

ISOLASI DAN KARAKTERISASI ORYZANOL DARI MINYAK DEDAK PADI

Rezka Putri Hapsari, Anugerah Fikri Y., Siti Zullaikah, H.M.Rachimoellah
Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)

Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111

E-mail: szulle@chem-eng.its.ac.id; prof_rachimoellah@yahoo.com

Abstrak— Isolasi oryzanol dari Crude Rice Bran Oil (CRBO) yang telah diekstrak dari ethanol yang ditetapkan sebagai pelarut terbaik dilakukan dengan metode 2 tahap proses kristalisasi. Pada first crystallization, oryzanol terlarut dalam liquid phase (LPI) bersama komponen lain seperti FFA, MG, squalene, tocopherols dan phytosterols, sedangkan solid phase (SPI) terutama mengandung TG dan steryl esters. Oryzanol rich product yang didapatkan pada first crystallization digunakan untuk proses second crystallization, dimana oryzanol rich product disimpan terlebih dahulu pada suhu -20 °C selama 24 jam. Proses second crystallization menggunakan n-hexane sebagai pelarut oryzanol rich product dan disimpan pada suhu 1±5 °C selama 48 jam.

Pada penelitian ini, bermaksud untuk mendapatkan oryzanol dengan melalui metode dua tahap kristalisasi yang lebih sederhana. Tujuan dari penelitian ini adalah selain untuk mempelajari faktor-faktor yang mempengaruhi kadar dan recovery oryzanol, juga untuk mendapatkan oryzanol dari dedak padi dengan metode 2 tahap kristalisasi.

Pelarut ethanol dapat memberikan kadar oryzanol pada CRBO mula-mula terbanyak, yaitu sebesar 1,258%, dengan yield CRBO sebanyak 5,89% dan %FFA rendah yakni sebesar 27,47%. Adanya faktor-faktor lain seperti proses Dewaxing and Degumming, perbandingan jumlah campuran pelarut methanol/acetone (7:3) dan jumlah CRBO serta DDRBO serta suhu kristalisasi dalam proses kristalisasi pertama, juga penyimpanan kembali oryzanol rich product dari hasil proses kristalisasi pertama berpengaruh terhadap peningkatan kadar dan recovery oryzanol. Sehingga didapatkan hasil terbaik pada perbandingan DDRBO 80/1 dengan suhu first crystallization -30 °C setelah penyimpanan, dengan kadar oryzanol pada oryzanol rich product (LPI) sebesar 2,109% dan recovery sebesar 82,109%. Namun kristal oryzanol tidak dapat terbentuk pada suhu tersebut dalam penelitian ini.

Kata Kunci : Dedak padi; Crude Rice Bran Oil; Dewaxed Degummed RBO; first and second crystallization; oryzanol rich product

I. PENDAHULUAN

Produksi padi di Indonesia memiliki produktifitas yang cukup besar. Setiap tahunnya produksi padi hampir mengalami peningkatan. Menurut Badan Pusat Statistik mengungkapkan bahwa produksi padi pada tahun 2012 diperkirakan sebesar 68,96 juta ton Gabah Kering Giling (GKG) atau mengalami kenaikan sebesar 3,20 juta ton (4,87 persen) dibandingkan 2011. Dengan kondisi produksi padi yang selalu meningkat seperti ini dapat membawa dampak yang baik bagi masyarakat Indonesia.

Di sisi lain, dengan besarnya jumlah produksi padi maka mengakibatkan bertambah besar juga hasil sisa dari penggilingan padi menjadi beras. Hasil penggilingan ini menghasilkan produk samping seperti menir, beras pecah, sekam, dan dedak (dedak padi). Menir dan beras pecah dapat digiling menjadi tepung sebagai bahan berbagai kue dan makanan lainnya. Sekam dapat dimanfaatkan untuk bahan bakar serta kompos. Sementara itu dedak saat ini baru dimanfaatkan untuk pakan ternak dan belum banyak digunakan sebagai sumber pangan manusia.

Dedak padi sendiri dapat di ekstrak menjadi minyak yang biasa disebut dengan minyak dedak padi (*Crude Rice Bran Oil*). Minyak dedak padi merupakan salah satu jenis minyak yang memiliki kandungan nutrisi tinggi serta berbagai macam asam lemak, senyawa-senyawa biologis aktif dan senyawa-senyawa antioksidan seperti: oryzanol, tocopherol, tocotrienol, phytosterol, polyphenol dan squalene. [1]

Minyak dedak padi pada umumnya berwarna coklat. Dengan kandungan FFA yang cukup tinggi, minyak dedak padi juga sulit untuk dimurnikan. Hal ini karena komponen TG yang ada dalam minyak dedak padi diuraikan oleh lipase menjadi FFA. Oleh karena itu, minyak dedak padi ini tidak dapat digunakan sebagai *edible oil*. [2] Sehingga meskipun minyak dedak padi diketahui mempunyai manfaat yang penting bagi kesehatan, minyak ini masih sangat minim pemanfaatannya sebagai *edible oil*. Oleh karena itu, perlu suatu usaha tertentu untuk meningkatkan nilai guna dari minyak dedak padi tersebut. Di sisi lain, minyak dedak padi terkandung senyawa-senyawa antioksidan salah satunya yaitu oryzanol. Oryzanol sendiri merupakan gabungan dari sedikitnya 10 komponen ester asam ferulat dan alkohol triterpene. [3]

