilkan karbohidrat, dan menyediakan energi bagi ekosistem secara keseluruhan. Karbohidrat yang dihasilkan dalam fotosintesis diubah menjadi lemak, protein, asam nukleat, dan molekul organik lainnya. Klorofil tidak dapat larut dalam air, tetapi dapat larut dalam berbagai jenis pelarut organik seperti mudah larut dalam ethyl-alkohol, ethyl ether, aseton, khloroform dan karbon-bisulfida.

Bekatul padi merupakan hasil samping penggilingan beras yang saat ini hanya dimanfaatkan untuk pakan ternak dan belum banyak dimanfaatkan sebagai sumber pangan manusia. Bekatul padi mengandung minyak yang dapat dimakan (*edible oil*) sehingga sangat potensial dikembangkan sebagai sumber minyak nabati. Saat ini pemanfaatan bekatul padi masih sebatas pakan ternak, sehingga perlu dikaji pemanfatannya sebagai bahan pangan. Minyak bekatul padi mengandung karotenoid dan klorofil yang telah diketahui sangat bermanfaat bagi kesehatan, sehingga perlu dikaji metode optimasi proses ekstraksinya untuk dapat dihasilkan produk minyak bekatul padi yang berkualitas tinggi.

[1] Korespondensi penulis: Fajriyati Mas'ud, Telp 081355033369, fajri888@poliupg.ac.id

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini mengaplikasikan metode refluks menggunakan pelarut etanol untuk mengekstraksi minyak bekatul padi. Bekatul padi distabilisasi terlebih dahulu pada suhu 100ºC selama 5 menit untuk menonaktifkan lipase penyebab ketengikan, selanjutnya diekstraksi pada suhu, waktu, dan jumlah etanol sesuai perlakuan. Penelitian menggunakan rancangan *Response Surface Methodology model Central Composite Design*. Titik tengah perlakuan yaitu pada suhu 80ºC, 90 menit (1,5 jam), dan 450 mL etanol, dan disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 15 menit, pelarut dievaporasi sehingga diperoleh minyak bekatul padi. Data diolah menggunakan software Design Expert 6.0.

Analisis karotenoid menggunakan metode spektrofotometri [4]. Minyak bekatul padi dilarutkan dalam hexan 10% (berat/volume) kemudian disaring, konsentrasi karotenoid diketahui dari absorbandi pada 446 nm dalam satuan mg/kg. Konsentrasi karotenoid dihitung dengan rumus:

$$C=\frac{383A_{446}}{Lc};$$

dimana C adalah konsentrasi karotenoid mg/kg, A adalah absorbansi pada 446 nm, L adalah panjang kuvet (cm), c adalah konsentrasi minyak dalam hexan (g/100mL), dan 383 adalah koefisien eextinction untuk karotenoid.

Analisis klorofil menggunakan absorbandi pada panjang gelombang 630, 670, dan 710 nm [5] dan dihitung menggunakan rumus:

$$Cl=\frac{[\,A_{670}-(A_{360}+A_{710})/2V}{0{,}0964ML};$$

dimana Cl adalah konsentrasi klorofil (mg/kg), A630, A670 dan A710 absorbansi (nm), V volume hexan (mL), L panjang kuvet (cm), M massa minyak (g)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi minyak bekatul padi pada studi ini menghasilkan yield sekitar 8%. Hasil optimasi proses ekstraksi menggunakan metode refluks menghasilkan sekitar 7-9 mg/kg karotenoid dan 9-11 mg/kg klorofil (Tabel 1). Efek perlakuan suhu, waktu, dan jumlah pelarut etanol terhadap kadar karotenoid dan klorofil yang terkandung pada minyak bekatul padi dapat dijelaskan seperti pada Gambar 1-6.

