

EKSTRAKSI DAN ANALISIS FITOSTEROL LEMBAGA GANDUM (*Triticum sp.*)

[Extraction and analysis of Phytosterol from wheat germ (*Triticum sp.*)]

Sri Anna Marliyati ¹⁾, Hidayat Syarief ¹⁾, Deddy Muchtadi ²⁾, Latifah K. Darusman ³⁾, dan Rimbawati ¹⁾

¹⁾ Staf Pengajar Departemen Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga, Faperta IPB

²⁾ Staf Pengajar Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta IPB

³⁾ Staf Pengajar Departemen Kimia, F-MIPA IPB

Diterima 27 April 2005 / Disetujui 20 Juni 2005

ABSTRACT

Phytosterol may reduce the absorption of cholesterol, and used for preventing atherosclerosis. It is limited in soybean, but potentially abundant in wheat germ. Research on the utilization of wheat germ sterol had not been reported so far. Many aspects of germ sterol extraction from wheat germ and its characteristics were still unknown. In this research, the best extraction method, kinds and content of phytosterol from wheat germ were investigated.

This research consisted of two steps: (1) extraction of phytosterol directly from whole germ and ground germ using hexane, and indirect extraction through germ oil using hexane and mixed solvent of hexane and ethanol, and direct extraction from ground germ using ethanol; (2) analysis of the type and content of phytosterol in the crude extract through the following steps: preparation of crude extract, fractionation, and analysis.

Results showed that indirect extraction through germ oil was considered as the best method which yielded 1.37% of phytosterol. The highest yield was obtained when extracted using a mixed solvent of hexane – ethanol 82:18. However, the odor of ethanol and hexane (gasoline like odor) was still detected. The solvent's ratio of hexane to ethanol at 1:2 resulted better odor of the extract. Extraction of sterol using ethanol yielded 18.39% of sterol when the ratio of germ to ethanol at 1:10 (w/v) was applied.

Results of quantitative analysis on the main component of crude extract of wheat germ sterol showed that the total content of sterol extracted with mixed solvent was higher than those extracted with ethanol. The ratio of hexane to ethanol at 1:1 (v/v) gave higher content of total sterol, stigmasterol and campesterol, whereas higher content of β -sitosterol was produced at the solvent's ratio of hexane to ethanol at 1:2 (v/v).

Keywords: Wheat germ sterol, extraction, β -sitosterol, stigmasterol, campesterol

PENDAHULUAN

Sterol merupakan alkohol berbobot molekul tinggi yang terdapat pada fraksi tidak tersabunkan dari minyak dan lemak pada jaringan hewan dan tanaman. Sterol pada hewan adalah kolesterol, sedangkan pada tanaman adalah fitosterol. Beberapa fitosterol antara lain adalah sitosterol, stigmasterol, campesterol, δ -7-stigmasterol dan δ -5-avenasterol (Hui 1996).

Sterol tanaman atau fitosterol mempunyai sifat antiaterogenik. Konsumsi fitosterol dalam jumlah banyak dapat mengganggu penyerapan kolesterol sehingga akan meningkatkan ekskresinya (Hui 1996). Penurunan kadar kolesterol plasma merupakan strategi di bidang kesehatan masyarakat yang amat penting, sebab peningkatan kadar kolesterol merupakan faktor risiko utama penyakit jantung koroner. Intervensi secara klinis menunjukkan bahwa penurunan kadar kolesterol total dan LDL dapat

menurunkan kematian akibat penyakit jantung koroner secara nyata (Cleghorn et al., 2003).

Gandum (*Triticum sp.*) merupakan serealia yang termasuk tanaman genus *Triticum* dari famili Graminae. Menurut Eliasson dan Larsson (1993) dari sisi teknologi biji gandum terdiri dari tiga bagian, yaitu lembaga (germ), endosperm dan dedak. Menurut Matz (1992) lembaga gandum mengandung protein bermutu tinggi dan lemak yang tinggi. Lemak lembaga gandum mengandung fitosterol sebesar 1,3-1,7% terhadap minyak (Fornio et al., 1979).

Beberapa tahun terakhir ini telah banyak dilakukan penelitian terhadap peranan fitosterol dalam berbagai aspek kesehatan. Pemanfaatan fitosterol dalam pencegahan aterosklerosis masih terbatas pada fitosterol kedelai, minyak dedak padi, minyak biji karet dan minyak biji kapas. Penelitian pemanfaatan fitosterol yang diperoleh dari lembaga gandum belum pernah dilakukan.

Untuk memanfaatkan fitosterol dari tanaman perlu dilakukan ekstraksi sehingga fitosterol dapat dipergunakan dengan mudah dan efisien. Selama ini ekstraksi yang sudah dikembangkan adalah ekstraksi menggunakan heksan, petroleum eter atau etanol. Metode ekstraksi dan penetapan sterol tanaman oleh Diack dan Saska (1994) menggunakan kombinasi pelarut etanol dan heksan. Etanol digunakan untuk mengestak sterol, sedangkan heksan digunakan untuk memisahkan bagian yang tidak tersabunkan. Metode lain yang digunakan oleh Ham et al., (2000) menggunakan kombinasi etanol dan petroleum eter, sedangkan metode yang dikembangkan oleh Andayani (2003) menggunakan etanol saja. Petroleum eter merupakan bahan kimia yang berbahaya bagi kesehatan manusia apabila masih tertinggal di dalam produk, selain itu petroleum eter tidak tersedia dalam bentuk teknis sehingga penggunaannya mahal.

Menurut Cristie (2001) secara umum sterol yang terdapat di dalam jaringan tanaman terdiri dari β -sitosterol, stigmasterol dan campesterol dengan komposisi 70% sitosterol, 20% stigmasterol dan 5% campesterol. Jenis sterol lain seperti avenasterol, dan brassica sterol juga terdapat dalam tanaman tetapi dalam jumlah kecil.