Manfaat dari kandungan oryzanol antara lain adalah sebagai agen antioksidan yang hanya terdapat pada minyak dedak padi, sangat kuat dalam mencegah oksidasi, menurunkan penyerapan kolesterol, menurunkan kolesterol liver, menghambat waktu *menopause* serta lebih efektif mencegah radikal bebas dibanding vitamin E. [4] Kandungan oryzanol di dalam minyak dedak padi jumlahnya dapat mencapai 10 sampai 20 kali lebih banyak dibandingkan total kandungan tokoferol dan tokotrienol. [5]

Berbagai metode dan cara telah banyak dilakukan dalam jurnal ilmiah yang telah dipublikasi. Diantaranya adalah isolasi oryzanol menggunakan *preparative HPLC* yang telah dilakukan oleh Lai [6] pada tahun 2005. Pada metode ini memberikan hasil kemurnian oryzanol sampai 90-98% dengan persen recovery hingga 90%. Dengan hasil yang diberikan tersebut, di sisi lain metode ini memiliki beberapa kelemahan yaitu produktivitas yang kecil (10 mg/injeksi) dan hanya cocok diterapkan untuk skala laboratorium. Jauh sebelum itu, pada tahun 1998, P.K. Das

[7] mengisolasi oryzanol melalui kalsium ion. Dari metode ini didapatkan hasil yaitu kemurnian dan recovery yang cukup tinggi, antara 76-96%. Kelemahan dari metode ini adalah tahapan cukup banyak untuk melakukan proses isolasi dan banyaknya pelarut yang dipakai dalam proses ini. Pada tahun yang sama juga, Saska dan Rossiter [8] melakukan isolasi oryzanol menggunakan silika dengan kombinasi multi-stage kristalisasi. Hasil yang didapatkan adalah kemurnian oryzanol dapat mencapai 90-95% dengan recovery hingga 90%. Adapun kekurangan dari metode yang dilakukan adalah mahal biaya penggantian silika sehingga dianggap kurang efisien dalam pemakaiannya. Pada tahun 2008, Siti Zullaikah [9] melakukan isolasi oryzanol dengan metode 2 tahap kristalisasi. Pada metode ini, Siti Zullaikah mengisolasi oryzanol dengan suhu yang rendah pada tahap kristalisasi pertama hingga mencapai -60°C dan hasil yang diberikan pun cukup tinggi. Kandungan oryzanol pada *Liquid Phase 1* (LP1) yang dihasilkan yaitu 13,68% dengan recovery 63,34%. Sedangkan suhu -22°C pada tahap kristalisasi pertama juga didapatkan oryzanol dengan konsentrasi pada *Liquid Phase 1* (LP1) yaitu 12,59% dengan recovery 47,17%, dan pada akhir tahap kristalisasi kedua didapatkan kristal oryzanol dengan kemurnian 93-95% dan recovery sebesar 59%. Akan tetapi dengan hasil yang diberikan tersebut, kekurangan pada metode ini yaitu suhu yang dilakukan pada proses kristalisasi pertama terlalu rendah sehingga sulit untuk diterapkan pada alat pendingin yang sederhana. Oleh karena itu, penelitian yang dilakukan oleh penulis saat ini yaitu berupa *improvement* dari metode yang telah dilakukan oleh Siti Zullaikah. Metode 2 tahap kristalisasi tersebut nantinya dikembangkan kembali dengan menggunakan suhu pada proses kristalisasi pertama yang tidak terlalu rendah. Suhu yang digunakan adalah pada rentang -20°C sampai -30°C . Dengan suhu yang tidak terlalu rendah ini, nantinya diharapkan pada akhir tahap kristalisasi kedua juga dapat mengisolasi oryzanol dari minyak dedak padi.

II. METODOLOGI PENELITIAN

II.1 Ekstraksi Minyak Dedak Padi

Dedak padi yang diperoleh dari Bali disimpan terlebih dahulu di dalam lemari es sebelum digunakan. Hal ini bertujuan untuk mencegah kenaikan kandungan *FFA* (*Free Fatty Acid*) yang dapat berpengaruh pada kandungan oryzanol dalam dedak padi [10]. Dedak padi sebanyak 100 gram untuk satu kali ekstraksi, dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam sokhlet.

Pelarut (N-Hexane, Iso-propanol, Methanol dan Ethanol), masing-masing sebanyak 500 ml dimasukkan ke dalam labu alas bulat berukuran 500 ml. Labu alas bulat digunakan agar luas permukaan kontak dengan *heating mantels* menjadi semakin besar, sehingga panas yang ditransfer ke larutan menjadi maksimal dan proses pemanasan lebih merata.

Pemilihan jenis pelarut tersebut bertujuan untuk membandingkan pengaruh pelarut terhadap yield serta konsentrasi oryzanol dalam minyak yang diperoleh, yang dapat dipengaruhi oleh sifat kepolaran pelarut. Oleh sebab itu, pelarut yang digunakan berbeda-beda sifat kepolarannya, yakni dipilih larutan non polar hingga polar.

Proses ekstraksi dilakukan selama 4 jam pada suhu konstan 85°C untuk setiap jenis pelarut dengan menggunakan kondensor refluks yang beraliran *co-current*. Pemilihan waktu ekstraksi ini didasarkan pada percobaan-

percobaan sebelumnya, yang menyatakan bahwa yield total minyak yang terekstrak paling besar adalah ketika proses ekstraksi berlangsung selama 4-6 jam.[11]

Hasil dari proses ekstraksi tersebut berupa campuran pelarut dan CRBO, yang selanjutnya dilakukan proses destilasi untuk memisahkan pelarut dan CRBO, dan mengoven CRBO yang didapat selama 2 jam untuk menghilangkan sisa solvent yang masih terikut.

