

Uji Aktivitas Mengkelat Logam dari Ekstrak Etanol Bekatul Beras Hitam dengan Metode *Ferrous Ion Chelating* (FIC)

Coky, N. W. C.¹, Diarini, A. S.¹, Adiluhur, M. A.¹, Oka, M.¹, Dewantari, A. A. I. S. H.¹, Laksmiani, N. P. L.¹, Leliqia N. P. E.¹, Paramita, N. L. P. V.¹, Wirasuta I. M. A. G.¹

¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Korespondensi: Ni Wayan Cita Coky

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80364 Telp/Fax: 703837

Email: wayancitacoky@yahoo.co.id

ABSTRAK

Bekatul beras hitam merupakan salah satu bahan tanaman yang kaya akan flavonoid berupa antosianin. Senyawa flavonoid memiliki kemampuan yang baik dalam mengkelat logam Fe²⁺. Besi, tembaga dan logam transisi lainnya berperan dalam reaksi fenton yang menghasilkan radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi yang dimiliki bekatul beras hitam dalam mengkelat logam.

Uji kemampuan mengkelat logam dari ekstrak etanol bekatul beras hitam dilakukan dengan *Ferrous Ion Chelating* (FIC). Metode ini mengukur kemampuan suatu senyawa untuk bersaing dengan *ferrozine* dalam mengkelat ion besi. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol bekatul beras hitam pada konsentrasi 18,33-50 ppm memberikan nilai kemampuan mengkelat logam yang lemah sebesar 32,962-39,726 %.

Kata Kunci: bekatul beras hitam, *Ferrous Ion Chelating* (FIC), % *Chelating Ability*.

1. PENDAHULUAN

Bekatul merupakan limbah proses penggilingan padi yang jarang dimanfaatkan oleh masyarakat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bekatul mengandung komponen bioaktif atau senyawa fitokimia yang tinggi seperti tokoferol, tokotrienol, oryzanol (Chen dan Bergman, 2005), antioksidan fenolik (Chanphrom, 2007; Somponget *al.*, 2011), dan antosianin (Yawadioet *al.*, 2007).

Beberapa senyawa bahan alam seperti kelompok senyawa flavonoid dan fenol memiliki kemampuan yang baik dalam mengkelat logam Fe²⁺ (Ebrahuzadeh, 2008). Oleh karena itu bekatul beras hitam yang memiliki kandungan flavonoid dan fenol yang tinggi berpotensi dalam mengkelat logam.

Pengkelatan adalah proses dimana beberapa zat kimia yang digunakan memiliki kemampuan untuk mengikat logam. Logam

berlebih dalam tubuh kurang baik bagi kesehatan sehingga perlu dinetralisir. Logam (Besi, Tembaga, dan logam transisi lainnya) berperan dalam reaksi fenton yang menghasilkan radikal bebas yang sangat reaktif (Valko, *et al.*, 2005). Mekanisme peran Logam Fe²⁺ yaitu, bereaksi dengan H₂O₂ menghasilkan radikal hidroksil (OH[•]) (Barbusinski, 2009). Selain membentuk radikal hidroksil logam Fe²⁺ juga berperan dalam pembentukan radikal superoksida (O^{•-}). Radikal hidroksil dan radikal superoksida merupakan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menginisiasi proses peroksidasi lipid yang menyebabkan berbagai penyakit degenerative bahkan dapat menyebabkan kanker (Suryohudoyo, 1993).

Selain itu, logam bervalensi 2 lainnya seperti Cu²⁺ berperan dalam proses biologis yaitu pembentukan melanin pada kulit. Logam Cu²⁺ terikat didalam enzim tirosinase sehingga

menghasilkan reaksi oksidasi. Oleh karena itu, enzim tirosinase dikenal dengan sebutan polifenol pengoksidase (Likhitwitayawuid, 2008; Koncicet *al.*, 2011). Enzim tirosinase merupakan enzim yang berperan dalam sintesis melanin pada membrane melanosomal (Likhitwitayawuid, 2008). Adanya kelasi logam pada enzim tirosinase akan menyebabkan adanya hambatan pada aktivitas enzim tirosinase sehingga dapat menurunkan produksi melanin.

Pada penelitian ini dilakukan uji kemampuan mengkelat logam dari ekstrak etanol bekatul beras hitam dengan metode *Ferrous Ion Chelating* (FIC) untuk melihat potensinya dalam mengkelat logam, terutama logam yang bervalensi 2.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Bahan dan Alat Penelitian

Produk bekatul beras hitam yang diperoleh dari kelompok tani Al' Barokah Semarang. etanol 96% (bratacem[®]), metanol p. a. (Merck[®]), *aquadest*, HCl 37% p.a. (Merck[®]), FeSO₄ p.a. (Merck[®]), *Ferrozine* (Hach[®]), dan spektrofotometer UV-Vis (Genesys[®]).