Berdasarkan kondisi di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengekstrak sterol lembaga gandum menggunakan campuran pelarut heksan dan etanol dibandingkan dengan etanol saja. Selanjutnya dilakukan analisis jenis dan kadar sterol ekstrak kasar sterol lembaga gandum yang dihasilkan. Pada penelitian ini dievaluasi juga efisiensi proses ekstraksi fitosterol berdasarkan rendemen yang dihasilkan.

METODOLOGI

Penelitian ekstraksi fitosterol lembaga gandum dilakukan di Laboratorium Kimia Gizi Departemen Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga (GMSK) IPB. Penelitian terdiri dari dua tahap : (1) percobaan ekstraksi fitosterol menggunakan pelarut heksan dengan bahan baku berupa lembaga gandum utuh, lembaga gandum giling dan minyak lembaga gandum; tujuan tahap ini adalah untuk menentukan bentuk bahan baku terbaik untuk ekstraksi selanjutnya; (2) menentukan jenis pelarut dan cara ekstraksi yang terbaik berdasarkan rendemen sterol yang diperoleh dan sifat organoleptiknya. Data rendemen sterol dan sifat organoleptik ekstrak sterol yang diperoleh dibandingkan secara deskriptif untuk menentukan cara ekstraksi yang terbaik.

Bahan yang digunakan terdiri dari lembaga gandum yang diperoleh dari PT Bogasari Flour Mills dan

bahan kimia untuk proses ekstraksi yang diperoleh dari toko bahan kimia di sekitar Bogor. Bahan kimia untuk ekstraksi terdiri dari etil alkohol 95% (teknis), KOH, Heksan teknis dan air destilata.

Alat yang digunakan untuk menggiling lembaga gandum adalah blender bahan kering merk Phillips, sedangkan alat untuk ekstraksi terdiri dari berbagai peralatan gelas seperti erlenmeyer, gelas piala, tabung ekstraksi dan labu didih. Penguapan pelarut dilakukan dengan *rotavapor* merk Buchii.

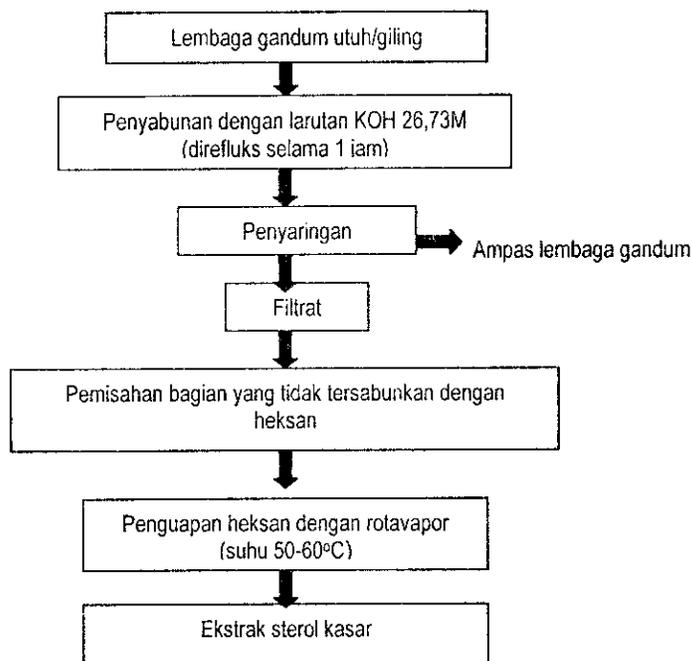
Ekstraksi fitosterol lembaga gandum

Ekstraksi dilakukan menggunakan pelarut heksan dengan menggunakan bahan baku berbentuk lembaga gandum utuh, lembaga gandum giling dan minyak lembaga gandum. Nisbah antara lembaga dan pelarut adalah 1:5 (w/v). Secara lengkap proses ekstraksi disajikan pada Gambar 1 dan 2.

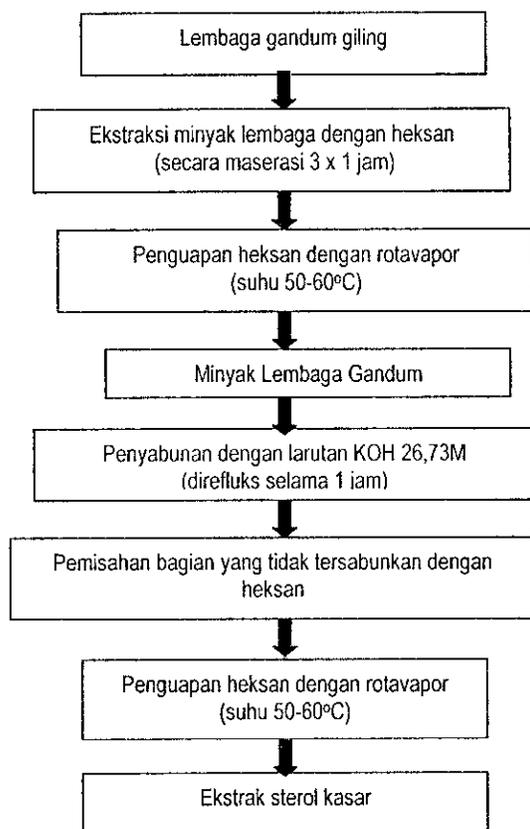
Penentuan jenis pelarut dan cara ekstraksi terbaik

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan jenis pelarut dan cara ekstraksi yang terbaik berdasarkan rendemen sterol yang diperoleh dan sifat organoleptiknya. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan campuran antara pelarut polar dan non-polar dengan nisbah tertentu, juga dilakukan ekstraksi dengan pelarut etanol saja. Campuran pelarut yang digunakan adalah campuran Heksan (pelarut non-polar) dengan Etanol (pelarut polar) dengan nisbah 1 : 1, 1 : 2, 1 : 3, 2 : 1 dan 82 : 18 (v/v). Cara ekstraksi yang dilakukan adalah cara terbaik dari hasil penelitian pada tahap 1, yaitu cara ekstraksi sterol dari minyak lembaga gandum (Gambar 2), tetapi dengan memodifikasi penggunaan pelarut. Modifikasi yang dilakukan adalah mengganti Heksan pada saat ekstraksi minyak dari lembaga gandum dengan campuran heksan dan etanol, dan menambahkan etanol pada saat terakhir pemisahan bagian yang tidak tersabunkan. Jumlah etanol yang ditambahkan disesuaikan dengan jumlah heksan yang digunakan, sehingga nisbahnya seperti di atas. Nisbah antara lembaga dan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi minyak lembaga adalah 1 : 5 (w/v).