II.2 Dewaxing and Degumming of CRBO

Proses *Dewaxing and Degumming of CRBO* bertujuan untuk menghilangkan *fat-soluble impurities*. *Impurities* yang dapat dihilangkan atau dikurangi jumlahnya antara lain *Free Fatty Acid (FFA)*, *phosphatides*, *metal ion*, *waxes*, *gum*, *oxidation products*, *color bodies*, *moisture*, *volatiles*, dan *solid impurities*. [12]

Crude Rice Bran Oil (CRBO) sebanyak 50 gr dicampur dengan 300 ml acetone ke dalam 500 ml *stopper glass vessel*, dan memanaskan larutan pada suhu 60°C selama 1 jam sambil mengaduk dengan menggunakan stirer.[9]

Larutan tersebut didiamkan kembali hingga suhunya kembali menjadi suhu ruangan, lalu menyimpan larutan tersebut di dalam *freezer* pada suhu 5°C selama 24 jam untuk mengkristalkan lapisan *wax* dan *gum* sehingga terbentuk 2 layer larutan. Setelah terbentuk 2 lapisan filtrat dan solid, melakukan filtrasi dengan menggunakan *vacuum jet ejector*. Kemudian memasukkannya kembali ke dalam *freezer* pada suhu -5°C selama 24 jam, hingga kembali terbentuk 2 lapisan, filtrat dan solid.

Filtrat dan endapan solid yang terbentuk dipisahkan dengan proses filtrasi menggunakan *vacuum jet ejector*, dan mendestilasinya untuk memisahkan *solvent* (pelarut) dengan filtrat menggunakan metode destilasi sederhana, sehingga dihasilkan residu berupa *Dewaxed Degummed RBO (DDRBO)* sebagai hasil proses *Dewaxing and Degumming CRBO* dan destilat berupa *solvent* (pelarut), lalu menyimpan DDRBO tersebut di dalam lemari pendingin pada suhu -5°C .

II.3 First Step Crystallization

CRBO dan DDRBO dicampur dengan campuran pelarut mehanol/acetone (7:3), dengan perbandingan sesuai variabel yang telah ditentukan (*solvent/RBO*: 40/1, 60/1, dan 80/1) ke dalam 500 ml *stopper glass vessel*, kemudian mengaduknya dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam pada suhu ruangan $24 \pm 32^{\circ}\text{C}$. Setelah tercampur sempurna kemudian menyimpannya di dalam *freezer* pada suhu -20°C selama 24 jam. Filtrat (LP1) dan *oryzanol poor solid phase* (SP1) dipisahkan dengan dengan *vacuum jet ejector*. LP1 tersebut kemudian didestilasi untuk memisahkannya dari *solvent*, lalu mengukur kadar dan *recovery* oryzanol untuk masing-masing perbandingan campuran pelarut mehanol/acetone (7:3) dengan CRBO dan DDRBO tersebut.

II.4 Second Step Crystallization

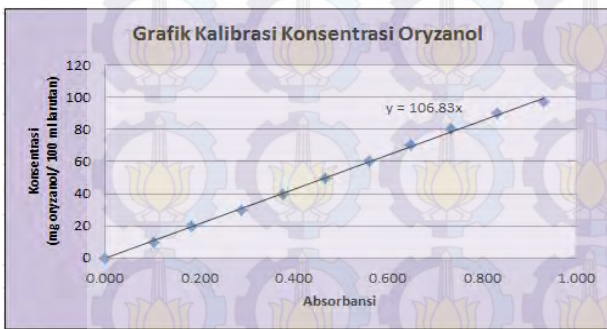
Oryzanol rich product yang telah didapat disimpan suhu 10°C selama 24 jam untuk memungkinkan pertumbuhan dari *oryzanol crystal*, sehingga membentuk LP2 dan SP2. Selanjutnya mengukur kadar dan *recovery* oryzanol tersebut.

N-Hexane sebanyak 20 ml sebagai cairan pencuci dicampur dengan *oryzanol rich product*, kemudian disimpan di dalam *freezer* pada suhu $1 \pm 5^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam hingga

terbentuk 2 lapisan, filtrat dan solid. Filtrat dan solid tersebut dipisahkan dengan *vacuum jet ejector*, lalu mencampur kembali solid yang didapat dengan N-Hexane sebanyak 30 ml, dan memisahkan filtrat dengan endapan solid yang terbentuk dengan *vacuum jet ejector* hingga didapatkan kristal oryzanol berwarna putih, lalu menyimpan kristal putih oryzanol tersebut di dalam *freezer* pada suhu - 20 °C.

II.5 Analisa Kadar Oryzanol

Kadar oryzanol dalam *sample* dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometri Spektrofotometer (V-550 UV-vis Spectrophotometer) dan kuvet (*quartz cell*). Untuk analisa kadar oryzanol, pertama kali membuat kurva kalibrasi dengan cara pengukuran absorbansi sampel oryzanol (Wako γ -oryzanol standard 97 ppm) untuk mencari panjang gelombang (λ) yang digunakan. Dari pengukuran *sample* didapatkan panjang gelombang yang menunjukkan absorbansi terbesar, yaitu pada $\lambda = 311 \text{ nm}$. Langkah selanjutnya adalah menyiapkan larutan standard dengan konsentrasi dari range 0-97 ppm. Didapatkan kurva kalibrasi pada Gambar 1 berikut:



Gambar 1. Grafik Kalibrasi Sample γ -Oryzanol Standard

II.6 Analisa yield *Crude Rice Bran Oil (CRBO)*

Perhitungan yield CRBO dilakukan untuk membandingkan jumlah CRBO yang didapat untuk setiap jenis pelarut dalam ekstraksi dedak padi, yang nantinya dijadikan salah satu dasar pertimbangan pemilihan pelarut yang akan digunakan. Persamaan yang digunakan :

$$\% \text{yield} = \frac{\text{massa produk (gr)}}{\text{massa dedak (gr)}} \times 100\% \quad (1)$$