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Metode Ekstraksi

Berdasarkan metode penelitian dari Widartadkk. (2013) dengan sedikit modifikasi, ekstraksi komponen bioaktif pada bekatul dilakukan dengan cara sebanyak 20 gram

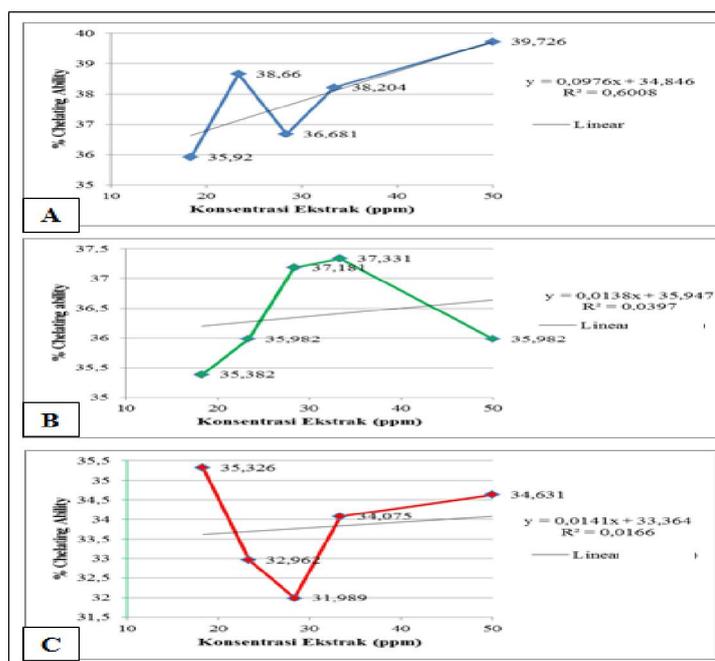
bekatul dilarutkan dengan pelarut etanol 96% yang sudah diasamkan sebelumnya dengan HCl 37% sampai pH 1. Perbandingan bekatul dan pelarut adalah 1:6 b/v. Selama proses ekstraksi dilakukan pengadukan dengan menggunakan *shaker* selama 24 jam pada suhu kamar. Larutan selanjutnya disentrifugasi selama 15 menit dan disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dikeringkan dengan oven suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.

2.2.2 Metode *Ferrous Ion Chelating* (FIC)

Penelitian dilakukan berdasarkan metode yang digunakan oleh Fawole *et al* (2012). Metode yang digunakan adalah *Ferrous Ion Chelating* (FIC). Sebanyak 1 mL FeSO₄ 0,25 mg/ml dicampurkan dengan 2 mL ekstrak etanol bekatul beras hitam (18,33 - 50 ppm). Selanjutnya ditambahkan 3 mL *ferozzine* 0,02 M dan diinkubasi selama 10 menit. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada standar (vitamin C). Campuran FeSO₄, ekstrak/standar, dan *ferozzine* diukur absorbansinya (A) pada panjang gelombang 562 nm. Uji pada ekstrak dan standar diulang sebanyak tiga kali.

3. HASIL

Hasil uji *Ferrous Ion Chelating* (FIC) dari ekstrak etanol bekatul beras hitam dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik % Chelating Ability dari lima variasi konsentrasi ekstrak etanol bekatul beras hitam pada pengukuran 1 (A), 2 (B), dan 3 (C).

4. PEMBAHASAN

Ferrous Ion Chelating (FIC) merupakan metode yang digunakan untuk menguji kemampuan suatu senyawa dalam mengkelat logam Fe. Metode ini mengukur kemampuan antioksidan dan suatu senyawa untuk bersaing dengan *ferrozine* dalam mengkelat ion besi (Elmastasetal., 2006). Secara kuantitatif *ferrozine* memiliki kemampuan dalam mengkelat Fe^{2+} sehingga terbentuk senyawa kompleks. Senyawa kompleks tersebut akan terganggu oleh adanya senyawa pengkelat logam lainnya (Abduleneinet al., 2003).

Berdasarkan hasil pengukuran pada panjang gelombang 562 nm (Gambar 1), dapat diketahui bahwa nilai % Chelating Ability dari ekstrak etanol bekatul beras hitam bersifat fluktuatif seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Konsentrasi 18,33-50 ppm dari ekstrak etanol bekatul beras hitam memberikan nilai % Chelating Ability sebesar 32,962-39,726%. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan mengkelat logam dari ekstrak etanol bekatul beras hitam sangat rendah dan tidak stabil.

Berdasarkan *trend* yang ditunjukkan pada Gambar 1, nilai rata-rata dari nilai regresi linier ekstrak etanol bekatul beras hitam adalah 0,359. Nilai regresi linier (r) tersebut tidak memenuhi persyaratan nilai regresi linier yang menyatakan bahwa nilai regresi linier dari 5 data adalah minimal 0,878 (Riwidikdo, 2012). Data tersebut menunjukkan bahwa tidak ada korelasi antara konsentrasi ekstrak etanol bekatul beras hitam dengan kemampuannya dalam mengkelat logam (% Chelating Ability).