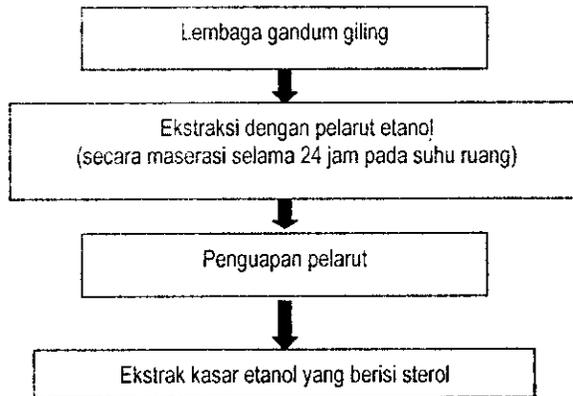
Pada ekstraksi menggunakan etanol saja dicoba dua nisbah lembaga dan pelarut, yaitu 1 : 5 dan 1 : 10 (w/v). Ekstraksi menggunakan etanol dilakukan secara maserasi yaitu proses ekstraksi dengan cara perendaman dan pengadukan secara terus menerus selama 24 jam pada suhu ruangan. Sisa pelarut dihilangkan menggunakan *rotavapor* sehingga dihasilkan ekstrak kental berwarna kuning kecoklatan dengan kadar air < 0,5%. Cara ekstraksi yang dilakukan disajikan pada Gambar 3 dan 4.



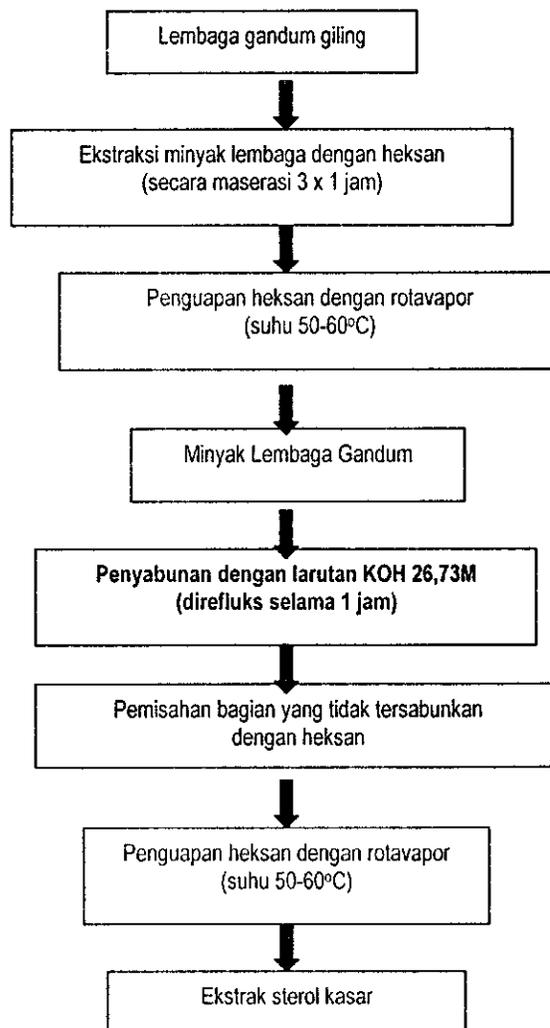
Gambar 1. Ekstraksi sterol dari lembaga gandum utuh dan giling (Modifikasi dari Ham et al., 2000)



Gambar 2. Ekstraksi sterol dari minyak lembaga gandum (Modifikasi dari Ham et al., 2000)



Gambar 3. Ekstraksi sterol dari lembaga gandum giling dengan pelarut etanol (Modifikasi dari Andayani 2003)



Gambar 4. Ekstraksi sterol dari minyak lembaga gandum dengan campuran heksan dan etanol (Modifikasi dari Ham et al., 2000)

Analisis jenis dan kadar sterol ekstrak kasar lembaga gandum

Proses analisis jenis sterol yang ada pada ekstrak kasar sterol lembaga gandum dan kadar masing-masing sterol dilakukan di Laboratorium *Natural Product BIOTROP*. Tahapan penelitian meliputi : (1) penyiapan ekstrak kasar, (2) fraksinasi ekstrak kasar dan (3) analisis jenis dan kadar masing-masing sterol.

Data jenis sterol dan kadarnya dianalisis secara deskriptif untuk menentukan cara ekstraksi yang terbaik berdasarkan rendemen β -sitosterol, stigmasterol dan campesterol yang diperoleh.

Bahan dan alat yang digunakan untuk penyiapan ekstrak kasar sterol lembaga gandum telah disajikan sebelumnya. Ekstrak kasar selanjutnya difraksinasi menggunakan peralatan kolom kromatografi (KK) dengan spesifikasi sebagai berikut:

Panjang kolom : 23,6 cm
 Diameter luar : 2,6 cm
 Diameter dalam : 2,1 cm
 Fase diam : Silika gel-60 (0,063-0,200 mm)
 Pelarut : Heksan, kloroform (CHCl₃) dan metanol (MetOH)

Analisis jenis sterol dan kadarnya dilakukan menggunakan peralatan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT= HPLC). Pelarut yang digunakan sebagai fase bergerak adalah campuran kloroform dengan metanol dengan nisbah 50%:50%. Spesifikasi alat KCKT (Merk Hitachi) yang digunakan adalah sebagai berikut :