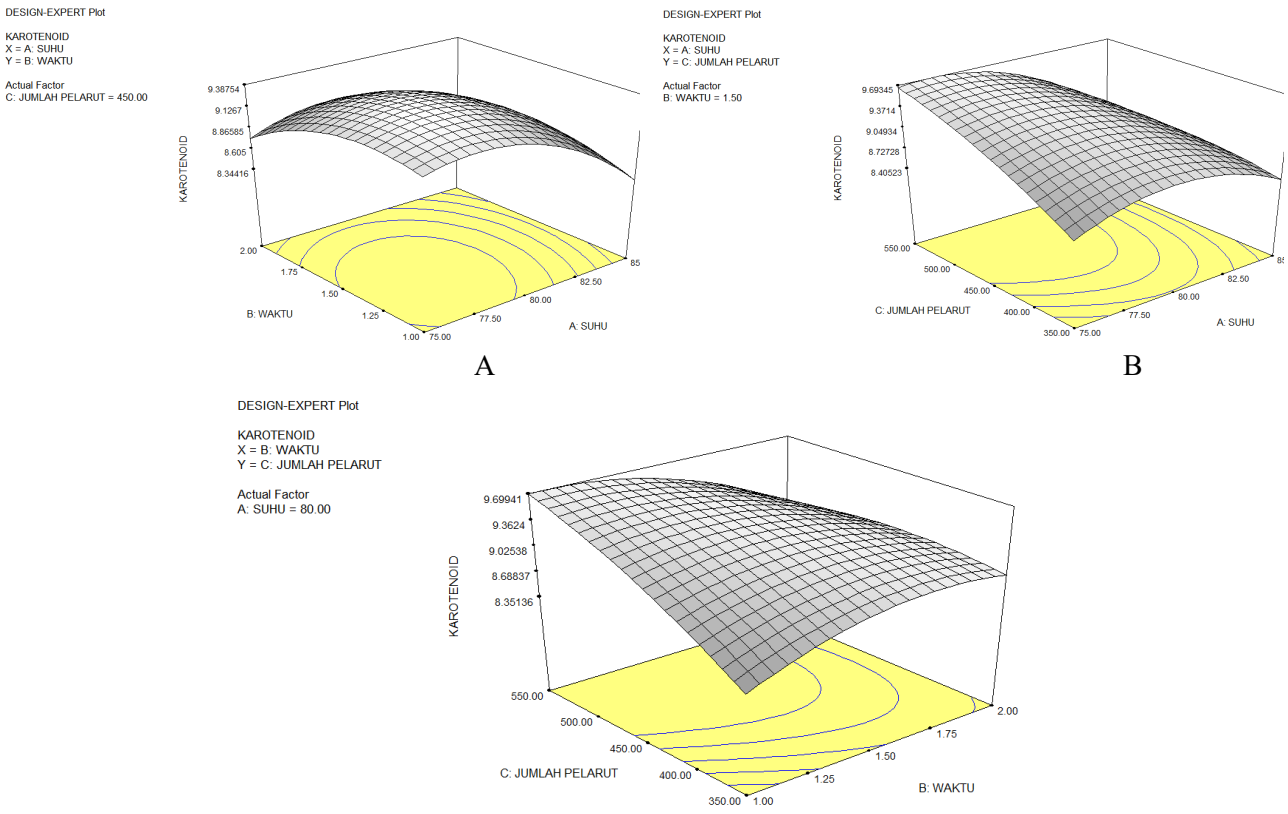
Gambar 1 memperlihatkan efek 2 variabel terhadap karotenoid pada saat 1 variabel lainnya konstan. Gambar 1A menjelaskan efek suhu dan waktu ekstraksi terhadap kadar karotenoid pada jumlah pelarut 450 mL, kelengkungan kurva hampir sama yang menjelaskan bahwa efek suhu dan waktu bersifat linier, semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu ekstraksi maka kerusakan karotenoid akan semakin besar, pada studi ini diperoleh data bahwa suhu dan waktu yang digunakan selama percobaan tidak banyak merusak karotenoid, hal ini ditunjang pula oleh metode ekstraksi refluks yang tertutup atau tidak berhubungan dengan oksigen, sebab penyebab utama hilangnya karotenoid adalah akibat oksidasi.

Gambar 1B menjelaskan efek suhu dan jumlah pelarut terhadap kadar karotenoid pada waktu ekstraksi 1.5 jam atau 90 menit. Kelengkungan kurva pada perlakuan suhu lebih cembung dibanding pada perlakuan jumlah pelarut, artinya bahwa jika terjadi kenaikan suhu yang kecil saja maka akan berefek merusak karotenoid lebih banyak dibanding jika terjadi perubahan jumlah pelarut. Beberapa faktor yang mempengaruhi proses oksidasi adalah suhu, cahaya, oksigen, matriks bahan, keasaman, kandungan air, enzim, antioksidan dan prooksidan [6]. Sebelumnya, telah dilaporkan juga bahwa jika oksigen dan sinar dihalangi maka karotenoid dapat stabil terhadap pemanasan bahkan pada suhu tinggi [7].