Hal ini mungkin disebabkan oleh bahan yang digunakan masih berupa *crude* ekstrak sehingga masih banyak komponen senyawa lain seperti tokoferol dan oryzanol yang mempengaruhi kemampuan dari flavonoid berupa antosianin dalam mengkelat logam Fe^{2+} . Kemampuan dari suatu senyawa dalam mengkelat logam juga dapat dipengaruhi oleh stabilitasnya. Stabilitas antosianin dapat berkurang selama penyimpanan karena pengaruh cahaya dan temperatur. Ketidakstabilan tersebut ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi kecoklatan. Terjadinya penurunan intensitas warna antosianin disebabkan oleh antosianin dari bentuk aglikon menjadi bentuk

kalkon dan akhirnya membentuk alfa diketon yang berwarna coklat (Lidyadkk., 2001). Pada penelitian ini ketidakstabilan senyawa tersebut ditunjukkan dari perubahan warna ekstrak yang sebelumnya hitam keunguan menjadi sedikit kecoklatan.

5. KESIMPULAN

Hasil Uji *Ferrous Ion Chelating* (FIC) menunjukkan bahwa ekstrak etanol bekatul beras hitam pada konsentrasi 18,33-50 ppm memberikan nilai kemampuan mengkelat logam yang lemah yaitu sebesar 32,962-39,726 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi atas dukungan dan dana penelitian yang telah diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aboulenein, A. M., F. K. El Baz., G. S. El-Baroty, A. M. Youssef, and H.H. Abd El-Baky. 2003. Antioxidant Activity of Algal Extracts on Lipid Peroxidation. *J Med Sci*3(1):87-98.
- Barbusinski, K., 2009. Fenton Reaction-Controversy Concerning the Chemistry. *Ecological Chemistry and Engineering* 14(3):347-358.
- Chanphrom P. 2007. *Antioxidants and Antioxidant Activities of Pigmented Rice Varieties and Rice Bran*. [Thesis]. Thailand: Faculty of Graduated Studies, Mahidol University.
- Chen, M. H., and C. J. Bergman. 2005. A Rapid Procedure for Analyzing Rice Bran Tocopherol, Tokotrienol and G-Oryzanol Contents. *J Food Comp Anal* 18(4):139-151.
- Ebrahumzadeh, M. A., F. Pourmorad, and A. R. Bekhradnia. 2008. Iron Chelating Activity, Phenol and Flavonoid Content of Some Medicinal Plants from Iran. *Afr J Biotechnol*7(18):3188-3192.
- Elmastas M, Gulcin, O. Isildak, O. I. Kufrevioglu, K. Ibaoglu, and H. Y. Aboul-Enein. 2006. Radical Scavenging Activity and Antioxidant Capacity of Bay Leaf Extracts. *J Iran Chem Soc* 3(3):258-266.
- Fawole, O. A., N. P. Makunga, and U. L. Opara. 2012. Antibacterial, Antioxidant and Tyrosinase inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 12:200. P: 1-11.
- Koncic, M. Z., M. Barbaric, I. Percovic, and B. Zorc. 2011. Antiradical, Chelating and Antioxidant Activities of Hydroxamic Acids and Hydroxyureas. *Molecules* 16(8):6232-6242.
- Lidya, S. W., B.W. Simon, dan T. Susanto. 2011. Ekstraksi dan Karakterisasi dari pigmen Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum*). *Binjai Biosains* 1(2):42-53.
- Likhitwitayawuid, K. 2008. Stilbenes with tyrosinase inhibitor activity. *Current science*. 94. P: 44-52.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*. 26(2):211-219.
- Riwidikdo, H. 2012. *Statistik kesehatan*. Cetakan keempat. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Sompong R, E. S. Siebenhandl, G. Linsberger, and E. Berghofer. 2011. Physicochemical and Antioxidative Properties of Red And Black Rice Varieties From Thailand, China And Sri Lanka. *J Food Chem*12(4):132-140.
- Suryohudoyo, P. 1993. Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas. Surabaya: Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair. 5-6.
- Valko, M., H. Morris, M. T. D. Cronin. 2005. Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Current Medicinal Chemistry* 12(10):1161-1208.
- Widarta I. W. R., K. A. Nocianitri, dan L. P. Sari. 2013. Ekstraksi Komponen Bioaktif Bekatul Beras Lokal dengan Beberapa Jenis Pelarut. *J Aplikasi Teknologi Pangan*2(2):75-79.
- Yawadio R, S. Tanimori, N. Morita. 2007. Identification of Phenolic Compounds Isolated from Pigmented Rices and Their

Uji Aktivitas Mengkelat Logam dari Ekstrak Etanol Bekatul Beras Hitam dengan Metode Ferrous Ion Chelating (FIC) (Coky, N. W. C., Diarini, A. S., Adiluhur, M. A., Oka, M., Dewantari, A. A. I. S. H., Laksmiani, N. P. L., Leliqia N. P. E., Paramita, N. L. P. V., Wirasuta I. M. A. G.)

Aldose Reductase Inhibitory Activities. *J*

Food

Chem

10(1):1616-1625.