Detektor UV : L-7400
 Pump. : L-7100
 Interface : D-7000
 Panjang Gelombang (λ): 250 nm, 270 nm dan 295 nm
 Kolom : Kolom Lichrospher 100 Rp-18 (5 μ m)
 Eluen (fase bergerak): Kloroform dan Metanol (50% : 50%)
 Laju aliran eluen : 0,7 mL/menit
 Suhu : Isokratik
 Volume sampel : 20 μ L

Penyiapan ekstrak kasar sterol lembaga gandum

Ekstrak kasar sterol lembaga gandum diperoleh dari penelitian sebelumnya, yaitu melalui ekstraksi dengan campuran heksan dan etanol serta dengan etanol saja. Campuran heksan dan etanol yang digunakan merupakan campuran dengan nisbah 1 : 1, 1 : 2, dan 1 : 3 (V/V). Campuran heksan dan etanol dengan nisbah heksan : etanol = 2 : 1 dan 82 : 18 (V/V) tidak digunakan lagi untuk mengekstrak karena menghasilkan ekstrak yang sangat dominan bau heksannya. Ekstraksi dilakukan dengan cara mengekstrak minyak lembaga terlebih dahulu, kemudian dilakukan penyabunan. Nisbah antara lembaga gandum dengan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi minyak

lembaga adalah 1 : 5 (W/V). Pada ekstraksi menggunakan etanol saja dicoba dua nisbah lembaga dan pelarut, yaitu 1 : 5 dan 1 : 10 (W/V).

Fraksinasi ekstrak kasar sterol lembaga gandum

Ekstrak kasar sterol lembaga gandum difraksinasi menggunakan metode kromatografi kolom (KK) dengan fase diam silika gel. Komposisi pelarut dibuat berdasarkan pada kenaikan sifat polaritas pelarut. Hasil penelitian Andayani (2003), fraksi yang menunjukkan kandungan β -sitosterol dan stigmasterol sebagai komponen utama adalah fraksi hasil elusi ekstrak alkohol dengan eluen kloroform-metanol (9:1) dan fraksi hasil elusi ekstrak kloroform dengan eluen kloroform murni. Berdasarkan hal tersebut komposisi pelarut dibuat sedikit di atas dan di bawah polaritas kedua eluen tersebut. Hasil elusi ditampung dalam botol-botol gelas dan selanjutnya diinjeksikan pada alat KCKT. Proses fraksinasi diuraikan seperti pada Gambar 5.

Analisis Jenis dan Kadar Sterol Lembaga Gandum

Sebelum digunakan untuk analisis sampel, alat KCKT dikondisikan terlebih dahulu dengan eluen kloroform-metanol 50% : 50% selama 30 menit. Setelah diperoleh kromatogram yang lurus (*base line*) alat KCKT siap digunakan. Sebanyak 20 μ L filtrat sampel diinjeksikan ke alat KCKT dan kadar masing-masing jenis sterol dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar sampel (ppm)} = \frac{A \text{ sampel}}{A \text{ standar}} \times \frac{V \text{ standar}}{V \text{ sampel}} \times [\text{Standar}] \times \text{vol.akhir} \times \text{Faktor Pengenceran}$$

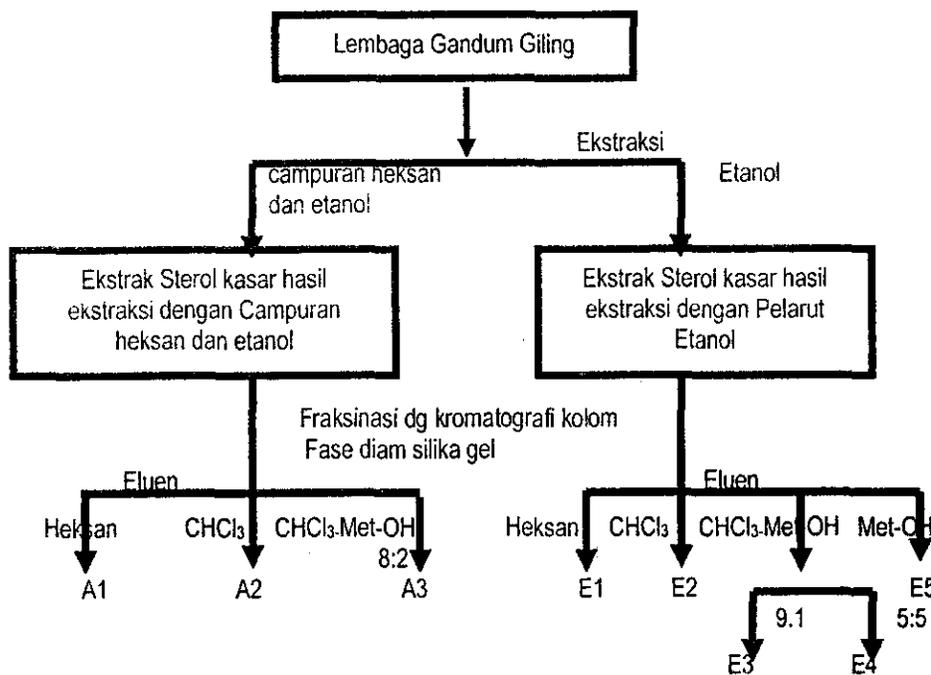
Keterangan :

A sampel : Luas area sampel
 A standar : Luas area standar
 V sampel : Volume sampel
 V standar : Volume standar
 [Standar] : Konsentrasi Standar

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi sterol menggunakan heksan

Ekstraksi sterol menggunakan pelarut heksan dilakukan dengan mencoba beberapa cara untuk memperoleh cara ekstraksi yang paling baik, yaitu: (1) ekstraksi dari lembaga utuh (2) ekstraksi dari lembaga giling dan (3) ekstraksi bertahap dari minyak lembaga. Rendemen yang diperoleh disajikan pada Tabel 1.



