



UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FRAKSI ETIL ASETAT DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum*) DAN UJI BILANGAN PEROKSIDA-NYA TERHADAP MINYAK GORENG CURAH

Vritta Amroini Wahyudi^{1*)}, Afifah Nuril Aini²⁾, Dian Puspita²⁾, Ayu Ramadhanni Kumala Dewi³⁾

- 1) Food science and technology department, Agriculture and Animal Science Faculty, Muhammadiyah University of Malang, Indonesia
- 2) Collage Food science and technology department, Agriculture and Animal Science Faculty, Muhammadiyah University of Malang, Indonesia

Choresponding author: vritta@umm.ac.id

Abstract Cooking oil is a necessity of the people of Indonesia that is always needed. Based on the stages of manufacture, oil is divided into two, namely branded oil and bulk oil. Until now, branded oil is still the main choice even though it is economically more expensive than bulk oil. This is related to the tendency of bulk oil to experience rancidity due to oxidation reactions. The quality of bulk oil can be scientifically improved by the addition of antioxidants. Commonly used antioxidants are synthetic antioxidants such as TBHQ. Natural antioxidants are less popular because they have only stalled in the study but have not been compared significantly with synthetic antioxidants. In this study, a research is used to find out the stability of bulk oil with the addition of bay leaf ethyl acetate fraction and as a comparison of the use of TBHQ. Analysis of antioxidant activity of DPPH method was also used to find out determine the relationship between the power of antioxidant activity with the quality of bulk cooking oil. The evaluation was performed on the addition of bay leaf extract with various concentrations treated on bulk oil by heating for 20 minutes using 90°C temperature. The results showed that the bay leave ethyl acetate fraction has IC50 value of 19.473 ppm, so it can effectively reduce the number of peroxide. The smallest peroxide number was obtained at treatment P6 (1%) that is 5,304 meqO₂ / kg, where TBHQ (0,2%) as comparison have value equal to 4,147 meqO₂ / kg. This shows that the antioxidant activity is very strong in bay leaf significantly affect the inhibition of bulk oil destruction. Natural antioxidant from bay leaf can prevent bulk oil from oxidation as well as synthetic antioxidants, but safer than synthetic antioxidants.

Keywords: *antioxidant activity, bay leave, peroxide test, bulk oil*

Pendahuluan

Minyak goreng merupakan salah satu kebutuhan masyarakat Indonesia untuk mendukung kegiatan sehari-hari. Berdasarkan proses pembuatannya minyak goreng terbagi menjadi dua yaitu, minyak goreng kemasan bermerk (melalui proses *bleaching* atau pemutihan) dan minyak goreng curah (tidak melalui proses *bleaching*) (Widayat, 2006). Minyak goreng curah tidak melalui proses *bleaching* sehingga dikhawatirkan lebih cenderung mengalami rensiditas atau ketengikan dibandingkan dengan minyak goreng kemasan. Kecenderungan minyak goreng

mengalami rensiditas berhubungan dengan terjadinya reaksi oksidasi (Winarno, 2004).

Jika dilihat dari segi ekonomi, minyak goreng curah sebenarnya memiliki harga yang relatif lebih terjangkau dibandingkan dengan minyak goreng kemasan. Rata-rata harga minyak goreng curah adalah Rp 11.405/kg sedangkan rata-rata harga minyak goreng kemasan adalah Rp 16.766/kg (Badan Pusat Statistik, 2013). Harga yang terjangkau tersebut ternyata tidak terlalu berpengaruh di persentasi pangsa pasar. Survey pasar sebelumnya menunjukkan angka 30% untuk persentase penjualan minyak goreng curah, sisanya yaitu 70% dikuasai oleh minyak goreng kemasan (Fadhila, 2008). Fakta ini menarik karena menunjukkan bahwa tingkat kepercayaan masyarakat untuk menggunakan minyak goreng kemasan lebih tinggi dibandingkan dengan minyak goreng curah. Artinya, masyarakat merasa kualitas minyak goreng curah masih tertinggal dengan minyak goreng kemasan.