II.7 Analisa *Free Fatty Acid (%FFA)*

Peralatan yang digunakan antara lain buret dan erlenmeyer 500 ml. Mekanisme analisa dan perhitungan kadar FFA ini didasari dari jurnal AOCS Method [14]. Sedangkan ukuran *sample* dan reagen didasarkan pada dari jurnal I.H Rukunudin [15]. Langkah awal yaitu menimbang sampel CRBO sebesar 0,7 gr ke dalam erlenmeyer. Kemudian melarutkan sampel CRBO ke dalam 7,5 ml ethanol sambil dipanaskan di atas penangas air dan diaduk dengan menggunakan stirer. Selanjutnya, meneteskan 2 ml indikator phenolphthalein dan mengaduknya hingga merata. Memasukkan NaOH 0,031 N ke dalam buret, kemudian melakukan titrasi sambil mengocok perlahan-lahan hingga muncul warna pink secara permanen pada larutan sampel. Menghitung volume NaOH yang digunakan untuk titrasi dan % FFA dapat dihitung berdasarkan persamaan :

$$\% \text{FFA} = \frac{\text{volume alkali (mL)} \times \text{normalitas alkali} \times 28,2}{\text{berat sampel (g)}} \quad (2)$$

[14]

II.8 Analisa *Recovery Oryzanol*

Perhitungan *recovery* bisa dilakukan jika selama proses tidak ada reaksi kimia yang berlangsung, seperti proses pemurnian produk. [15]

Persamaan untuk perhitungan *recovery* :

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100\% \quad (3)$$

[15]

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

III.1 Pengaruh Solvent terhadap Hasil Ekstraksi Dedak Padi

Dedak padi yang telah diekstrak dengan 4 jenis pelarut dianalisa untuk menentukan pelarut terbaik yang akan digunakan pada tahap berikutnya, seperti terlihat pada Tabell

Tabel 1

Pengaruh Solvent terhadap Yield, FFA serta Konsentrasi Oryzanol ¹

Run	Larutan	%Yield	%FFA	% Oryzanol
1.	N-Hexane	8.845	32.47	0,449
	Iso-Propanol	6.53	19.98	0,746
	Methanol	6.65	23.70	1,130
	Ethanol	5.89	27.47	1,258
2.	N-Hexane	7.64	38.60	0,585
	Iso-Propanol	5.18	27.45	0,656
	Methanol	5.91	26.83	0,961
	Ethanol	6.95	25.59	1,196

¹ 100 gram dedak padi dilarutkan dengan 500 ml solvent, diekstrak selama 4 jam, suhu 85°C

Dari Tabel 1 di atas, dari segi *yield* didapatkan bahwa nilai terbesar adalah minyak yang diperoleh dari pelarut n-hexane, yakni 8,845% untuk RUN I dan 7,64% RUN II. Hal ini disebabkan dari sifat minyak yang non polar, sehingga sangat larut dalam pelarut n-hexane yang bersifat non polar, sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa senyawa polar akan semakin larut dalam pelarut polar, dan senyawa non polar akan semakin larut dalam pelarut non polar. [16] Sedangkan dari segi kandungan *Free Fatty Acid (FFA)*, diharapkan bahwa minyak yang didapatkan memiliki kandungan FFA yang rendah. Hal ini dikarenakan semakin tinggi kandungan FFA, kandungan oryzanol di dalam minyak menurun. [9] Sehingga dari tabel di atas, diketahui bahwa kandungan FFA pada minyak yang didapat dari pelarut ethanol paling rendah, yakni 27,47% pada RUN I dan 25,59% pada RUN II.

Jika ditinjau dari konsentrasi oryzanol dalam minyak dari keempat jenis pelarut, yang didapatkan nilai terbesar untuk konsentrasi oryzanol yaitu dalam minyak dari pelarut ethanol, yaitu 1,258% untuk RUN I dan 1,196% untuk RUN II. Jika ditinjau dari segi pelarut, ethanol dan methanol memiliki nilai kepolaran yang lebih tinggi dari kedua pelarut lainnya yaitu n-hexane dan iso-propanol. Hal

ini ditunjukkan dengan tetapan dielektrik dari kedua pelarut (ethanol dan methanol) yaitu 24,3 dan 33 lebih besar dari n-hexane dan iso-propanol yaitu 2,02 dan 18. [17]

Pemilihan pelarut yang didasarkan pada kepolarannya terhadap oryzanol sendiri yang bersifat sedikit polar, maka dapat diambil keputusan bahwa methanol dan ethanol yang dapat dipakai. Namun konsentrasi oryzanol dalam minyak dari pelarut ethanol lebih tinggi dari konsentrasi oryzanol dalam minyak dari pelarut methanol. Hal ini sesuai jika ditinjau dari kandungan *FFA*, dimana kandungan *FFA* dalam minyak dari pelarut ethanol lebih rendah dari kandungan *FFA* dalam minyak dari pelarut methanol.

Pada metode ekstraksi menggunakan sokhlet, suhu operasi pada saat menggunakan pelarut ethanol lebih tinggi dari ketiga jenis pelarut lainnya. Dengan meningkatnya suhu tersebut, menyebabkan turunnya viskositas pelarut dan meningkatnya diffusivitas pelarut sehingga laju ekstraksi meningkat. Di sisi lain, oryzanol sendiri yang merupakan gabungan dari triterpen alkohol dan asam ferulat merupakan komponen sedikit polar sehingga mudah untuk larut dalam pelarut yang bersifat polar. [3]

Oleh karena itu, dalam penelitian ini dipilih pelarut ethanol untuk proses ekstraksi dedak padi yang cocok untuk mengisolasi oryzanol.