Gambar 1C memperlihatkan efek waktu ekstraksi dan jumlah pelarut pada saat suhu konstan 80ºC. Fenomena yang hampir sama pada Gambar 1B, kelengkungan kurva pada variable waktu lebih cembung dibanding jumlah pelarut, artinya bahwa efek waktu ekstraksi lebih kuat dibanding efek jumlah pelarut terhadap kerusakan karotenoid.

Tabel 1. Rancangan Percobaan dan hasil

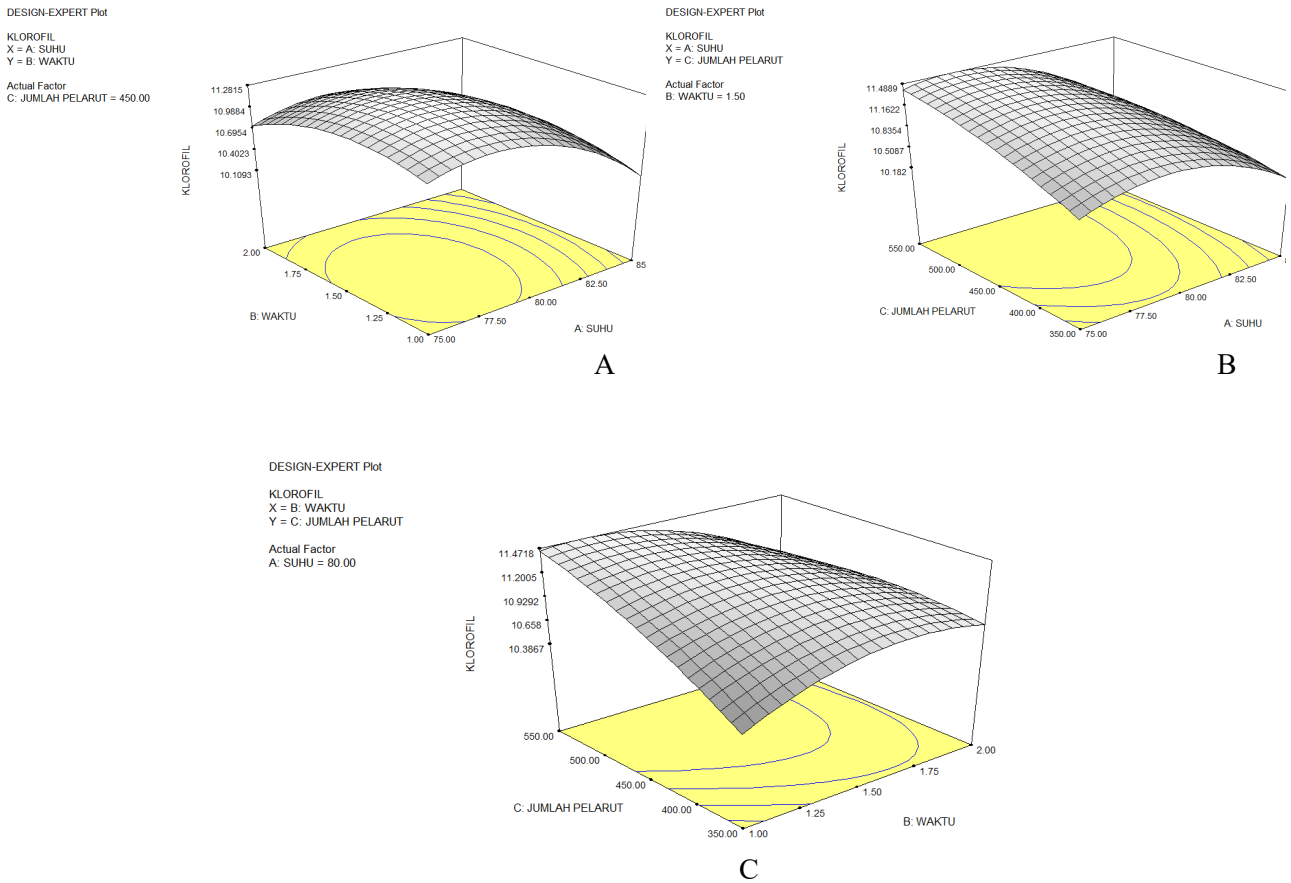
Run	Suhu (°C)	Waktu (jam)	Etanol (mL)	Karotenoid (mg/kg)	Klorofil (mg/kg)
1	75	1	350	8.03	10.07
2	85	1	350	7.65	9.46
3	75	2	350	8.15	10.15
4	85	2	350	8.47	10.26
5	75	1	550	9.73	11.1
6	85	1	550	8.59	10.48
7	75	2	550	8.73	10.68
8	85	2	550	7.75	9.64
9	72	1.5	450	8.93	10.94
10	88	1.5	450	7.78	9.4
11	80	0.7	450	8.93	10.92
12	80	2.3	450	8.57	10.48
13	80	1.5	282	8.53	10.63
14	80	1.5	618	9.68	11.59
15	80	1.5	450	9.02	11.05
16	80	1.5	450	8.98	10.93
17	80	1.5	450	9.93	11.37
18	80	1.5	450	9.48	11.26
19	80	1.5	450	9.26	11.42
20	80	1.5	450	9.12	11.12



