

Nama Rumpun Ilmu : Teknologi Pangan dan Gizi

LAPORAN PENELITIAN



EVALUASI AKTIFITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BATANG MATOA (*Pometia pinnata* Forst & Forst) PADA MINYAK KELAPA

Oleh :

**NENI TRIMEDONA
NURZARRAH TAZAR**

POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PAYAKUMBUH

2016

Nama Rumpun Ilmu : Teknologi Pangan dan Gizi

LAPORAN PENELITIAN



Payakumbuh, 20 November 2016

EVALUASI AKTIFITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BATANG MATAO (*Pometia pinnata* Forst & Forst) PADA MINYAK KELAPA

Oleh :

NENI TRIMEDONA
NURZARRAH TAZAR



POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI PAYAKUMBUH



2016

RINGKASAN

Proses ketengikan (*rancidity*) merupakan problem utama yang dijumpai pada minyak, lemak dan bahan pangan mengandung lemak. Kerusakan lemak yang utama adalah timbulnya bau dan rasa tengik yang disebut proses ketengikan (*rancidity*). Ketengikan terjadi karena asam lemak pada suhu ruang dirombak akibat hidrolisis atau oksidasi menjadi hidrokarbon, alkanal, atau keton, serta sedikit epoksi dan alkohol (alkanol). Bau yang kurang sedap muncul akibat campuran dari berbagai produk ini. Untuk mengatasi kerusakan jenis ketengikan dapat dilakukan dengan penambahan antioksidan. Antioksidan dapat menghambat proses ketengikan karena antioksidan lebih reaktif dari oksigen. Molekul aktif dari antioksidan menggagalkan terbentuknya peroksida dengan mengikat oksigen.

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibedakan atas antioksidan alami dan sintetik. Antioksidan alami dapat diperoleh dari ekstrak atau senyawa hasil isolasi metabolit sekunder yang terkandung pada tumbuh-tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai sumber antioksidan adalah Matoa (*Pometia pinnata Forst & Forst*). Bagian tumbuhan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit batang matoa. Kulit batang matoa ini diekstraksi menggunakan beberapa pelarut yaitu n-heksana, etil asetat, aseton dan metanol, kemudian filtratnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, ekstrak aseton dan ekstrak metanol. 3 jenis ekstrak digunakan untuk mengevaluasi aktifitas antioksidan pada emulsi minyak kelapa adalah ekstrak etil asetat, ekstrak aseton dan ekstrak metanol. Emulsi minyak kelapa dibuat dengan mencampurkan 3% minyak kelapa dengan 97% air yang mengandung emulsifier tween 80.

Penambahan ketiga jenis ekstrak antioksidan pada sistim emulsi minyak dilakukan dengan beberapa variasi konsentrasi yaitu 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm dan 400 ppm, masing-masingnya sebanyak 3 kali pengulangan. Kemudian emulsi minyak tersebut disimpan selama 7 hari pada inkubator suhu 37°C untuk mempercepat proses oksidasi. Setelah itu dilakukan pengujian bilangan peroksida dengan metode iodometri. Dari hasil pengujian diperoleh bahwa ketiga ekstrak dapat menghambat pembentukan peroksida pada konsentrasi yang diuji dan konsentrasi yang paling efektif menghambat terbentuknya peroksida adalah penambahan ekstrak sebesar 50 ppm untuk ketiga jenis ekstrak, bahkan penambahan ekstrak aseton 50 ppm dapat mengurangi terbentuknya senyawa peroksida sampai 0 Meq/kg minyak (senyawa peroksida tidak terbentuk). Dari hasil pengujian analisa sidik ragam diperoleh bahwa F hitung lebih kecil dari F tabel yang menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata untuk perlakuan tersebut, sehingga tidak dilakukan uji lanjut.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur ke Hadirat Allah Yang Maha Kuasa, yang telah memberikan rahmat dan hidayahnyaNYA sehingga penulisan hasil penelitian yang berjudul “Evaluasi aktifitas antioksidan ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata* Forst & Forst) pada minyak kelapa” dapat diselesaikan. Laporan penelitian disusun berdasarkan pada hasil penelitian yang telah dilaksanakan dan didukung oleh literatur yang terkait.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan terimakasih kepada Pimpinan Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh yang telah memfasilitasi penyediaan dana untuk kegiatan ini serta pihak-pihak yang ikut membantu kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa kesempurnaan adalah milik yang Maha Kuasa, untuk itu diharapkan saran dan kritikan dari pembaca untuk kesempurnaan laporan ini dimasa mendatang. Mudah-mudahan laporan sederhana ini dapat memberikan manfaat untuk kita semua.

Tanjung Pati, November 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	vi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Tujuan penelitian	2
1.3. Manfaat penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1. Tumbuhan matoa (<i>Pometia pinnata Forst & Forst</i>).....	3
2.2. Minyak kelapa	4
2.3. Kerusakan lemak/minyak	5
2.4. Antioksidan.....	6
2.5. Proses ekstraksi.....	8
III. METODOLOGI PENELITIAN.....	9
3.1. Bahan dan Peralatan yang digunakan	9
3.2. Metode	9
3.2.1. Proses ekstraksi.....	9
3.2.2. Pembuatan minyak kelapa dan sistim emulsi	9
3.2.3. Penentuan bilangan peroksida	10
3.3. Rancangan percobaan dan analisis data.....	11
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	12
4.1. Proses ekstraksi.....	12
4.2. Evaluasi aktifitas antioksidan	12
V. KESIMPULAN DAN SARAN	17
5.1. Kesimpulan	17
5.2. Saran	17
DAFTAR PUSTAKA.....	18
LAMPIRAN	19

DAFTAR GAMBAR

	halaman
Gambar 1. Pohon dan buah matoa	3
Gambar 2. Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal	7
Gambar 3. Reaksi antioksidan yang bertindak sebagai prooksidan.....	7
Gambar 4. Bilangan peroksida pada emulsi minyak dengan penambahan ekstrak metanol	13
Gambar 5. Bilangan peroksida pada emulsi minyak dengan penambahan ekstrak aseton.....	14
Gambar 6. Bilangan peroksida pada emulsi minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat.....	15

DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
Lampiran 1. Skema kerja ekstraksi.....	20
Lampiran 2. Contoh perhitungan bilangan peroksida.....	21
Lampiran 3. Hasil analisa sidik ragam.....	22
Lampiran 4. Dokumentasi penelitian.....	23