III.2 Proses *Dewaxing and Degumming* CRBO (*Crude Rice Bran Oil*)

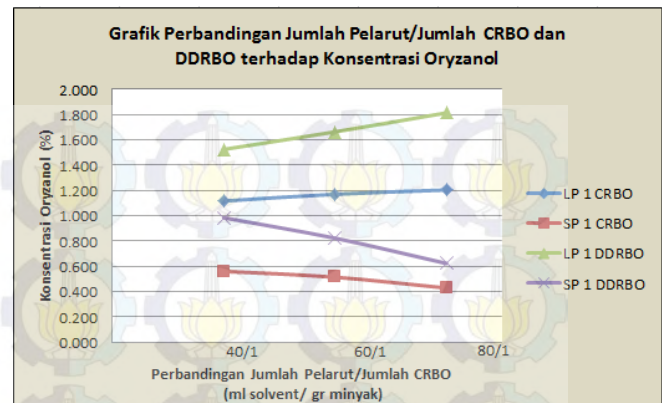
Proses *dewaxing* dan *degumming* ini dilakukan untuk menghilangkan *wax* dan *gum* yang terikat pada saat proses ekstraksi. *Wax* dan *gum* dapat mengganggu pertumbuhan dari kristal oryzanol pada saat proses *first crystallization*.

Wax dan *gum* dari hasil proses berwarna coklat kehitaman. *Wax* dan *gum* memiliki sifat tidak larut pada beberapa pelarut seperti acetone. Oleh karena itu, pengambilan atau pemisahan *wax* dan *gum* menggunakan pelarut acetone untuk mengendapkannya. [18]

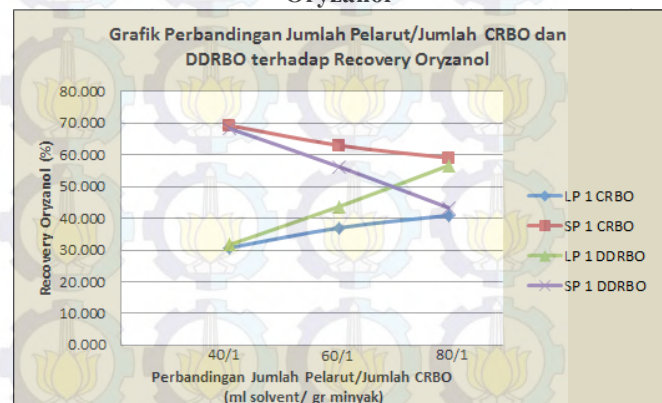
Setelah dilakukannya proses *dewaxing* dan *degumming* ini, dapat meningkatkan konsentrasi oryzanol yang terkandung pada RBO dari 0,855% menjadi 1,158%.

III.3 Pengaruh Perbandingan Jumlah Pelarut (Methanol/Acetone) dan Jumlah CRBO serta DDRBO tertentu (solvent/RBO atau DDRBO: 40/1, 60/1, dan 80/1) dalam Proses Kristalisasi Pertama

Pada tahap *first step crystallization*, digunakan 2 jenis minyak, yaitu CRBO dan DDRBO untuk mengetahui peningkatan konsentrasi oryzanol dari kedua jenis minyak tersebut. Sehingga pada akhir proses *first step crystallization*, didapatkan *oryzanol rich product* (LP1) dan *oryzanol poor solid phase* (SP1) untuk masing-masing CRBO dan DDRBO. Kemudian dari hasil analisa melalui Spektrofotometer UV-Vis, didapatkan hasil untuk CRBO dan DDRBO pada Gambar 2 dan Gambar 3 sebagai berikut.



Gambar 2. Perbandingan Jumlah Pelarut dibanding Jumlah CRBO dan DDRBO terhadap Konsentrasi Oryzanol



Gambar 2. Perbandingan Jumlah Pelarut dibanding Jumlah CRBO dan DDRBO terhadap Recovery Oryzanol

Dari Gambar 2 dan Gambar 3 di atas, untuk untuk *oryzanol rich product* (LP1) didapatkan bahwa semakin besar perbandingan jumlah pelarut/jumlah CRBO konsentrasi dan *recovery oryzanol* semakin besar. Sehingga didapatkan hasil terbaik pada perbandingan jumlah pelarut/jumlah CRBO 80/1, sebesar 1,204% dan 40,917%. Untuk *oryzanol rich product* (LP1) semakin besar perbandingan jumlah pelarut/jumlah DDRBO konsentrasi dan *recovery oryzanol* semakin besar. Sehingga didapatkan hasil terbaik pada perbandingan jumlah pelarut/jumlah DDRBO 80/1, sebesar 1,814% dan 56,642%.

Sedangkan untuk *oryzanol poor solid phase* (SP1), semakin besar perbandingan jumlah pelarut/jumlah CRBO konsentrasi dan *recovery oryzanol* semakin kecil.