Kualitas minyak goreng curah secara kimia, dapat ditingkatkan dengan penambahan zat antioksidan sehingga tidak mudah mengalami ketengikan. Zat antioksidan berdasarkan sumbernya terbagi menjadi antioksidan sintetik dan alami. Zat antioksidan sintetik antara lain *butylated hydroxytoluene (BHT)*, *butylated hydroxyanisole (BHA)*, *propyl gallate (PG)* dan *tertiarybutyl hydroxyquinone (TBHQ)* (Casarotti & Jorge, 2014). Zat antioksidan sintetik memiliki potensi toksik (Hou, 2003) serta karsinogenesis (Sibuea, 2003) sehingga antioksidan alami memiliki peluang untuk dieksplorasi.

Eksplorasi dapat dimulai dari tanaman yang memiliki potensi sebagai antioksidan. Penelitian sebelumnya telah menguji aktivitas ekstrak daun salam dengan hasil konsentrasi penghambatan (IC_{50}) sebesar 11,001 ppm, lebih tinggi dibandingkan dengan vitamin C (sebagai kontrol positif) sebesar 9,898 ppm. Hasil tersebut berhubungan dengan kandungan senyawa metabolit sekunder di dalamnya flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid (Bahriul, 2014).

Berdasarkan penjelasan tersebut maka penelitian eksplorasi senyawa metabolit sekunder pada ekstrak daun salam sebagai antioksidan alami untuk meningkatkan kualitas minyak goreng curah menjadi hal yang sangat menarik. Lebih lanjut lagi, untuk mengerucut pada golongan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid, diperlukan tahapan fraksinasi menggunakan pelarut semipolar seperti etil asetat. Tujuan dari penelitian ini untuk menguji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan uji bilangan peroksidanya terhadap minyak goreng curah. Selain itu, uji kualitatif golongan metabolit sekunder dapat mendukung analisis dan penarikan kesimpulan dari uji kualitas tersebut.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spektrofotometer UV-Vis merk SHIMADZU, neraca analitik, labu erlenmeyer, satu set alat titrasi, pipet ukur, *rotary vacum evaporator*, tabung reaksi, beaker glass, pisau, saringan, botol selai, pengaduk, aluminium foil, blender dan wadah maserasi. Bahan yang digunakan dalam pembuatan daun salam dari Kebun Agung, Malang Jatim.

Rancangan Penelitian

Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Salam

Sebanyak 4,8 kg daun salam diangin-anginkan hingga kering kemudian dihaluskan sampai menjadi simplisia. Simplisia dimaserasi dengan aseton selama 3 x 24 jam. Hasil maserasi disaring untuk didapatkannya filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh dihilangkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kasar daun salam. Ekstrak kasar daun salam difraksinasi dengan corong pisah menggunakan *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Fraksi etil asetat diambil dan dihilangkan pelarutnya kembali menggunakan *rotary evaporators* sampai diperoleh ekstrak fraksi etil asetat.

Uji Kualitatif Metabolit Sekunder

Uji dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu. Uji dilakukan untuk empat golongan yaitu, uji kualitatif untuk flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid.

Uji Kualitatif Flavonoid

Sebanyak 2 mL sampel ditambahkan 8 mL akuades yang telah dipanaskan selama \pm 10 menit. Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl pekat beberapa tetes. Fraksi kemudian ditambahkan lagi dengan sedikit serbuk Mg. Hasil positif : warna merah tua, merah muda, merah bata.

Uji Kualitatif Saponin

Sebanyak 2 mL sampel ditambahkan 8 mL aquadest yang telah dipanaskan selama \pm 10 menit. Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Fraksi ditambahkan 2 mL air panas lalu dikocok kuat. Hasil positif : terbentuk buih permanen selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, kemudian ditambahkan HCl pekat 1 tetes. Hasil positif lanjutan : busa permanen tidak hilang

Uji Kualitatif Tanin

Sebanyak 2 mL sampel ditambahkan 8 mL aquadest yang telah dipanaskan selama \pm 10 menit. Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif : warna coklat kehitaman, biru kehitaman, hijau kehitaman.