Gambar 5. Diagram alur proses ekstraksi dan fraksinasi ekstrak sterol kasar

Tabel 1. Rendemen yang diperoleh ekstraksi sterol lembaga gandum melalui cara ekstraksi bertahap dari minyak

Jenis Rendemen	Rendemen (%)
1. Rendemen minyak	12,10
2. Rendemen ekstrak sterol kasar terhadap minyak	11,30
3. Rendemen ekstrak sterol kasar terhadap lembaga	1,37

Cara yang pertama (ekstraksi sterol dari lembaga utuh) menemui beberapa kendala, antara lain kesulitan dalam pemisahan filtrat yang mengandung sterol dari ampas lembaga gandum dan ekstraksi minyak tidak optimal. Ekstraksi minyak tidak optimal karena luas permukaan yang kontak dengan pelarut lemak (heksan) sangat terbatas disebabkan lembaga bentuknya utuh.

Cara yang kedua (Ekstraksi sterol dari lembaga yang telah digiling) juga menemui kendala yang sama dengan ekstraksi dari lembaga utuh, sehingga kemudian dilakukan ekstraksi sterol dengan cara ketiga. Ekstraksi sterol tersebut dilakukan dengan cara bertahap. Tahap pertama dilakukan ekstraksi minyak lembaga, kemudian dari minyak lembaga tersebut diekstrak sterolnya dengan cara memisahkan bagian yang tidak tersabunkan. Cara ini lebih efisien dibandingkan dengan kedua cara lainnya yang telah dicoba diatas.

Rendemen ekstrak sterol kasar yang diperoleh sebesar 11,30 persen terhadap minyak, jauh lebih besar daripada kandungan sterol lembaga gandum menurut Formo et al., (1979) yaitu sebesar 1,3-1,7%. Tingginya rendemen tersebut disebabkan masih terdapatnya komponen lain selain sterol yang ada dalam ekstrak kasar. Menurut Belitz & Grosch (1999), bagian yang tidak tersabunkan dari lemak/minyak mengandung hidrokarbon, steroid, tokoferol dan karotenoid.

Ekstrak yang dihasilkan mempunyai warna kuning kecoklatan dengan aroma/bau seperti bensin. Warna kuning tersebut diduga berasal dari adanya karotenoid, sementara bau bensin disebabkan karena pelarut yang tidak teruapkan seluruhnya. Bau bensin ini telah diupayakan untuk dihilangkan dengan berbagai cara sebagai berikut : (1) evaporasi dengan tekanan yang diubah-ubah pada suhu 50°C dan (2) evaporasi dengan alat Pengering beku (*Freeze Drier*) dengan tekanan 0,1 atm, namun bau bensin tersebut tidak dapat hilang. Selanjutnya dilakukan upaya lain untuk menghilangkan bau bensin yaitu dengan melakukan ekstraksi menggunakan pelarut campuran heksan dan etanol.

Ekstraksi sterol menggunakan campuran pelarut heksan dan etanol

Ekstraksi sterol menggunakan campuran pelarut heksan dan etanol bertujuan untuk memperoleh sterol

dengan sifat organoleptik yang lebih baik, terutama aroma dan rasanya. Campuran heksan dan etanol merupakan campuran antara pelarut polar dengan pelarut non-polar dengan nisbah tertentu.

Pada penelitian ini digunakan nisbah antara Heksan dengan etanol 2 : 1 (Ponton 2001). Campuran kedua pelarut ini diharapkan akan memberikan hasil positif terhadap proses evaporasi pelarut yang digunakan untuk mengekstrak sterol. Adanya dua pelarut yang mempunyai sifat berbeda dan titik didih yang berbeda, mengakibatkan evaporasi terjadi secara bertahap. Tahap pertama evaporasi terjadi pada suhu sekitar 50°C yang akan menguapkan heksan sampai habis, kemudian secara perlahan-lahan suhu dinaikkan sehingga pada suhu sekitar 79°C etanol akan menguap. Hal ini diharapkan akan menghindari terperangkapnya heksan dalam sterol sehingga akan menghilangkan bau bensin.

Pada penelitian ini dicoba juga nisbah lain antara heksan dengan etanol untuk memperoleh ekstrak sterol yang paling tidak terasa bau bensinya. Rendemen yang diperoleh disajikan pada Tabel 2, sedangkan hasil pengamatan organoleptik (aroma dan warna) disajikan pada Tabel 3.

Rendemen minyak tertinggi diperoleh dari hasil ekstraksi dengan menggunakan nisbah pelarut heksan : etanol = 1 : 3 (v/v) yaitu sebesar 15,80%, sementara rendemen sterol tertinggi diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan nisbah pelarut heksan : etanol = 82 : 18 (v/v) yaitu sebesar 1,37% atau sebesar 11,70% terhadap minyak. Semakin besar jumlah etanol yang digunakan rendemen minyak semakin tinggi, sebaliknya rendemen sterol semakin rendah. Hal ini dapat dijelaskan bahwa

pada saat ekstraksi dengan campuran heksan dan etanol, tidak hanya minyak yang diperoleh tetapi juga komponen lain yang larut etanol seperti beberapa jenis karbohidrat. Semakin besar jumlah etanol yang digunakan semakin besar pula komponen lain yang terekstrak, sehingga memperbesar jumlah rendemen minyak yang diperoleh. Sebaliknya ekstrak sterol kasar yang diperoleh tidak sebesar jika menggunakan pelarut dengan jumlah heksannya lebih tinggi. Hal ini disebabkan pada saat proses penyabunan komponen yang larut etanol tidak akan terbawa bersama dengan komponen minyak yang tidak tersabunkan, tetapi akan terbuang pada saat pencucian sabun yang terbentuk.

Data dari Sibtar Company (1999) menunjukkan bahwa lembaga gandum mengandung lemak/minyak sebesar 8 – 12 % dari lembaga, atau sekitar 2 persen dari berat biji gandum. Minyak lembaga gandum juga mengandung sterol sebesar 4,3% sterol. Rendemen minyak hasil penelitian ini sesuai dengan data tersebut, namun untuk ekstraksi dengan pelarut heksan : etanol 1 : 2 dan 1 : 3 (v/v) rendemennya lebih besar dari data tersebut.