Hal tersebut dapat terjadi karena semakin besar perbandingan jumlah pelarut/jumlah CRBO atau DDRBO, maka semakin kecil kandungan *Triglyceride* (TG) yang terlarut dalam *oryzanol rich product* (LP1), sehingga konsentrasi *oryzanol* dalam *oryzanol rich product* (LP1) dapat meningkat. Pada dasarnya sifat dari *Triglyceride* sendiri adalah sedikit non-polar dari pada oryzanol sehingga pada umumnya TG larut dalam larutan yang non-polar. Sedangkan pada *oryzanol poor solid phase* (SP1), semakin besar perbandingan jumlah pelarut/jumlah CRBO, semakin besar kandungan *Triglyceride* (TG) yang terlarut dalam *oryzanol poor solid phase* (SP1), sehingga konsentrasi *oryzanol* dalam *oryzanol rich product* (LP1) menurun. [9]

Berikutnya kami mencoba mempelajari pengaruh kenaikan suhu terhadap peningkatan konsentrasi oryzanol. Oleh sebab itu kami kembali melakukan tahap *first step crystallization* dengan perbandingan campuran pelarut methanol/acetone (7:3), untuk CRBO dan DDRBO dengan

perbandingan solvent/RBO yakni 80/1, dan disimpan di dalam freezer pada suhu $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Pada akhir tahapan *first step crystallization* didapatkan *oryzanol poor solid phase* (SP1) dan filtrat yang setelah didestilasi terpisah dari solvent, sehingga membentuk *oryzanol rich product* (LP1). Hasil yang didapat seperti ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2

Pengaruh Perbandingan CRBO dan DDRBO dengan Jumlah Solvent (Methanol/Acetone)/CRBO dan DDRBO Terhadap Konsentrasi serta *Recovery*²

Minyak	Fase	Konsentrasi Oryzanol (%)	Recovery (%)
CRBO	LP1	1,229	43,75
	SP1	0,547	56,25
DDRBO	LP1	1,840	58,856
	SP1	0,656	41,144

² *First Step Crystallization* dilakukan pada CRBO dan DDRBO suhu $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam

Sehingga berdasarkan data di atas, jika dibandingkan antara LP1 dan SP1 CRBO serta DDRBO dengan variabel perbandingan jumlah pelarut/jumlah CRBO atau DDRBO sebesar 80/1 pada akhir tahap *first step crystallization* untuk suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, maka didapatkan kenaikan konsentrasi dan *recovery* oryzanol.

Adanya kenaikan konsentrasi dan *recovery* oryzanol pada LP1 RBO dan DDRBO untuk suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ dikarenakan semakin rendah suhu kristalisasi, maka semakin banyak oryzanol yang terlarut di dalam *liquid phase* (LP1), sehingga konsentrasi dan *recovery* oryzanol di dalam *solid phase* (SP1) pada RBO dan DDRBO menjadi berkurang. [9]

Pada penelitian kali ini, peneliti mencoba untuk menaikkan suhu, yang semula digunakan pada proses kristalisasi pertama oleh Siti Zullaikah [9] yaitu $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$ telah didapatkan kadar oryzanol sebesar 8,47% dan *recovery* 71,95% pada LP1, namun kadar oryzanol tertinggi didapatkan pada suhu yang lebih rendah yakni $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, didapatkan kadar oryzanol sebesar 13,68% pada LP1, sedangkan *recovery* turun menjadi 63,34%. Sedangkan hasil yang didapatkan pada penelitian ini, yaitu untuk kadar oryzanol CRBO pada suhu kristalisasi $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan perbandingan solvent 80/1 yakni 1,204% dan *recovery* 40,917% pada LP1, dan untuk DDRBO dengan perbandingan solvent 80/1 didapatkan kadar oryzanol yakni 1,814% dan *recovery* 56,642% pada LP1. Dan ketika suhu diturunkan hingga menjadi $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, kadar oryzanol CRBO dengan perbandingan solvent 80/1 yakni 1,229% dan *recovery* 43,75% pada LP1, dan untuk DDRBO dengan perbandingan solvent 80/1 didapatkan kadar oryzanol yakni 1,840% dan *recovery* 58,856% pada LP1. Dengan hasil yang ditunjukkan tersebut, bahwa dengan diturunkannya suhu dari suhu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ menjadi $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ sangat berpengaruh terhadap peningkatan kadar dan *recovery* oryzanol, karena dengan peningkatan suhu yang sedikit saja memberikan hasil yang cukup jauh.

Pada hipotesa awal bahwa dengan dinaikkannya suhu kristalisasi pertama $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ menjadi -20 kemudian $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, diharapkan masih adanya peningkatan kadar oryzanol dan *recovery*. Hasil yang didapatkan memang terjadi peningkatan namun di sini masih jauh dari penelitian sebelumnya dan juga pada penelitian ini masih belum terbentuknya kristal oryzanol.

Oleh karena itu, tujuan *improvement* di sini masih belum berhasil karena jika dibandingkan dengan peneliti sebelumnya kadar dan *recovery* yang didapat masih belum bisa lebih tinggi dengan dinaikkannya suhu.

III.4 Pengaruh Penyimpanan *Oryzanol Rich Product* (LP2) pada *Second Step Crystallization* Suhu $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ Selama 24 Jam

Setelah proses *first step crystallization* menghasilkan produk berupa *oryzanol rich product* (LP1), berikutnya adalah menyimpan *oryzanol rich product* (LP1) untuk CRBO dan DDRBO tersebut pada suhu yang telah ditentukan (suhu lemari es $10\text{ }^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam untuk memungkinkan pertumbuhan dari *oryzanol crystal*. Selanjutnya mengukur kadar dan *recovery* oryzanol untuk mengetahui pengaruh proses penyimpanan tersebut.

Untuk data yang diperoleh dari *oryzanol rich product* (LP1) dari CRBO hasil *first step crystallization* dapat dilihat pada Tabel 3 sebagai berikut.