Uji Kualitatif Alkaloid

Sebanyak 2 mL sampel ditambahkan 8 mL aquadest yang telah dipanaskan selama ± 10 menit. Filtrat disaring dan dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi. Tabung 1 : ditambahkan 6 tetes Pereaksi Meyer. Tabung 2 : ditambahkan 6 tetes Pereaksi Dragendrof. Tabung 3 : ditambahkan 6 tetes Pereaksi Bouchardat. Hasil positif : terdapat endapan putih pada alkaloid dengan Pereaksi Meyer, terdapat endapan jingga pada alkaloid dengan Pereaksi Dragendrof, dan terdapat endapan cokelat pada alkaloid dengan Pereaksi Bouchardat.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun salam menggunakan DPPH menggunakan kontrol positif TBHQ. Uji diawali dengan pembuatan larutan ekstrak daun salam 100 ppm, 90ppm, 80 ppm, 70 ppm, 60 ppm, 50 ppm, 40 ppm, 30 ppm, 20 ppm, 10 ppm. Larutan tersebut masing-masing dipipet 1 mL dan ditambahkan 5 mL larutan DPPH 1 mg/ 33,3 mL. Larutan didiamkan selama 30 menit lalu diukur absorbansinya pada 517 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.

Uji Bilangan Peroksida

Sebanyak 5,00 ± 0,05 g minyak goreng curah dimasukkan ke dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan 30 mL larutan asam asetat-kloroform (3:2). Larutan kemudian digoyang sampai larut semua. Larutan ditambahkan 0,5 mL larutan KI. Larutan didiamkan selama 1 menit dengan digoyangkan dan ditambahkan 30 mL aquades. Larutan dititrasasi dengan larutan Na₂S₂O₃ 0,01 N sampai warna kuning hampir hilang. Larutan kemudian ditambahkan 0,5 mL larutan amilum 1% hingga berwarna biru. Titrasi kedua dilakukan sampai warna biru hilang.

Rancangan Percobaan

Uji kualitatif golongan metabolit sekunder dan aktivitas antioksidan, menggunakan rancangan percobaan deskriptif. Sedangkan uji bilangan peroksida pada penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) 1 faktor yaitu, konsentrasi penambahan fraksi etil asetat terhadap minyak goreng curah.

Metode Analisis

Uji antioksidan menggunakan metode DPPH dari Molyneux (2004) untuk mendapatkan nilai IC₅₀. Uji dilakukan terhadap fraksi etil asetat menggunakan kontrol positif TBHQ. Hasil uji akan diperoleh nilai absorbansi untuk menghitung persen penghambat.

$$\% \text{ penghambat} = \frac{(\text{abs blanko} - \text{abs sampel})}{\text{abs blanko}} \times 100\%$$

Selanjutnya hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % penghambat

(antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y). Nilai IC₅₀ dari perhitungan pada saat % penghambat sebesar 50%. Perhitungan dengan memasukkan angka 50 ke dalam y, nilai IC₅₀ adalah nilai x hasil perhitungan tersebut.

Uji bilangan peroksida pada penelitian ini dilakukan terhadap minyak goreng curah setelah ditambahkan dengan fraksi etil asetat dengan beberapa konsentrasi dan dipanaskan sampai suhu 120 C. Pengukuran bilangan peroksida dilakukan setelah minyak dipanaskan dan didiamkan sampai suhu kamar (25 C). Bilangan peroksida dinyatakan dalam mg-equivalen peroksida dalam setiap 1000 g sampel.

$$\text{Bilangan peroksida} = \frac{\text{mL Natrium Thiosulfat} \times \text{N thio} \times 1000}{\text{berat contoh (g)}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 4,8 kg daun salam dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian dihaluskan menjadi simplisia. Proses pengeringan menggunakan cara alami dengan diangin-anginkan untuk menghindari kerusakan akan metabolit sekunder yang terdapat di dalam daun salam. Proses penghalusan menjadi simplisia (serbuk) untuk meningkatkan kontak antara daun salam dengan pelarut. Pelarut yang digunakan adalah aseton dengan tujuan mendapatkan ekstrak kasar sebanyak-banyaknya. Ekstrak kasar kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Fraksi etil asetat diambil kemudian dipekatkan. Fraksi ini kemudian diuji aktivitas antioksidannya dan bilangan peroksidanya saat diaplikasikan ke minyak curah.