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Antioksidan merupakan komponen yang dapat melindungi sel dari kerusakan yang diakibatkan oleh spesies oksigen reaktif yang dinamakan radikal bebas. Antioksidan dapat menunda atau menghambat oksidasi lipid atau molekul lain dengan penghambat inisiasi atau paparan dari mekanisme reaksi oksidasi lainnya (Hanani, *et.al.* 2005). Penggunaan senyawa antioksidan akhir-akhir ini berkembang dengan pesat baik untuk bidang kesehatan maupun dalam mempertahankan mutu produk pangan. Dalam produk pangan, antioksidan digunakan untuk mencegah terjadinya proses oksidasi yang dapat menyebabkan kerusakan seperti ketengikan, perubahan warna dan aroma, serta kerusakan fisik. Ketengikan terjadi karena asam lemak pada suhu ruang dirombak akibat proses hidrolisis atau oksidasi menjadi hidrokarbon, alkanal, keton serta sedikit epoksi yang menyebabkan penurunan mutu minyak. Hal ini dapat terjadi pada saat pengolahan dengan suhu tinggi ataupun penyimpanan (Ketaren, 1986)

Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Senyawa antioksidan yang berasal dari bahan-bahan alami mendapat perhatian yang sangat besar akhir-akhir ini, hal ini disebabkan atas dasar penggunaan yang aman dibandingkan antioksidan sintetis.

Tumbuhan merupakan sumber yang potensial untuk mengeksplorasi komponen kimia aktif yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Salah satunya adalah tumbuhan matoa (*Pometia pinnata* Forst & Forst). Tumbuhan matoa dikenal karena rasa buahnya yang khas yaitu perpaduan rasa lengkung dan buah durian. Selain buah, bagian tumbuhan yang dapat dimanfaatkan adalah biji, kayu, kulit batang, daun dan akar. Kulit batang matoa digunakan untuk mengobati luka, cacar ayam, infeksi mulut, sakit perut, diare, disentri, penyakit tulang, sendi, sakit kepala, diabetes dan bisul. (Thomson and Thaman, 2006 ; Whistler, 1991). Trimedona (2016) mengidentifikasi bahwa pada kulit batang matoa terkandung senyawa fenolik, kumarin, flavonoid, triterpenoid dan steroid. Kandungan metabolit

sekunder ini menunjukkan adanya komponen aktif yang berperan pada penggunaan tumbuhan sebagai bahan dalam pengobatan ataupun manfaat lainnya.

Salah satu peran metabolit sekunder yang terkandung pada kulit batang matoa adalah aktifitas antioksidannya. Pada pengujian aktifitas antioksidan secara *in vitro* dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl) (Trimedona, 2016) diperoleh bahwa ekstrak etil asetat, aseton dan metanol dari kulit batang matoa mempunyai kemampuan sebagai komponen antioksidan dengan nilai IC₅₀ yang kecil dari 50 µg/mL. Molyneux (2004) menyatakan bahwa semakin kecil nilai IC₅₀ suatu ekstrak atau senyawa maka komponen tersebut semakin aktif sebagai antioksidan. Potensi yang dimiliki oleh ekstrak kulit batang matoa sebagai komponen antioksidan, harus diuji atau diterapkan pada produk pangan yang berlemak/minyak sehingga diketahui sejauh mana efektifitasnya sebagai antioksidan. Untuk mengetahui apakah ekstrak kulit batang matoa dapat menghambat atau mengurangi terbentuknya senyawa peroksida akibat proses oksidasi pada minyak/lemak dan berapa besar konsentrasi ekstrak yang efektif sebagai antioksidan, untuk itu dilakukan penelitian yang berjudul “Evaluasi aktifitas antioksidan ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata* Forst&Forst) pada minyak kelapa”.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak antioksidan yang aktif melalui pengujian secara *in vitro* dapat efektif diaplikasikan pada produk lemak atau minyak dan berapa besar konsentrasi masing-masing ekstrak yang dapat menghambat pembentukan bilangan peroksida.

1.3. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian dapat memberikan kontribusi pada bidang Teknologi Pangan terutama pada penggunaan zat antioksidan alami pengganti antioksidan sintetik yang dapat memberikan efek samping terhadap kesehatan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tumbuhan matoa

Tumbuhan ini termasuk dalam genus *Pometia* dan suku rambutan-rambutanan (Sapindaceae). Matoa terdistribusi secara luas di Asia Pasifik meliputi Indonesia, Malaysia, Australia, Papua Nugini sampai kepulauan Solomon, Fiji dan Tonga ((Thomson dan Thaman, 2006). Pohon matoa dapat tumbuh tinggi sampai 40 m dengan diameter batang sampai dengan 1 m lebih. Penyebaran matoa hampir terdapat di seluruh wilayah dataran rendah hingga ketinggian \pm 1200 m di atas permukaan laut (Suhono, B. 2010 ; Heyne, 1987).

Tumbuhan matoa tersebar luas hampir di seluruh wilayah Indonesia, namun yang paling terkenal adalah matoa yang berasal dari Papua, karena mempunyai rasa buah yang manis dan harum. Buah matoa berbentuk bulat melonjong seukuran telur puyuh atau buah pinang, kulit luar buah yang masak mempunyai warna yang bervariasi mulai dari hijau, kemerah-merahan sampai ungu. Kulit ari putih bening melekat pada biji, manis dan harum, buah ini kaya akan vitamin C, serat makanan dan sejumlah vitamin dan mineral (Secretariat of the Pacific Community. 2001). Pohon dan buah matoa dapat dilihat pada Gambar 1 :



Gambar 1. Pohon dan buah matoa

Secara etnobotani, tumbuhan matoa telah digunakan dalam pengobatan beberapa penyakit atau masalah kesehatan. Kulit batang matoa digunakan untuk mengobati luka bakar dan luka bernanah, mengobati demam, cacar ayam, sakit perut, diare, disentri, batuk, sembelit, penyakit tulang, otot dan sendi, sakit kepala, flu, diabetes dan bisul. Sifat antiseptik pada penggunaan kulit batang matoa sebagai obat

tradisional mungkin disebabkan oleh adanya kandungan saponin. Selain saponin (glikosida dari asam oleanolat) kulit batang tumbuhan ini mengandung leukoantosianidin dan tanin terkondensasi (Thomson and Thaman, 2006 ; Wiart, 2006). Hasil pengujian fitokimia tumbuhan ini memperlihatkan adanya kandungan metabolit sekunder seperti senyawa fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid dan kumarin. Sebagian besar senyawa fenolik dikenal sebagai senyawa yang mempunyai aktifitas antioksidan.