Gambar 1. Efek perlakuan suhu, waktu, dan jumlah pelarut etanol terhadap kadar karotenoid minyak bekatul padi

Berdasarkan hasil analisis of varians diketahui bahwa untuk memperoleh kadar karotenoid yang maksimum pada ekstraksi minyak bekatul padi metode refluks sebaiknya dilakukan pada suhu 75,85ºC selama 1 jam 2 menit dan jumlah pelarut etanol 548,5 mL/100 g bekatul padi, pada kondisi tersebut dapat dihasilkan karotenoid sebesar 9,9 mg/kg. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa pada ekstraksi minyak bekatul padi metode refluks, penggunaan suhu hingga 75,85ºC dapat diekstraksi karotenoid yang semakin tinggi, tetapi jika suhu ekstraksi melebihi 75,85ºC maka perolehan kadar karotenoid minyak bekatul padi akan menurun, fenomena yang sama terjadi jika proses ekstraksi dilakukan hingga 1 jam 2 menit maka akan diperoleh karotenoid yang tertinggi, tetapi jika waktu ekstraksi melebihi 1 jam 2 menit maka perolehan karotenoid akan menurun, lebih lanjut dapat dijelaskan bahwa jumlah karotenoid akan semakin banyak jika digunakan pelarut etanol hingga 548,5 mL/100 g, dan apabila jumlah etanol melebihi jumlah tersebut maka perolehan karotenoid dalam minyak bekatul padi akan menurun, hal ini terjadi karena pelarut memiliki batas kemampuan untuk melarutkan bahan dalam jumlah tertentu. Hasil tersebut juga sejalan dengan studi sebelumnya yang mengkaji efek suhu, waktu dan jumlah pelarut terhadap beberapa komponen fungsional yang terkandung pada minyak nabati selama proses ekstraksi [8], [9], [10].

Gambar 2 memperlihatkan efek 2 variabel terhadap klorofil pada saat 1 variabel lainnya konstan. Gambar 2A menjelaskan efek suhu dan waktu ekstraksi terhadap kadar klorofil pada jumlah pelarut 450 mL, kelengkungan kurva hampir sama yang menjelaskan bahwa efek suhu dan waktu bersifat linier, semakin tinggi suhu dan semakin lama waktu ekstraksi maka kerusakan klorofil akan semakin besar. Studi yang mempelajari efek pemanasan terhadap klorofil melaporkan bahwa pemanasan dapat mendegradasi klorofil menjadi turunannya, selain itu juga dilaporakan bahwa klorofil mengalami penurunan seiring bertambahnya waktu pemanasan.