Uji Kualitatif Metabolit Sekunder

Fraksi Etil asetat yang telah dipekatkan diuji secara kualitatif untuk mengetahui keberadaan metabolit sekunder golongan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Uji dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu. Hasil uji kualitatif fraksi etil asetat dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Uji Kualitatif Fraksi Etil Asetat Daun Salam

Metabolit Sekunder	Hasil Pengamatan	Kesimpulan*
Flavonoid	Larutan menjadi merah muda	+
Saponin	Adanya busa permanen	+
Tanin	Perubahan warna menjadi biru kehitaman	+
Alkaloid (Pereaksi Meyer)	Muncul endapan putih	+
Alkaloid (Dragendorf)	Muncul endapan jingga	+
Alkaloid (Bouchardat)	Muncul endapan coklat	+

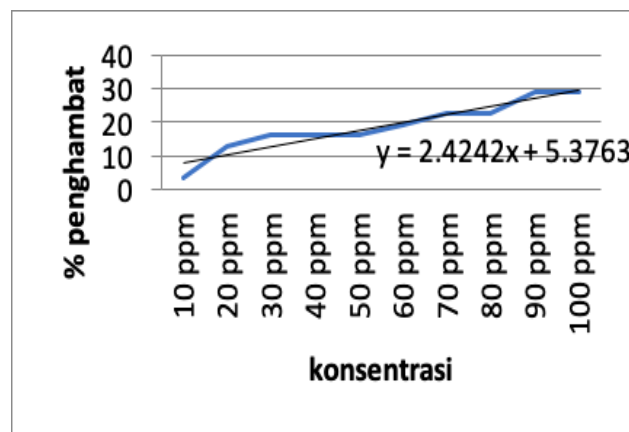
*) Keterangan : + menunjukkan hasil positif

Hasil uji kualitatif fraksi etil asetat (Tabel 1) menunjukkan adanya keempat golongan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Keempat golongan metabolit sekunder ini diketahui memiliki aktivitas antioksidan sehingga hasil ini menguatkan data antioksidan dari DPPH dan uji peroksida fraksi etil asetat saat diaplikasikan ke minyak goreng curah.

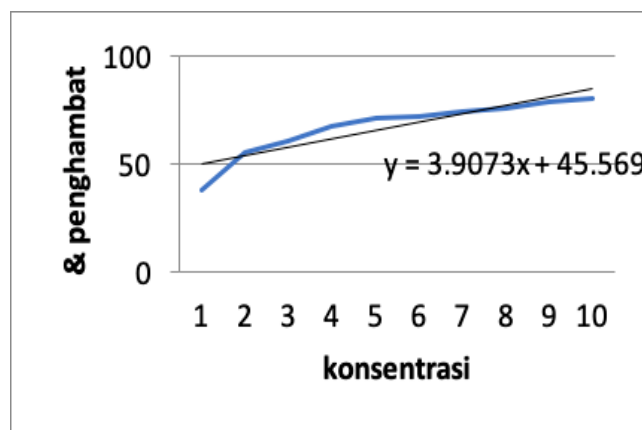
Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat

Pada penelitian ini, aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan metode DPPH untuk memperoleh nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ diperoleh dari perhitungan penghambatan 50% pada persamaan regresi.