Rendemen sterol terhadap minyak hasil penelitian ini lebih besar dari pada data Sibtar Company. Tingginya rendemen sterol tersebut disebabkan masih terdapatnya komponen lain selain sterol yang ada dalam ekstrak kasar, yaitu hidrokarbon, tokoferol dan karotenoid.

Warna ekstrak sterol yang dihasilkan berkisar dari kuning kecoklatan sampai coklat. Semakin besar jumlah heksan yang digunakan warna cenderung semakin mengarah ke coklat.

Tabel 2. Rendemen hasil ekstraksi sterol menggunakan pelarut campuran heksan dan etanol

No	Perlakuan Nisbah Pelarut (v:v)	Rendemen Minyak (% terhadap Lembaga)	Rendemen Sterol (% terhadap Lembaga)	Rendemen Sterol (% terhadap Minyak)
1.	Heksan : Etanol = 1 : 1	12,97	1,04	7,99
2.	Heksan : Etanol = 1 : 2	15,14	0,95	6,27
3.	Heksan : Etanol = 1 : 3	15,80	0,96	6,06
4.	Heksan : Etanol = 2 : 1	12,63	1,01	7,99
5.	Heksan : Etanol = 82 : 18	11,75	1,37	11,70

Tabel 3. Hasil pengamatan organoleptik terhadap ekstrak sterol kasar

No	Perlakuan Nisbah Pelarut	Warna	Aroma	
			Aroma Heksan	Aroma etanol
1.	Heksan : Etanol = 1 : 1	Kuning kecoklatan	+++	++
2.	Heksan : Etanol = 1 : 2	Kuning kecoklatan	++	+++
3.	Heksan : Etanol = 1 : 3	Kuning kecoklatan	+	++++
4.	Heksan : Etanol = 2 : 1	Coklat kekuningan	++++	-
5.	Heksan : Etanol = 82 : 18	Coklat	+++	-

Aroma ekstrak sterol yang dihasilkan masih belum baik, yaitu masih adanya aroma etanol dan aroma heksan seperti aroma bensin. Heksan mempunyai aroma yang lebih kuat daripada etanol. Masih adanya aroma heksan dan etanol menunjukkan bahwa proses penghilangan pelarut belum maksimal, masih ada pelarut yang tertinggal dalam ekstrak. Ekstrak sterol yang paling baik dari kelima perlakuan tersebut adalah perlakuan nisbah heksan : etanol = 1 : 2 dengan aroma yang agak berimbang, diikuti oleh perlakuan heksan : etanol = 1 : 3 dan 1 : 1.

Usaha untuk menghilangkan pelarut yang tersisa pada ekstrak telah dilakukan dengan cara penguapan pelarut pada suhu dan tekanan sesuai petunjuk penggunaan sistem vakum dari Buchi-B169. Caranya yaitu pada saat penguapan heksan digunakan suhu 69°C dan tekanan vakum sebesar 335 mbar, sedangkan penguapan etanol menggunakan suhu 79°C dan tekanan vakum 175 mbar. Hasil ekstraksi dengan cara ini ternyata cukup baik, ditunjukkan dengan rendahnya residu pelarut yang tertinggal. Residu heksan sebesar 0,0009%, sedangkan residu etanol tidak terdeteksi.

Ekstraksi sterol menggunakan etanol

Ekstraksi sterol menggunakan pelarut etanol mengacu pada penelitian Andayani (2003) yang mengekstrak buncis menggunakan etanol dan ternyata berhasil memperoleh komponen aktif dalam ekstrak buncis, yaitu β-sitosterol dan stigmasterol. Tujuan dari ekstraksi dengan etanol ini adalah untuk memperoleh sterol dengan sifat organoleptik yang lebih baik, selain itu diharapkan ekstraksi akan lebih mudah dan waktunya lebih singkat. Rendemen hasil ekstraksi disajikan pada Tabel 4, sedangkan hasil pengamatan organoleptik disajikan pada Tabel 5.

Tabel 4. Rendemen hasil ekstraksi sterol dengan pelarut etanol

No	Perlakuan nisbah lembaga dengan pelarut	Rendemen (% terhadap Lembaga)
1.	Lembaga : Etanol = 1 : 5	13,37
2.	Lembaga : Etanol = 1 : 10	18,39

Rendemen ekstrak etanol tertinggi diperoleh dari hasil ekstraksi dengan menggunakan nisbah lembaga : etanol = 1 : 10 yaitu sebesar 18,39%. Tingginya rendemen yang diperoleh diduga karena adanya komponen lain yang ikut terekstrak bersama-sama dengan sterol. Berdasarkan hasil penelitian Andayani (2003), diduga komponen lain yang ikut terekstrak adalah triterpenoid yang cukup dominan, flavonoid dan asam amino.

Tabel 5. Hasil pengamatan organoleptik terhadap ekstrak sterol kasar hasil ekstraksi dengan etanol

No	Perlakuan nisbah dengan pelarut	Warna	Aroma Etanol
1	Lembaga : Etanol = 1 : 5	Kuning	++++
2	Lembaga : Etanol = 1 : 10	Kuning	++++

Aroma ekstrak sterol kasar yang dihasilkan didominasi oleh aroma etanol. Aroma ini jauh lebih baik dibandingkan hasil ekstraksi dengan campuran heksan dan etanol. Masih dominannya aroma etanol disebabkan belum sempurnanya proses penguapan pelarut meskipun telah diupayakan semaksimal mungkin.

Analisis jenis dan kadar sterol ekstrak kasar sterol lembaga gandum

Analisis jenis dan kadar sterol ekstrak kasar sterol lembaga gandum dilakukan melalui tahap fraksinasi ekstrak dan dilanjutkan dengan analisis secara kuantitatif menggunakan alat KCKT (HPLC) dengan flowrate 0,7 ml/menit dan mobile phase campuran pelarut metanol dan choroform (50% : 50%). Berdasarkan Cristie (2001) bahwa sterol yang terdapat dalam tanaman sebagian besar terdiri dari β-sitosterol, stigmasterol dan campesterol, maka analisis hanya dilakukan terhadap kandungan ketiga jenis sterol tersebut.