Gambar 2. Efek perlakuan suhu, waktu, dan jumlah pelarut etanol terhadap kadar klorofil minyak bekatul padi

Gambar 2B menjelaskan efek suhu dan jumlah pelarut terhadap kadar karotenoid pada waktu ekstraksi 1.5 jam atau 90 menit. Kelengkungan kurva pada perlakuan suhu lebih cembung dibanding pada perlakaun jumlah pelarut, artinya bahwa jika terjadi kenaikan suhu yang kecil saja maka akan berefek merusak klorofil

lebih banyak dibanding jika terjadi perubahan jumlah pelarut. Etanol adalah pelarut semi polar. Efek pelarut etanol terhadap klorofil telah dilaporkan oleh Dias dkk [11], dijelaskan bahwa klorofil a dan klorofil b adalah dua jenis klorofil yang terdapat pada tanaman. Klorofil a bersifat kurang polar, berwarna biru hijau dan mempunyai gugus metil (CH_3), sedangkan klorofil b bersifat polar, berwarna kuning hijau dan mengikat gugus formil (CHO). Pelarut yang bersifat polar lebih baik untuk mengekstraksi klorofil, namun penggunaan pelarut etanol lebih aman untuk digunakan pada pangan.

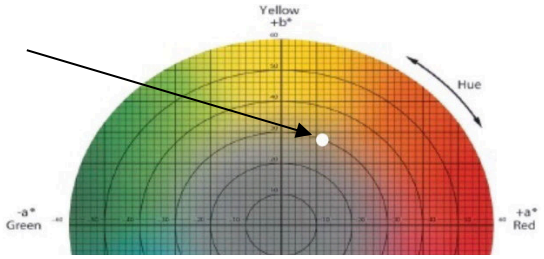
Gambar 2C memperlihatkan efek waktu ekstraksi dan jumlah pelarut pada saat suhu konstan 80^{o}C, kelengkungan kurva pada variable waktu lebih cembung dibanding jumlah pelarut, artinya bahwa efek waktu ekstraksi lebih kuat dibanding efek jumlah pelarut terhadap kerusakan klorofil. Sebagaimana telah dijelaskan bahwa efek suhu dan waktu terhadap klorofil selama proses ekstraksi akan berjalan linier.

Berdasarkan hasil analisis of varians diketahui bahwa untuk memperoleh kadar klorofil yang maksimum pada ekstraksi minyak bekatul padi metode refluks sebaiknya dilakukan pada suhu 75,85^{o}C selama 1 jam 2 menit dan jumlah pelarut etanol 548,5 mL/100 g bekatul padi. pada kondisi tersebut dapat dihasilkan klorofil sebesar 11,59 mg/kg. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa pada ekstraksi minyak bekatul padi metode refluks, penggunaan suhu hingga 75,85^{o}C dapat diekstraksi klorofil yang semakin tinggi, tetapi jika suhu ekstraksi melebihi 75,85^{o}C maka perolehan kadar klorofil minyak bekatul padi akan menurun, fenomena yang sama terjadi jika proses ekstraksi dilakukan hingga 1 jam 2 menit maka akan diperoleh klorofil yang tertinggi, tetapi jika waktu ekstraksi melebihi 1 jam 2 menit maka perolehan klorofil akan menurun, lebih lanjut dapat dijelaskan bahwa jumlah klorofil akan semakin banyak jika digunakan pelarut etanol hingga 548,5 mL/100 g, dan apabila jumlah etanol melebihi jumlah tersebut maka perolehan klorofil dalam minyak bekatul padi akan menurun, hal ini juga terjadi karena pelarut memiliki batas kemampuan untuk melarutkan bahan dalam jumlah tertentu.

Warna minyak bekatul padi

Pengukuran warna menggunakan alat Chromameter Minolta CR 300 dengan cara mengukur warna yang dipantulkan oleh permukaan minyak bekatul padi. Hasil pengukuran ditunjukkan dengan nilai L, a, dan b yang selanjutnya digunakan untuk mengukur nilai Chroma dan nilai ^{o}Hue dari produk minyak tersebut. Nilai Chroma menunjukkan intensitas warna minyak, sedangkan ^{o}Hue menunujukkan warna nyata dari minyak. Warna produk minyak ini dihasilkan dari warna alami bekatul padi yang menghasilkan produk minyak bekatul yang berwarna kuning kecoklatan (Gambar 3, ditunjukkan dengan tanda panah). Warna produk minyak bekatul padi pada sampel yang diperoleh cenderung kuning kecoklatan. Hal ini diduga akibat adanya pigmen karatenoid dan klorofil yang ikut terekstraksi.