Pada penelitian ini, fraksi etil asetat diuji aktivitasnya. Kontrol positif menggunakan TBHQ. Grafik hubungan antara konsentrasi dan persen penghambat fraksi etil asetat dapat dilihat pada **Gambar 1** sedangkan Grafik hubungan antara konsentrasi dan persen penghambat kontrol positif TBHQ dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 1. Grafik Hubungan Konsentrasi dan Persen penghambat Fraksi Etil Asetat



Gambar 2. Grafik Hubungan Konsentrasi dan Persen penghambat TBHQ

Berdasarkan **Gambar 1** dan **Gambar 2**, diperoleh persamaan regresi $y = 2,4242x + 5,3763$ untuk fraksi etil asetat sedangkan control positif TBHQ diperoleh persamaan regresi $y = 3,9073x + 45,569$. Persamaan regresi kemudian digunakan untuk menghitung IC_{50} . Berdasarkan persamaan regresi tersebut, diketahui nilai IC_{50} fraksi etil asetat sebesar 18,41 ppm dan IC_{50} TBHQ sebesar 1,13 ppm.

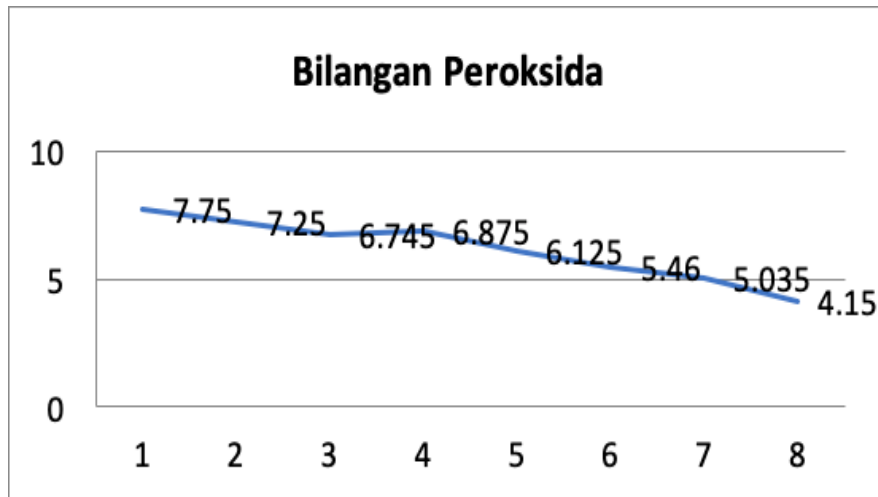
Jika nilai IC_{50} suatu sampel berada di bawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat kuat, nilai IC_{50} berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kuat, nilai IC_{50} berada di antara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya sedang, nilai IC_{50} berada di antara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya lemah, sedangkan apabila nilai IC_{50} berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat lemah (Molyneux, 2004). Berdasarkan pemaparan tersebut, aktivitas antioksidan fraksi etil asetat tergolong sangat kuat.

Penurunan Bilangan Peroksida

Bilangan peroksida diuji untuk mengetahui tingkat kerusakan minyak yang dinyatakan dalam satuan meq peroksida tiap minyak. Pada penelitian ini, minyak curah ditambahkan fraksi etil asetat dengan 7 konsentrasi yang berbeda. Pengukuran bilangan peroksida dilakukan setelah minyak dipanaskan dan didiamkan sampai suhu kamar (25 C). Kontrol positif menggunakan TBHQ. Sebagai perbandingan, pengukuran juga dilakukan pada minyak tanpa ditambahkan fraksi etil asetat. Berdasarkan analisis DMRT ($\checkmark \bullet 5\%$), penambahan fraksi etil asetat pada minyak goreng curah berpengaruh nyata pada bilangan peroksida. Hasil uji bilangan peroksida dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Bilangan Peroksida Minyak Goreng Curah dengan Beberapa Perlakuan

	Konsentrasi Fraksi Etil Asetat (%b/v)	Bilangan peroksida (meqO ₂ /kg)	Notasi
P ₀	0	7,75	b
P ₁	0,10 %	7,25	b
P ₂	0,20 %	6,75	b
P ₃	0,40 %	6,88	b
P ₄	0,60 %	6,13	ab
P ₅	0,80 %	5,46	ab
P ₆	1,00 %	5,04	ab
P ₇	TBHQ 0,2%	4,15	a