2.2. Minyak Kelapa

Daging buah kelapa merupakan salah satu sumber minyak dan protein yang penting yang biasanya diolah menjadi kopra, minyak dan santan. Komposisi kimia 100 g daging buah kelapa bergantung pada tingkat kematangannya yaitu kalori sekitar 68–359 kal, protein 1-3,4 g, lemak 0,9-34,7 g, karbohidrat 10-14 g, kalsium 7-21 mg, fosfor 21-35 mg, besi 1-33 mg, aktifitas vit A 0 - 0,1 IU, thiamin 0,05 - 0,1 mg, vitamin C 2–4 mg, air 46,9-83 g (Direktorat Gizi Depkes RI (1981). Santan mengandung senyawa nonylmethylketon, dengan suhu yang tinggi akan menyebabkan bersifat volatil dan menimbulkan bau yang enak. Santan adalah emulsi yang terdiri atas butiran minyak berlapis air di bagian luar dan terdapat emulsifier atau 'pengikat' berupa protein sehingga keduanya bisa menyatu.

Salah satu cara pembuatan minyak kelapa dapat dilakukan dengan cara basah yang diawali dengan pembuatan santan yang merupakan emulsi minyak dari daging buah kelapa dalam air, kemudian emulsi dipecah sehingga minyak dapat diambil (Ketaren, 1986). Pembuatan minyak dengan cara basah meliputi cara tradisional, pemanasan, penguapan, pemanasan bertingkat, sentrifugasi, lava, pancingan dan enzimatik (Rindengan, *et. al*, 2005). Pembuatan minyak kelapa dengan cara pemanasan secara tradisional relatif mudah, peralatan yang digunakan relatif sederhana, tetapi kualitas minyak kelapa yang dihasilkan kurang baik karena selama pemanasan pada suhu tinggi (100 – 110 °C) protein, lemak, dan antioksidan yang dikandung akan rusak. Selain itu minyak yang dihasilkan tidak jernih dan tidak tahan lama, hanya bertahan sekitar 2 - 3 minggu (Setiaji, *et. al*. 2006).

2.3. Kerusakan Lemak/Minyak

Kerusakan lemak yang utama adalah timbulnya bau dan rasa tengik yang disebut proses ketengikan (*rancidity*), ketengikan terjadi karena asam lemak pada suhu ruang dirombak akibat hidrolisis atau oksidasi menjadi hidrokarbon, alkanal, atau keton, serta sedikit epoksi dan alkohol (alkanol). Bau yang kurang sedap muncul akibat campuran dari berbagai produk ini. Selain pada suhu kamar, proses ini dapat terjadi selama proses pengolahan menggunakan suhu tinggi. Hasil oksidasi minyak atau lemak dalam bahan pangan tidak hanya mengakibatkan rasa dan bau tidak enak, tetapi juga dapat menurunkan nilai gizi karena rusaknya vitamin (karoten dan tokoferol) dan asam lemak esensial dalam lemak.

Proses oksidasi dapat berlangsung jika terjadi kontak langsung antara minyak dengan oksigen. Pada proses ini molekulmolekul oksigen akan terikat pada ikatan rangkap dari asam-asam lemak bebas tidak jenuh. Ikatan rangkap dari asam-asam lemak tidak jenuh yang telah mengalami proses oksidasi akan pecah membentuk ikatan asam lemak berantai pendek seperti aldehid dan keton. Proses ketengikan (*rancidity*) merupakan problem utama yang dijumpai pada minyak, lemak dan bahan pangan mengandung lemak. Ketengikan dapat disebabkan oleh aktifitas enzim, proses hidrolisis, maupun proses oksidasi. Ketengikan hidrolisis (*hydrolytic rancidity*), diakibatkan oleh reaksi antara minyak dengan air yang berasal dari bahan pangan yang digoreng sehingga akan dihasilkan asam lemak bebas yang menyebabkan timbulnya bau tidak enak. Ketengikan oksidasi (*oxidative rancidity*), akan menyebabkan destruksi vitamin yang larut dalam minyak seperti vitamin A, D, E dan K serta akan mendestruksi asam lemak, reaksi oksidasi dapat terjadi jika oksigen bereaksi dengan minyak (Lehninger, 1993). Ketengikan enzim (*enzymatic rancidity*), bahan pangan berlemak dengan kadar air dan kelembaban udara tertentu merupakan medium paling baik dengan pertumbuhan jamur. Jamur tersebut mengeluarkan enzim yang dapat menguraikan trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol.

Ketengikan karena proses oksidasi terjadi pada ikatan tidak jenuh dalam asam lemak. Pada suhu kamar sampai dengan suhu 100°C, setiap ikatan tidak jenuh dapat mengabsorpsi 2 atom oksigen, sehingga terbentuk persenyawaan peroksida yang bersifat labil. Peroksida ini dapat menguraikan radikal tidak jenuh yang masih utuh

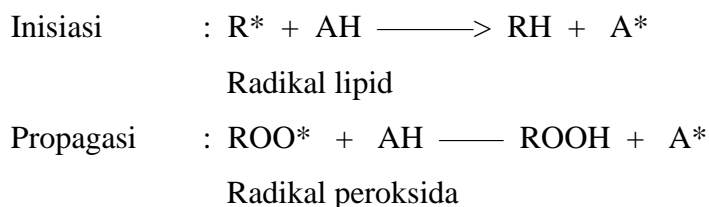
sehingga terbentuk 2 molekul persenyawaan oksida. Proses pembentukan peroksida ini dipercepat oleh adanya cahaya, suasana asam, kelembaban udara dan katalis. Beberapa jenis logam atau garam-garamnya yang terdapat dalam minyak merupakan katalisator dalam proses oksidasi, misalnya logam tembaga, besi, kobalt, vanadium, mangan, nikel, chromium, sedangkan aluminium kecil pengaruhnya terhadap proses oksidasi. Kenaikan bilangan peroksida merupakan indikator bahwa tidak lama lagi, minyak akan menjadi tengik (Ketaren, 1986). Untuk kerusakan jenis ketengikan dan polimerisasi dapat dihambat dengan penambahan antioksidan.