Hasil analisis KCKT (HPLC) untuk zat standar β-sitosterol (Gambar 6), stigmasterol (Gambar 7) dan campesterol (Gambar 8) menunjukkan bahwa persentase kemurnian relatif tertinggi 99,42% untuk β-sitosterol diperoleh pada λ = 295 nm dengan waktu retensi, t_R 1,90 menit, untuk stigmasterol kemurnian relatif tertinggi 96,87% pada λ = 270 nm dengan t_R 2,26 menit dan campesterol 99,20% pada λ = 250 nm dengan t_R 2,23 menit. Berdasarkan hasil ini maka analisis masing-masing ketiga jenis sterol tersebut dilakukan pada λ = 295 nm untuk menentukan β-sitosterol, pada λ = 270 nm untuk menentukan stigmasterol dan pada λ = 250 nm untuk menentukan campesterol.

Hasil analisis kuantitatif komponen utama dalam ekstrak sterol kasar lembaga gandum menggunakan zat pembanding standar β-sitosterol, stigmasterol dan campesterol disajikan pada Tabel 6.

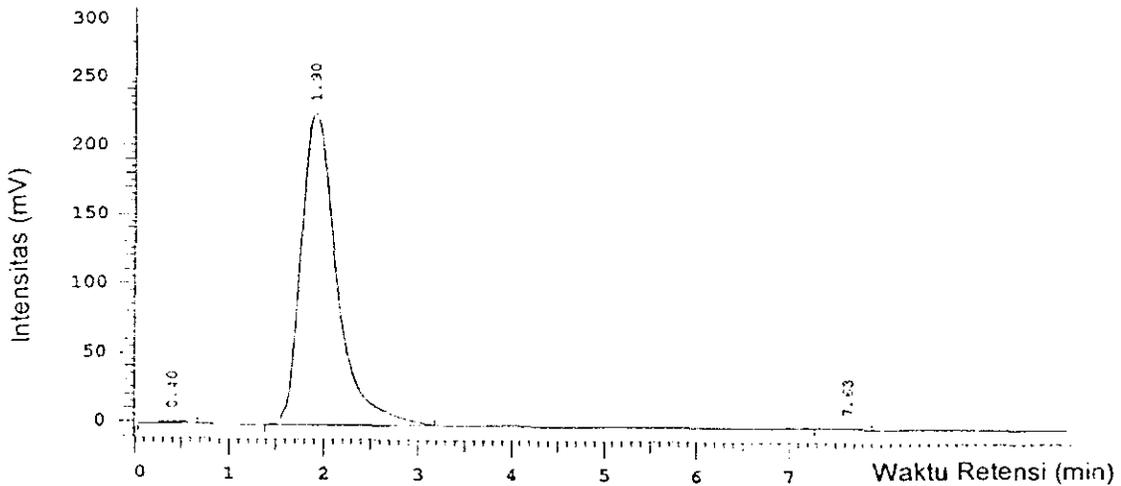
Hasil analisis kuantitatif menunjukkan bahwa kandungan senyawa sterol total pada ekstrak hasil ekstraksi dengan campuran heksan dan etanol relatif lebih tinggi dibandingkan dengan hasil ekstraksi dengan etanol saja. Sterol merupakan bagian yang tidak tersabunkan dari komponen lipida. Mengekstrak lipida terlebih dahulu dari lembaga gandum ternyata mampu membawa sterol lebih banyak dibandingkan hanya dengan mengekstraknya menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang

sama dengan sterol (dalam hal ini etanol). Mengekstrak hanya dengan etanol tidak dapat menembus minyak secara keseluruhan untuk membawa sterol yang ada.

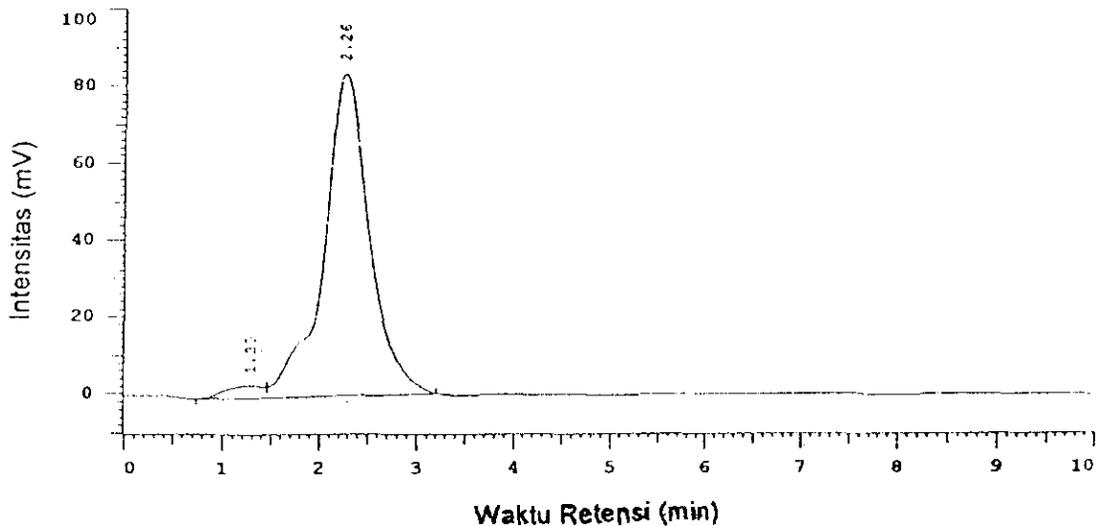
Campuran heksan dan etanol dengan nisbah H : E = 1 : 1 relatif lebih banyak memperoleh sterol total dibandingkan pelarut lainnya, demikian pula stigmasterol dan campesterol yang diperoleh relatif lebih tinggi. Sementara β -sitosterol lebih banyak diperoleh pada ekstraksi menggunakan pelarut campuran heksan dan etanol dengan nisbah H : E = 1 : 2.

Data tersebut juga menunjukkan bahwa dengan semakin tinggi etanol yang digunakan pada campuran heksan dan etanol, semakin rendah kadar sterol total yang diperoleh.