Gambar 3. Hubungan Konsentrasi dan Bilangan Peroksida

Berdasarkan data pada Tabel 2 dan Gambar 3, dapat dilihat bahwa penambahan fraksi etil asetat daun salam menyebabkan penurunan bilangan peroksida pada minyak goreng curah. Hasil uji bilangan peroksida tersebut menunjukkan bahwa penambahan fraksi etil asetat pada minyak goreng curah mampu menurunkan bilangan peroksida. Berdasarkan SNI 3741:2013, angka maksimal bilangan peroksida pada minyak adalah 10 meqO₂/kg. Dari penelitian ini, penambahan fraksi etil asetat mampu meningkatkan kualitas minyak.

KESIMPULAN

Fraksi etil aetat daun salam terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ sebesar 18,41 ppm. Penambahan fraksi etil asetat mampu menurunkan bilangan peroksida. Penambahan konsentrasi tertinggi 1,0% mampu menurunkan bilangan peroksida minyak goreng curah menjadi 5,03. Kontrol positif TBHQ mampu menurunkan bilangan peroksida minyak goreng curah menjadi 4,14. Kemampuan antioksidan fraksi etill asetat diduga berhubungan dengan hasil posiif uji kualitatif daun salam terhadap adanya metabolit sekunder golongan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih ditujukan kepada Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Indonesia terhadap dana PKM-P tahun 2018.

Reference:

- Adrianto, A, W. 2012. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Salam (Eugenia Polyantha Wight) Dalam Pasta Gigi Terhadap Pertanaman Streptococcus mutans. Jember.
- Badan Pusat Statistik Indonesia. 2013. *Statistik Kelapa Sawit Indonesia 2013*. Nomor Publikasi 05130.1410. Jakarta.
- Bahriul, Putrawan. 2004. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam Dengan Menggunakan 1,1 Difenil-2 Pikrilhidrazil. Palu : Universitas Tadaluko

- Bera, D. L., Nag, A., "Studies on a Natural Antioxidant for Stabilization of Edible Oil and Comparison with Synthetic Antioxidant", *Journal of Food Engineering*, 2005.
- Casarotti, S.N., Jorge, N. (2014). Antioxidant activity of rosmery extract in soybean oil under thermoxidation. *Food Process*, 136-145.
- Fadhilla, A, R.. 2008. Analisis Kepuasan dan Loyalitas Konsumen Minyak Goreng Kemasan Merek Bimoli (Kasus: Rumah Tangga Di Kota Bogor), Skripsi, Fakultas Pertanian IPB, Bogor.
- Harborne, J. B., 1987, Metode Fitokimia. Bandung : Penerbit ITB.
- Hou, D.X. (2003). Potential mechanism of cancer chemoprevention by anthocyanin.
- Lempang, Ika, & Risti. 2016. *Uji Kualitas Minyak Goreng Curah Dan Minyak Goreng Kemasan Di Manado*. Pharmacon. Jurnal Ilmiah Farmasi.
- Mailandari, M. 2012. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun garcinia kydia roxb dengan metode DPPH dan identifikasi senyawa kimia yang aktif. Depok : Universitas Indonesia
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*, 26(2), 211-219.
- Sibuea, P. 2003. *Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini*. Yogyakarta : Sinar Harapan
- Sudarsono. 2002. *Tanaman Obat II : Hasil Penelitian, Sifat-sifat, dan Penggunaan*. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradisional UGM.
- Syaefudin, 2008, *Aktivitas Antioksidan Formula Ekstrak Jati Belanda, Jambu Biji dan Salam*. Bogor : IPB.
- Versteegh, K. 2006. *Tanaman Berkhasiat Indonesia Volume 1*. Bogor : IPB Press.
- Widayat, Suherman dan K Haryani, 2006. Optimasi Proses Adsorpsi Minyak Goreng Bekas Dengan Adsorben Zeolit Alam. *Studi Pengurangan Bilangan Asam*. *J. Teknik Gelagar*. 17, 77 – 82. Semarang : Undip.
- Winarno F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.