2.4. Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa/zat yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam proses oksidasi lipid (Kochhar dan Rossell, 1990). Antioksidan dapat menghambat proses ketengikan karena antioksidan lebih reaktif dari oksigen. Molekul aktif dari antioksidan menggagalkan terbentuknya peroksida dengan mengikat oksigen. Antioksidan dari minyak untuk bahan makanan biasanya merupakan bentuk fenolik. Aktifitas antioksidan tipe fenolik dapat disetarakan dengan reaksi kesetimbangan redoks antara quinol dan quinine. Orto dan para hydroxyphenol merupakan antioksidan yang sangat kuat, tetapi meta hydroxyphenol tidak.

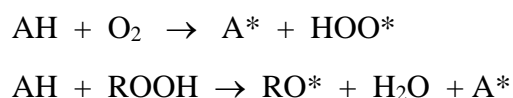
Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon,1990). Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Radikal-radikal antioksidan (A^*) yang terbentuk pada reaksi

tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru (Gordon, 1990). Mekanisme pengikatan radikal bebas oleh antioksidan pada oksidasi lemak dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 2. Reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal lipid

Besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik justru sering lenyap, bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Gambar 3). Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji.



Gambar 3. Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi

Berdasarkan pada sumbernya, antioksidan dapat dibedakan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan alami yang diperoleh dari hasil ekstraksi bahan alami dan antioksidan sintetik yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia. Antioksidan alami biasanya lebih disukai karena tingkat keamanan yang lebih baik dan manfaatnya yang lebih luas dibidang makanan, kesehatan dan kosmetik. Antioksidan alami yang terdapat di dalam makanan dapat berasal dari 1) senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan; 2) senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan; 3) senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Pratt, 1992).

Senyawa antioksidan alami yang terdapat pada tumbuhan, umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon,

kateksin, flavonol dan kalkon, sedangkan pada turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain (Pratt, 1992)

Antioksidan sintetik merupakan antioksidan yang secara reaksi kimia. Beberapa contoh antioksidan sintetik yang diijinkan penggunaannya untuk makanan antara lain Butylated hydroxyanisole (BHA), Butylated hydroxytoluene (BHT), Propylgallate (PG), dan Tertierbutyl hydroquinon (TBHQ). TBHQ telah terbukti sebagai antioksidan yang paling efektif untuk minyak nabati maupun lemak hewani, karena TBHQ bersifat lebih tahan terhadap panas dibandingkan antioksidan lainnya.

2.5. Proses Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut menggunakan pelarut cair (biasanya pelarut organik). Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari bahan alam dapat menggunakan sampel segar atau sampel kering dan berbagai cara ekstraksi dapat digunakan tetapi harus mempertimbangkan sifat senyawa yang diisolasi sehingga tidak mengalami perubahan struktur. Beberapa cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut antara lain maserasi, perkolasi, distilasi dan sokletasi (Harborne. 1996).

Maserasi merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Proses maserasi dapat dilakukan tanpa pemanasan atau dengan pemanasan atau dengan pengocokan ultrasonik.

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kulit batang matoa yang telah kering dan dihaluskan, kelapa (untuk pembuatan minyak). Bahan kimia yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah n-heksan, etil asetat, aseton dan metanol. Untuk pembuatan emulsi minyak digunakan tween 80, untuk pengujian bilangan peroksida adalah kloroform, asam asetat glasial, kalium iodida, natrium tiosulfat, natrium hidroksida, amilum, fenolftalein, alkohol dan aquades.

Peralatan yang digunakan adalah peralatan gelas, seperangkat alat distilasi, rotary evaporator, oven, inkubator dan homogenizer.

3.2. Metode

3.2.1. Proses Ekstraksi

Serbuk kulit batang matoa dimaserasi dengan n-heksan selama 3 x 24 jam dan diulang sebanyak 5 kali (setelah diperoleh filtrat yang bening). Setelah dilakukan penyaringan, residu dimaserasi dengan dengan etil asetat selama 3 x 24 jam sebanyak 5 kali pengulangan, selanjutnya menggunakan aseton dan terakhir dengan pelarut metanol selama 3 x 24 jam selama 5 kali pengulangan untuk masing-masingnya. Setiap ekstrak dipekatkan menggunakan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, ekstrak aseton dan ekstrak metanol.

3.2.2. Pembuatan minyak kelapa dan sistem emulsinya

Minyak yang digunakan dalam penelitian dibuat dari parutan kelapa yang diperas untuk diambil santan kentalnya. Santan kental tersebut dipanaskan dengan cara direbus untuk memisahkan komponen minyak yang terkandung di dalamnya, kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan minyak dan ampas parutan kelapa. Filtrat yang dihasilkan kemudian disaring lagi dengan kertas Whatman No. 42 agar diperoleh minyak kelapa yang bening. Sistem emulsi minyak dibuat dengan mengacu pada metode

Santoso *et al.* (2004) yang dimodifikasi, yaitu dengan menghomogenkan 3% minyak kelapa dan 97% air yang mengandung 1% Tween 80.

3.2.3. Penentuan bilangan peroksida

Sistem emulsi minyak ditambahkan ekstrak kulit batang matoa yang mempunyai aktifitas antioksidan (ekstrak etil asetat, aseton dan metanol) sebanyak 0 ppm (tanpa penambahan ekstrak), 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm dan 400 ppm yang selanjutnya disebut sampel minyak. Sampel minyak selanjutnya disimpan selama tujuh hari dalam inkubator bersuhu 37°C untuk mempercepat proses oksidasi. Sampel minyak kemudian ditimbang sebanyak 5 gram di dalam labu erlenmeyer kemudian ditambahkan 30 mL pelarut yang terdiri dari 60% asam asetat glasial dan 40% kloroform. Minyak yang telah larut ditambahkan 0,5 mL larutan KI jenuh dan didiamkan 15 menit dalam ruang gelap sambil dikocok. Iod yang terbentuk dititrasi dengan larutan Na₂S₂O₃ 0,01 N dengan indikator pati 1%. Titrasi dihentikan saat larutan sampel menjadi tidak berwarna. Hasil pengurangan volume akhir terhadap volume awal larutan Na₂S₂O₃ 0,01 N yang ditunjukkan oleh skala pada buret merupakan volume total larutan Na₂S₂O₃ 0,01 N yang digunakan untuk titrasi sampel. Cara yang sama dibuat juga untuk penerapan blanko. Masing-masing perlakuan sebanyak tiga kali ulangan. Nilai bilangan peroksida dinyatakan dengan miliequivalen per 1 kg minyak atau lemak yaitu dengan rumus:

$$\text{Miliequivalen/kg bahan} = \frac{(a-b) \times N \times 1000}{g}$$

Keterangan:

a = jumlah ml larutan Na₂S₂O₃ untuk titrasi sampel

b = jumlah ml larutan Na₂S₂O₃ untuk titrasi blanko

N = normalitas larutan Na₂S₂O₃

g = berat sampel (gram)