Tabel 3

Pengaruh Penyimpanan *Oryzanol Rich Product* (LP2) CRBO pada *Second Step Crystallization* terhadap Konsentrasi serta *Recovery*³

Solvent(ml) (Methanol/Acetone) CRBO(gr)	LP2	
	Konsentrasi Oryzanol (%)	Recovery (%)
40/1	1,192	39,50
60/1	1,318	54,17
80/1	1,534	79,50

³ CRBO hasil *First Step Crystallization* $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ Setelah Penyimpanan pada $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ Selama 24 Jam

Dari Tabel 3, untuk untuk *oryzanol rich product* (LP2) CRBO, semakin besar perbandingan jumlah pelarut/jumlah CRBO konsentrasi dan *recovery* oryzanol semakin besar, dan mengalami peningkatan dibandingkan dengan *oryzanol rich product* (LP2) CRBO sebelum disimpan pada $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam.

Sedangkan pengaruh penyimpanan *oryzanol rich product* (LP1) untuk DDRBO hasil *first step crystallization* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4

Pengaruh Penyimpanan *Oryzanol Rich Product* (LP2) DDRBO pada *Second Step Crystallization* terhadap Konsentrasi serta *Recovery*⁴

Solvent(ml) (Methanol/Acetone) DDRBO(gr)	LP2	
	Konsentrasi Oryzanol (%)	Recovery (%)
40/1	1,735	49,815
60/1	1,830	58,057
80/1	2,098	81,181

⁴ DDRBO hasil *First Step Crystallization* $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ Setelah Penyimpanan pada $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ Selama 24 Jam

Dari Tabel 4, dapat disimpulkan untuk *oryzanol rich product* (LP2) semakin besar perbandingan jumlah pelarut/jumlah DDRBO konsentrasi dan *recovery* oryzanol semakin besar, dan juga mengalami peningkatan dibandingkan dengan *oryzanol rich product* (LP2) DDRBO sebelum disimpan pada $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam.

Untuk membandingkan konsentrasi dan *recovery* oryzanol jika dibandingkan antara LP1 hasil tahap *first step crystallization* suhu $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ untuk CRBO dan DDRBO dengan variabel perbandingan jumlah pelarut/jumlah CRBO 80/1 sebelum dan sesudah penyimpanan pada $10\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasil yang didapat sebagai berikut:

Tabel 5

Pengaruh Penyimpanan *Oryzanol Rich Product* (LP2) CRBO pada *Second Step Crystallization* terhadap Konsentrasi serta *Recovery*⁵

Solvent(ml) (Methanol/Acetone) CRBO(gr)	LP2	
	Konsentrasi Oryzanol (%)	Recovery (%)
80/1	1,551	81,424

⁵ CRBO hasil *First Step Crystallization* -30 °C Setelah Penyimpanan pada 10 °C Selama 24 Jam

Sehingga berdasarkan data di atas, jika dibandingkan antara LP2 hasil tahap *first step crystallization* suhu -30 °C untuk CRBO dengan variabel perbandingan jumlah pelarut/jumlah CRBO 80/1 sebelum dan sesudah penyimpanan pada 10°C, maka didapatkan peningkatan konsentrasi *oryzanol*, yakni dari 1,229% menjadi 1,551% dan untuk *recovery* didapatkan peningkatan, yakni dari 43,750% menjadi 81,424%.

Kemudian untuk konsentrasi dan *recovery* *oryzanol Dewaxed Degummed RBO* dengan variabel perbandingan jumlah pelarut/jumlah CRBO 80/1 sesudah penyimpanan pada 10 °C, hasil yang didapat seperti terlihat pada Tabel 6

Tabel 6

Pengaruh Penyimpanan *Oryzanol Rich Product* (LP2) DDRBO pada *Second Step Crystallization* terhadap Konsentrasi serta *Recovery*⁶

(ml) Solvent (Methanol/Acetone) (gr) DDRBO	LP2	
	Konsentrasi Oryzanol (%)	Recovery (%)
80/1	2,109	82,109

⁶ DDRBO hasil *First Step Crystallization* -30 °C Setelah Penyimpanan pada 10 °C Selama 24 Jam

Sehingga berdasarkan data di atas, jika dibandingkan antara LP2 hasil tahap *first step crystallization* suhu -30 °C untuk DDRBO dengan variabel perbandingan jumlah pelarut/jumlah DDRBO 80/1 sebelum dan sesudah penyimpanan pada 10 °C, maka didapatkan peningkatan konsentrasi dan *recovery oryzanol* yakni dari 1,840% menjadi 2,109% dan untuk *recovery* didapatkan peningkatan, yakni dari 58,856% menjadi 82,109%.

Setelah keseluruhan proses *Second Step Crystallization*, ternyata tidak berhasil terbentuk kristal *oryzanol*. Dari hasil filtrasi didapatkan filtrat (LP2) dengan endapan solid (SP2) yang tidak mendekati karakteristik kristal *oryzanol* yang tidak mendekati karakteristik kristal *oryzanol* yang berwarna putih.

Pada dasarnya pembentukan kristal terjadi dalam keadaan atau kondisi lewat jenuh melalui 2 tahapan, yaitu pembentukan inti dan pertumbuhan kristal.