Berdasar hasil analisis menunjukkan nilai L, a dan b untuk sampel perlakuan yaitu 20,12; 10,63; dan 27,38. Nilai-nilai ini diplotkan pada lingkaran warna Hunter Lab. Pengukuran warna dengan metode ini jauh lebih cepat dengan ketepatan yang cukup baik. Pada sistem ini term penilaian terdiri atas 3 parameter yaitu L, a dan b. Lokasi warna pada sistem ini ditentukan dengan koordinat L∗, a∗, dan b∗. Notasi L: 0 hitam; 100 putih menyatakan cahaya pantul yang menghasilkan warna akromatik putih, abu-abu dan hitam. Notasi a: warna kromatik campuran merah-hijau dengan nilai +a positif dari 0 sampai +80 untuk warna merah dan nilai –a negatif dari 0 sampai -80 untuk warna hijau. Notasi b: warna kromatik campuran biru-kuning dengan nilai +b positif dari 0 sampai +70 untuk warna kuning dan nilai –b negatif dari 0 sampai -70 untuk warna biru.



Gambar 3. Hasil uji warna produk minyak

4. KESIMPULAN

Pada ekstraksi minyak bekatul padi metode refluks dapat diperoleh karotenoid dan klorofil masin-masing sebesar 9.93 mg/kg dan 11,59 mg/kg jika dilakukan pada kondisi proses 75,85ºC, 1 jam 2 menit, dan jumlah pelarut etanol 548,4 mL/100 g. hasil akan lebih sedikit jika proses ekstraksi kurang atau melebihi kondisi proses tersebut. Pelarut etanol layak digunakan untuk ekstraksi karotenoid dan klorofil dalam minyak bekatul padi.

5. DAFTAR PUSTAKA

[1] G.K. Chandi, B.S. Gill, "Production and characterization of microbial carotenoids as an alternative to synthetic colors: A review", International Journal of Food Properties, Vol. 14, pp. 503-513, 2011.

[2] M.A. Lila, "Plant pigments and human health". Davis/Plant Pigments and Their Manipulation, pp: 248-274, 2004

[3] Y.M. Choo, "Palm Oil Carotenoids". The United Nation University Press Food And Nutrition Bulletin Vol. 15, 1994.

[4] MPOB Test Methods. Determination of Carotene Content. Malaysian Palm Oil Board, Method, 2.6, pp:194-197, 2005.

[5] E. Sabah, "Decolorization of vegetable oils: chlorophyll-a adsorption by acid activated sepiolite". Journal of Colloid Interface Science, 310(1), 1-7, 2007. http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2007.01.044,

[6] G.W. Burton, "Antioxidant Action of Carotenoids". The Journal of Nutrition, 119: 109-111, 1989.

[7] H.D. Belitz, and W. Grosch, Food Chemistry. Springer-verlag Berlin. Heidelberg. Germany, 1987.

[8] F. Mas'ud, M. Mahendradatta, A. Laga, Z. Zainal, "Optimization of mango seed kernel oil extraction using response surface methodology". Oilseeds & Fats, Crops and Lipids, Vol. 24, No. 5, 2017. DOI: 10.1051/ocl/201704, ISSN 2272-6977.

[9] F. Mas'ud, Fajar, H. Bangngalino, S. Indriati, A. Todingbua', Suhardi, M. Sayuti, "Model development to enhance the solvent extraction of rice bran Oil" Oilseeds & Fats, Crops and Lipids, Vol 26, 2019. DOI: https://doi.org/10.1051/ocl/2019009

[10] F. Mas'ud, S. Indriati, A.Todingbua', A. Rifai, M. Sayuti, "Mango seed kernel oil extraction with ethanol: optimization of oil yield and polyphenol", Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly, https://doi.org/10.2298/CICEQ200128039M

[11] I. Dias, N. Andarwulan, E.H. Purnomo, N. Wulandari, "Klorofil Daun Suji: Potensi dan Tantangan Pengembangan Pewarna Hijau Alami". Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI). ISSN 0853-4217.EISSN 2443-34622019, 2019.

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Sumber Daya Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan, Kebudaaan, Riset dan Teknologi. Kontrak Penelitian Nomor: 099/E4.1/AK.04.PT/2021, tanggal 12 Juli 2021.