3.3. Rancangan Percobaan dan Analisis Data (Steel dan Torrie 1991)

Analisis data dilakukan terhadap hasil pada tahap aplikasi terhadap emulsi minyak. Tahapan aplikasi terhadap emulsi minyak bertujuan untuk menentukan seberapa besar konsentrasi ekstrak masing-masing pelarut yang mampu menghambat pembentukan peroksida dalam emulsi minyak. Faktor yang digunakan adalah konsentrasi ekstrak dengan lima taraf yaitu 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm dan 400 ppm. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Jika hasil dari pengujian menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata pada selang 95% ($\alpha=0,05$) maka dilakukan uji lanjut Duncan.

IV. PEMBAHASAN

4.1. Proses ekstraksi

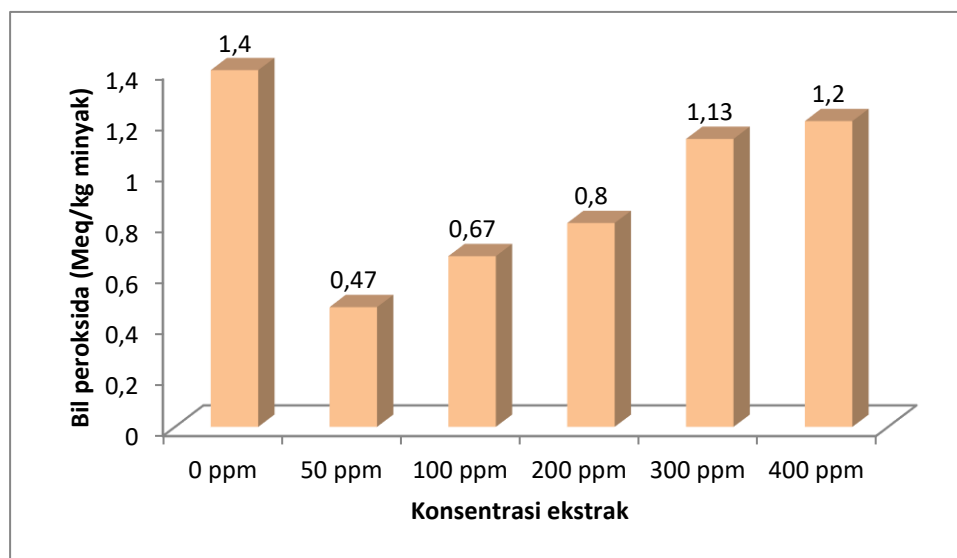
Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian adalah secara maserasi, yaitu metode ekstraksi yang paling sederhana dengan cara merendam (maserasi) sampel menggunakan pelarut organik. Proses ekstraksi dimulai dari pelarut yang bersifat non polar (n-heksana) yang dilanjutkan secara berurutan menggunakan pelarut semi polar sampai pelarut polar yaitu etil asetat, aseton dan metanol. Pada proses ini diharapkan komponen kimia dapat terekstrak sesuai dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan. Proses dilanjutkan dengan pemekatan filtrat yang diperoleh menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan empat macam ekstrak yaitu ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat, ekstrak aseton dan ekstrak metanol.

Proses ekstraksi diawali dengan menggunakan pelarut n-heksana yang ditujukan agar senyawa-senyawa yang bersifat non polar dapat larut dan terekstrak dengan pelarut sehingga dapat terpisah dengan senyawa yang bersifat semi polar/polar pada proses ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat, aseton, maupun metanol. Perbedaan kepolaran komponen yang terekstrak pada masing-masing ekstrak akan memberikan kontribusi yang berbeda terhadap sifat antioksidan dari masing-masing ekstrak. Dari penelitian terdahulu, hasil pengujian aktifitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picryl-Hydrazyl*) terhadap ekstrak kulit batang matoa memperlihatkan bahwa ekstrak n-heksana tidak termasuk kategori aktif antioksidan, sedangkan ekstrak etil asetat, aseton dan metanol termasuk kategori aktif antioksidan dengan nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) sebesar 46,04 ; 11,34 dan 14,34 $\mu\text{g/mL}$ (Trimedona, 2016). Untuk itu, ekstrak yang digunakan dalam evaluasi aktifitas antioksidan menggunakan minyak kelapa dengan pengukuran bilangan peroksida adalah ekstrak yang aktif antioksidan yaitu ekstrak etil asetat, ekstrak aseton dan ekstrak metanol.

4.2. Evaluasi Aktifitas Antioksidan

Pembentukan peroksida merupakan hasil reaksi antar lemak tidak jenuh dengan oksigen yang dapat dijadikan sebagai indikasi kerusakan minyak atau lemak. Penghitungan bilangan peroksida merupakan salah satu cara untuk menentukan derajat kerusakan minyak atau lemak (Ketaren 1986). Model yang digunakan untuk