Kondisi lewat jenuh dari suatu larutan ini mempengaruhi kelarutan *oryzanol* di dalam larutan. Jika kelarutan masih besar (kondisi *unsaturated*), maka kristal tidak dapat terbentuk atau kristal yang terbentuk berbentuk kecil. Dalam hal ini, temperatur merupakan faktor yang mempengaruhi jenuhnya larutan. Semakin rendah suhu, makin cepat larutan tersebut mencapai kondisi jenuhnya (kondisi *saturated*). Dan apabila kondisi dari suatu larutan telah mencapai lebih dari lewat jenuhnya (kondisi *super-saturated*) maka disitulah terbentuk kristal. [19]

Yang terjadi adalah belum terbentuk kristal *oryzanol* (belum terjadi kristalisasi), dalam artian bahwa larutan yang ada belum mencapai keadaan lewat jenuhnya. Proses pembentukan inti yang terjadi tidak dapat memasuki pada

fase pertumbuhan kristal karena suhu yang ada masih belum bisa membuat larutan tersebut melewati titik jenuhnya. Dalam artian bahwa suhu yang dipakai seharusnya lebih rendah dari suhu -20°C yang digunakan dalam penelitian ini, agar dapat tercapai kondisi lewat jenuh sehingga kristal *oryzanol* dapat terbentuk.

IV. KESIMPULAN

Dari pembahasan hasil dari penelitian, maka dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Pelarut yang sesuai untuk ekstraksi minyak dedak padi dipilih menggunakan pelarut ethanol karena memberikan konsentrasi *oryzanol* terbesar hingga 1,258%.
2. Faktor-faktor yang mempengaruhi peningkatan kadar dan *recovery oryzanol* antara lain :
 - Proses dewaxing and degumming dengan menghilangkan sejumlah wax dan gum dapat memberikan pengaruh terhadap kadar *oryzanol* yang terkandung pada RBO.
 - Perbandingan jumlah pelarut (methanol/acetone) terhadap jumlah RBO pada *first crystallization*. Dalam hal ini semakin tinggi penggunaan pelarut maka semakin tinggi juga kadar yang diperoleh. Perbandingan yang dipilih adalah 80:1.
 - Suhu yang lebih rendah yaitu -30°C memberikan pengaruh peningkatan kadar *oryzanol* sendiri yang lebih tinggi daripada suhu -20°C
3. Kristal *oryzanol* belum dapat terbentuk pada suhu -20°C.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami ingin mengucapkan terima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Ir. H.M. Rachimoallah, Dipl, EST serta Ibu Siti Zullaikah ST, MT, PhD selaku pembimbing yang senantiasa sabar membimbing dan memberikan masukan serta .Orang tua, keluarga dan sahabat kami terutama K49 dan teman-teman Laboratorium Biomassa dan Konversi Energi yang telah memberikan dukungan moril dan materiil. Serta semua pihak yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini hingga selesai yang tidak dapat kami sebutkan satu per satu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Goffman, F.D., 2003. "Genetic diversity for Lipid Content and Fatty Acid Profile in Rice Bran", *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80:485-490.
- [2] D.K.Bhattacharyya, M.M. Chakrabarty, R.S. Vaidyanathan, A.C Bhattachryya.1983. "A Critical Study of The Refining of Rice Bran Oil", *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60: 467-471.
- [3] Xu,Z.,Godber,J.S.,1999."Purification and identification of components of g-oryzanol in rice bran oil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*", 47:2724-2728
- [4] Hadipernata, Mulyana. 2007. "Mengolah Dedak Menjadi Minyak (Rice Bran Oil)". *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian* Vol 29 No 4.
- [5] Bergman, C.J., and Z. Xu.2003."Genotype and Environment Effects on Tocopherol, Tocotrienols, and γ -Oryzanol Contents of Southern U.S.Rice", *Cereal Chem.* 80:446-449
- [6] Lai, C.C., Zullaikah, S., Vali, S.R., Ju, Y.H., 2005. "Lipase-Catalyzed Production of Biodiesel from Rice Bran Oil". *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 80, 331-337
- [7] Das, P.K., Chauduri, A., Kaimal, T.N.B., Bhalariao, U.T., 1998. "Isolation of γ -oryzanol through Calcium Ion Induced Precipitation of Anionic Micellar Aggregates".*J.Agric. Food Chem.* 46, 3073-3080.

- [8] M.Saska, Rossiter, G.J., 1998. "Recovery of γ -oryzanol From Rice Bran Oil with Silicabased Continuous Chromatography". *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75, 1421-1427.
- [9] Zullaikah, Siti., Melwita, Elda., Yi-Hsu Ju., 2008. "Isolation of Oryzanol from Crude Rice Bran Oil". *Bioresource Technology* 100:299-302
- [10] Lai, Shih-Ming, Hsiao-King Hsieh and Chih-Wei Chang. 2005. "Preparative Separation of γ -Oryzanol from Rice Bran Oil by Silica Gel Column Chromatography". *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 28: 145-160
- [11] Wibisono, Christofer Wisnu. 2009. "Kajian Penentuan Kondisi Optimum Ekstraksi Minyak Bekatul". Institut Pertanian Bogor, 1-66
- [12] Haraldsson, G. 1983. "Degumming, Dewaxing and Refining". *Journal of the American Oil Chemists' Society* 60:251-256
- [13] Anonim. 2011. "Calculating Percent Recovery & Percent Yield". *CHE* 276:91-92
- [14] Anonim. 1997. "Free Fatty Acid". *AOCS Method Ca 5a-40:1-2*
- [15] Rukunudin, I.H., P.J. White, C.J. Bern, and T.B. Bailey. 1998. "A Modified Method for Determining Free Fatty Acids from Small Soybean Oil Sample Sizes". *JAOCS* 75:563-568
- [16] <http://www.institutpertanianbogor>
- [17] <http://www.usm.maine.edu/newton>
- [18] Narayan, A.V., R.S. Barhate, and K.S.M.S. Raghavarao. 2006. "Extraction and Purification of Oryzanol from Rice Bran Oil and Rice Bran Oil Soapstock". *JAOCS* 83:663-670
- [19] Geankoplis, Christie John. 2003. "Transport Processes and Separation Process Principles Fourth Edition". USA: Prentice Hall.