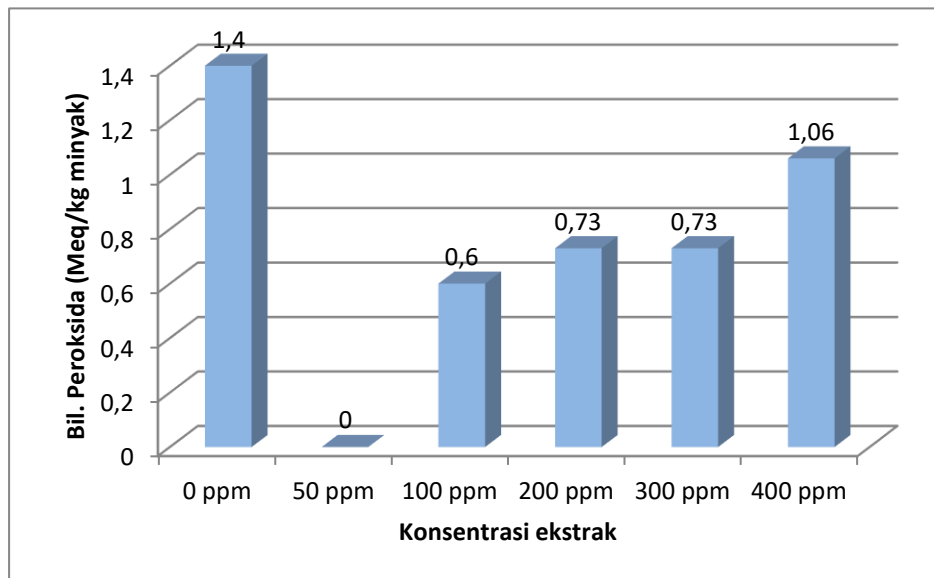
mengevaluasi aktifitas antioksidan 3 jenis ekstrak kulit batang matoa adalah dengan menggunakan emulsi minyak kelapa. Aktifitas antioksidan diukur dengan cara menghitung bilangan peroksida emulsi minyak yang telah dicampur dengan ekstrak sebanyak 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, dan 400 ppm selama tujuh hari penyimpanan dalam inkubator dengan suhu 37°C. Hasil dari masing-masing emulsi minyak tersebut dibandingkan dengan emulsi minyak tanpa penambahan ekstrak kulit batang matoa, dalam penelitian disebut dengan emulsi minyak 0 ppm. Santoso *et al* (2004) menyatakan bahwa penambahan zat antioksidan dalam emulsi minyak akan menghambat pembentukan bilangan peroksida. Perbedaan bilangan peroksida untuk masing-masing sampel setelah penambahan tiga jenis ekstrak kulit batang matoa dan masa penyimpanan selama tujuh hari pada suhu 37°C dapat dilihat pada Gambar 4, 5 dan 6.



Gambar 4. Bilangan peroksida pada emulsi minyak dengan penambahan ekstrak metanol kulit batang matoa

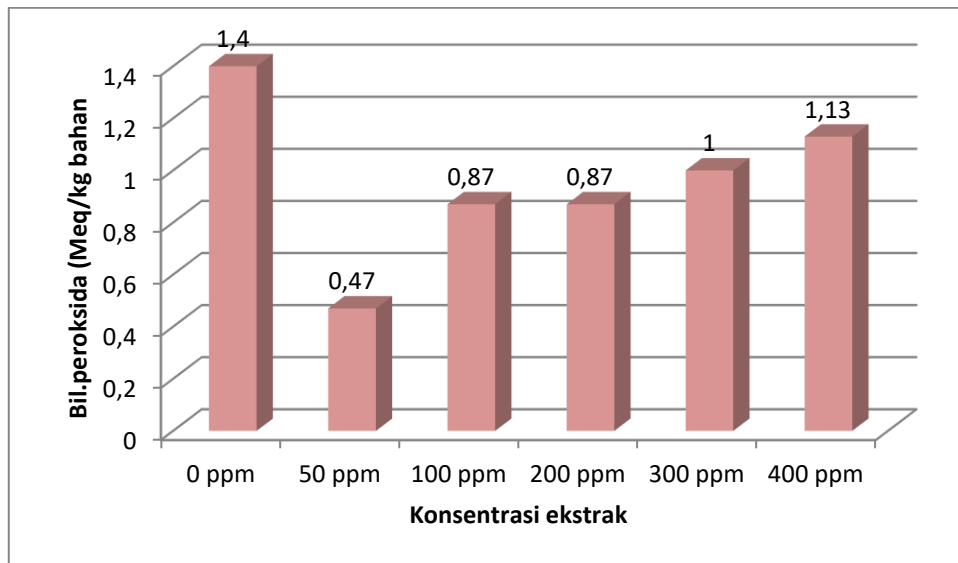
Hasil penghitungan bilangan peroksida terhadap sampel menunjukkan bahwa penambahan ekstrak metanol kulit batang matoa dengan konsentrasi yang berbeda dapat mengurangi pembentukan senyawa peroksida yang ditandai dengan menurunnya nilai bilangan peroksida. Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa emulsi minyak tanpa penambahan ekstrak (0 ppm) mempunyai bilangan peroksida sebesar 1,4 Meq/kg minyak, dengan penambahan 50 ppm ekstrak dapat menurunkan

bilangan peroksida menjadi 0,47 Meq/kg minyak. Begitupun dengan penambahan ekstrak metanol sebesar 100 ppm sampai 400 ppm, bilangan peroksida juga dapat diturunkan menjadi 0,67-1,2 Meq/kg minyak. Hal ini mengindikasikan bahwa komponen kimia dalam ekstrak metanol kulit batang matoa mampu menghambat pembentukan bilangan peroksida selama proses penyimpanan dengan pemanasan pada suhu 37°C.



Gambar 5. Bilangan peroksida pada emulsi minyak dengan penambahan ekstrak aseton kulit batang matoa

Dari Gambar 4 terlihat bahwa terjadi pengurangan bilangan peroksida sampai 0 Meq/kg minyak, artinya komponen antioksidan pada ekstrak aseton berhasil menghambat proses oksidasi sehingga senyawa peroksida tidak terbentuk. Pada penambahan ekstrak aseton dengan konsentrasi yang lebih tinggi juga dapat menyebabkan berkurangnya bilangan peroksida dibandingkan dengan tanpa penambahan ekstrak aseton.



Gambar 6. Bilangan peroksida pada emulsi minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat kulit batang matoa

Hal yang sama juga terjadi pada penambahan ekstrak etil asetat pada emulsi minyak sebagaimana yang terlihat pada Gambar 6. Pengurangan bilangan peroksida paling banyak terjadi pada penambahan ekstrak sebesar 50 ppm dengan nilai bilangan peroksida menjadi 0,47 Meq/kg minyak.

Dari data diatas terlihat bahwa konsentrasi masing-masing ekstrak paling efektif untuk dapat menghambat pembentukan peroksida adalah 50 ppm, dimana terjadi pengurangan bilangan peroksida sampai 100% untuk ekstrak aseton dan 66,4% untuk ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat. Pada data juga terlihat bahwa penambahan ekstrak sebesar 100-400 ppm juga mampu mengurangi terbentuknya peroksida dibandingkan dengan tanpa penambahan ekstrak, namun angka peroksidanya meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Hal ini dapat disebabkan karena antioksidan kehilangan reaktivitas, dimana terjadi perubahan antioksidan menjadi prooksidan (zat yang memudahkan atau mempercepat proses oksidasi). Menurut Gordon (1990), besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh terhadap laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktifitas antioksidan grup fenolik justru sering lenyap/berkurang, bahkan antioksidan tersebut berubah menjadi prooksidan.

Ekstrak tumbuh-tumbuhan masih mengandung beragam jenis senyawa didalamnya, yang mempunyai sifat yang berbeda satu dengan lainnya. Komponen

antioksidan yang terdapat dalam ekstrak bisa bersifat sinergisme (aksi saling memperkuat aktifitas antioksidan) ataupun sifat saling meniadakan. Jadi kemungkinan naiknya bilangan peroksida seiring naiknya konsentrasi bisa disebabkan karena efek saling meniadakan aktifitas antioksidan dari masing-masing komponen pada konsentrasi yang tinggi.

Ditinjau dari analisa sidik ragam (Lampiran 3) diperoleh hasil bahwa F hitung lebih kecil dari F tabel, artinya tidak terdapat perbedaan nyata antara nilai bilangan peroksida dari beberapa konsentrasi sehingga tidak dilakukan uji lanjut Duncan. Namun dari sisi penggunaan bahan kimia (alami atau sintetik), perbedaan bilangan peroksida yang dihasilkan dari beberapa perlakuan pada emulsi minyak, sangat berpengaruh terhadap mutu minyak jikalau diaplikasikan terhadap produk pangan.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, dapat diambil beberapa kesimpulan sebagai berikut :

1. Semua ekstrak kulit batang matoa (ekstrak metanol, ekstrak aseton dan ekstrak etil asetat) dengan beberapa variasi konsentrasi aktif menghambat pembentukan senyawa peroksida pada system emulsi minyak.
2. Bilangan peroksida emulsi minyak 0 ppm mempunyai bilangan peroksida 1,4 Meq/kg minyak, penambahan ekstrak aseton dengan konsentrasi 50 ppm mampu mengurangnya sampai 0 Meq/kg minyak.
3. Untuk masing-masing ekstrak, konsentrasi yang paling efektif menghambat pembentukan senyawa peroksida adalah penambahan ekstrak sebesar 50 ppm.

5.2. Saran

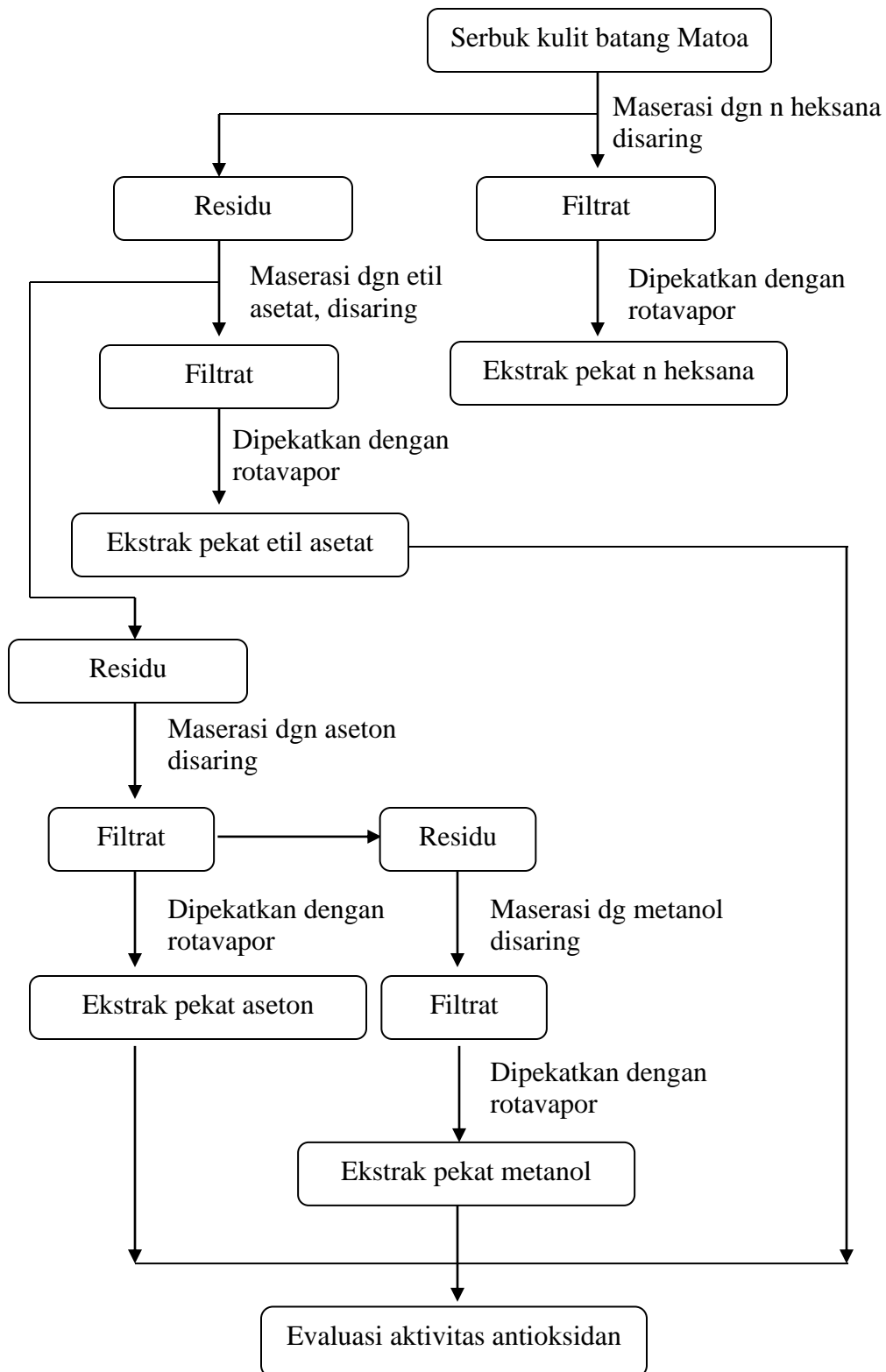
Dari hasil penelitian yang diperoleh, disarankan untuk penelitian lanjutan evaluasi aktifitas antioksidan pada produk lain dan perlunya pengujian secara in vivo.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriantono, A. Dkk. 1989. Analisis Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. IPB. Bogor 2.
- Gordon, MH. 1990. The mechanism of antioxidants action in vitro. Di dalam: Hudson BJB, ed. Food antioxidants. *Elsevier Applied Science*, London.
- Hanani, E; Mun'im, A., dan Sekarini, R. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp. Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmiah Kefarmasian*, 3(2): 127-133.
- Harborne, J.B. 1996. Metode Fitokimia : Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Penerjemah Kosasih Padmawinata. Cetakan ke-2. Penerbit ITB.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan berguna Indonesia III. Cetakan ke-1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Departemen Kehutanan. Jakarta. Hal. 1264-1265
- Ibrahim, S. dan Sitorus, M. 2010. Teknik Laboratorium Kimia Organik, Pasca Sarjana, Universitas Andalas. Padang
- Ketaren, S., 1986. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan, Universitas Indonesia (UI Press).
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hidrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- Pratt, D. E. 1992. Natural Antioxidant from Plant Material. . Di dalam Huang, M. T., Ho, C. T. dan Lee, C. Y. (eds). *Effect on Health II : Antioxidant and Cancer Prevention*. American Chem. Soc., Washington, DC
- Rindengan, B., dan Novariant Hengky. 2005. *Virgin Coconut Oil, Pembuatan & Pemanfaatan Minyak Kelapa Murni*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Setiaji, B., Surip P., 2006. *Membuat VCO Berkualitas Tinggi*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Santoso J, Yoshie Y, Suzuki T. 2004. Antioxidant activity of methanol extract from Indonesian seaweeds in an oil emulsion model. *Fisheries Science* 70:183-188
- Secretariat of the Pacific Community. 2001. *The Fruit We Eat*. Secretariat of the Pacific headquarter. New Caledonia. 118-119
- Sudharmono. 2000. *Matoa (Pometia pinnata J.R. Forst & G. Forst) : Keragaman Jenis dan Potensi*. Prosiding Seminar Hari Cinta Puspa dan Satwa Nasional.
- Suhono, B dan Tim Penulis LIPI, 2010. *Ensiklopedia Flora*. Pusat Penelitian Biologi LIPI. P.T. Kharisma Ilmu. Bogor. Hal. 114
- Steel R.G.D and Torie, JH. 1993. *Prinsip dan prosedur statistika, suatu pendekatan biometric*. PT Gramedia Pustaka. Jakarta

- Thomson, L.A.J and Thaman, R.R. *Pometia pinnata* G.R. Forst & G. Forst (tava). ver. 2.1. In: Elevitch, C.R. (ed.). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR) Publishers, Holualoa, Hawai'i. 2006. 1-17
- Trimedona, N. 2016. Isolasi dan pengujian bioaktifitas metabolit sekunder dari ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata*, Forst & Forst). Disertasi. Universitas Andalas. Padang
- Uji, T. 2007. Review : Keanekaragaman Jenis Buah-Buahan Asli Indonesia dan Potensinya. Biodiversitas. Volume 8, Nomor 2 April 2007. hal 157-167
- Whistler W.A. 1991. Herbal Medicine in the Kingdom of Tonga, Journal of Ethnopharmacology. 31: 339-372.
- Wiart. C. 2006. Medicinal plants of Asia and the Pacific. Taylor & Francis Group. Boca Raton. hal. 174-175.

Lampiran 1. Skema kerja ekstraksi



Lampiran 2. Contoh perhitungan bilangan peroksida emulsi minyak dengan penambahan ekstrak kulit batang matoa

Konsentrasi ekstrak (ppm)	Ulangan	Vol. tio (mL)	Bil. Peroksida (Meq/kg bahan)	Rata-rata
0	1	0.6	1.2	1.4
	2	0.8	1.6	
	3	0.7	1.4	
50	1	0.2	0.4	0.47
	2	0.3	0.6	
	3	0.2	0.4	
100	1	0.5	1	0.87
	2	0.4	0.8	
	3	0.4	0.8	
200	1	0.2	0.4	0.87
	2	0.6	1.2	
	3	0.5	1	
300	1	0.3	0.6	1.00
	2	0.6	1.2	
	3	0.6	1.2	
400	1	0.6	1.2	1.13
	2	0.6	1.2	
	3	0.5	1	

Rumus perhitungan bilangan peroksida

$$\text{Miliequivalen/kg bahan} = \frac{(a-b) \times N \times 1000}{g}$$

a = jumlah ml larutan Na₂S₂O₃ untuk titrasi sampel

b = jumlah ml larutan Na₂S₂O₃ untuk titrasi blanko

N = normalitas larutan Na₂S₂O₃ (0,01 N)

g = berat sampel (5 gram)

Untuk konsentrasi 50 ppm ulangan 1

$$\begin{aligned} \text{Miliequivalen/kg bahan} &= \frac{(0,2-0) \times 0,01 \times 1000}{5} \\ &= 0,4 \text{ Meq/kg minyak} \end{aligned}$$

Lampiran 3. Analisa sidik ragam terhadap bilangan peroksida sampel minyak dengan penambahan ekstrak kulit batang matoa

a. Ekstrak aseton

Sumber keragaman	db	JK	KT	Fhitung	Ftabel
Perlakuan	5	3.29111	0.65822	1.02074	3.2
Ulangan	2	0.00444	0.00222		
Galat	11	7.09333	0.64485		
Total	18	10.38889			

b. Ekstrak metanol

Sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	Ftabel
Perlakuan	5	1.9044	0.3809	0.9242	3.2
Ulangan	2	0.1644	0.0822		
Galat	11	4.5333	0.4121		
Total	18	6.6022			

c. Ekstrak etil asetat

Sumber keragaman	db	JK	KT	Fhit	Ftabel
Perlakuan	5	1.4578	0.2916	0.8154	3.2
Ulangan	2	0.2711	0.1356		
Galat	11	3.9333	0.3576		
Total	18	5.6622			

Keterangan :

Fhitung lebih kecil dari Ftabel, hasil pengujian menunjukkan **tidak** adanya pengaruh yang berbeda nyata pada selang 95% ($\alpha=0,05$) maka analisa tidak dilanjutkan dengan uji Duncan.

Lampiran 4. Dokumentasi penelitian



Larutan induk ekstrak kulit batang matoa



Ekstrak yang telah diencerkan



Pelarutan tween 80



Pembuatan emulsi minyak



Emulsi minyak yang telah ditambah ekstrak kulit mataoa



Proses pemanasan pada suhu 37°C