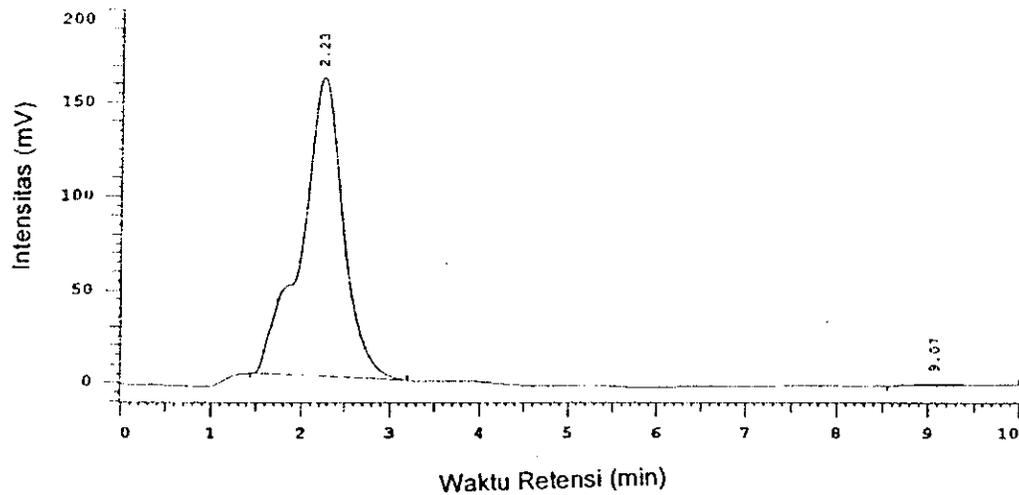
Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstraksi dengan campuran heksan dan etanol H:E=1:2 memperoleh masing-masing sterol per 100 mg fraksi seperti disajikan pada Tabel 7.



Gambar 6. Pola kromatogram standar β -sitosterol hasil analisis KCKT



Gambar 7. Pola kromatogram standar stigmasterol hasil analisis KCKT



Gambar 8. Pola kromatogram standar campesterol hasil analisis KCKT

Tabel 6. Komposisi β -sitosterol, stigmasterol dan campesterol dalam ekstrak sterol kasar yang diperoleh dari lembaga gandum menggunakan pelarut campuran heksan dan etanol, dan pelarut etanol saja

Pelarut	Komponen utama sterol dalam 1 gram ekstrak sterol kasar			
	β -sitosterol (mg)	Stigmasterol (mg)	campesterol(mg)	Total(mg)
Campuran heksan (H) dan etanol (E) dg isbah Germ : pelarut = 1 : 5 H : E = 1 : 1 H : E = 1 : 2 H : E = 1 : 3	25,767	39,142	33,247	98,156
	40,728	26,872	18,293	85,893
	14,738	30,647	20,304	65,689
Pelarut Etanol (E) Nisbah Germ : Pelarut = 1 : 5 Nisbah Germ : Pelarut = 1 : 10	6,820	11,543	7,258	25,621
	6,611	10,755	9,159	26,525

Tabel 7. Kadar β -sitosterol, stigmasterol dan campesterol dalam 100 mg fraksi yang diperoleh dari lembaga gandum menggunakan pelarut campuran heksan dan etanol (H:E = 1:2)

Fraksi (100 mg)	Komponen Sterol		
	β -sitosterol (mg)	Stigmasterol (mg)	Campesterol (mg)
Fraksi A1	4,4	2,4	1,5
Fraksi A2	1,0	2,0	1,9
Fraksi A3	1,0	1,9	1,6
Rerata	2,1	2,1	1,7

Nampak pada Tabel 7 bahwa kadar β -sitosterol, stigmasterol dan campesterol dalam 100 mg fraksi yang diperoleh dari lembaga gandum menggunakan campuran pelarut heksan dan etanol (H : E = 1 : 2) cukup tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Andayani (2003). Penelitiannya yang mengekstrak sterol menggunakan etanol dengan nisbah 1 : 10 menghasilkan 6,4 μ g β -sitosterol dan 16,4 μ g stigmasterol per 100 mg fraksi yang diperoleh dari 40 gram ekstrak buncis.

β -sitosterol dan stigmasterol relatif lebih banyak diperoleh dari fraksi A1, sedangkan campesterol relatif lebih banyak pada fraksi A2. Fraksi A1 diperoleh dari hasil fraksinasi menggunakan kromatografi kolom dengan eluen heksan, sedangkan fraksi A2 dengan eluen kloroform. Hasil ini menunjukkan bahwa β -sitosterol dan stigmasterol relatif lebih larut dalam heksan dibandingkan kloroform, sebaliknya campesterol relatif lebih larut dalam kloroform dibandingkan heksan.

Berdasarkan sifat organoleptik yang telah dievaluasi pada penelitian sebelumnya, ekstrak sterol hasil ekstraksi dengan campuran heksan dan etanol dengan nisbah H : E = 1 : 2 (v/v) mempunyai aroma yang paling baik dibandingkan campuran heksan dan etanol lainnya. Berdasarkan data kadar masing-masing sterol yang diperoleh, campuran heksan dan etanol tersebut juga dapat mengekstrak sterol relatif lebih banyak dibandingkan campuran heksan dan etanol lainnya kecuali campuran heksan dan etanol dengan nisbah H : E = 1 : 1 (v/v). Selain itu kadar sterol total hasil ekstraksi dengan campuran heksan dan etanol dengan nisbah H : E = 1 : 2 (v/v) juga relatif lebih tinggi dibandingkan dengan hasil ekstraksi dengan pelarut etanol saja. Berdasarkan hal tersebut maka campuran heksan dan etanol ini yang akan digunakan untuk mengekstrak sterol pada penelitian selanjutnya.

KESIMPULAN

Cara ekstraksi terbaik adalah ekstraksi bertahap dari minyak lembaga gandum dengan rendemen sebesar 1,37%. Pada ekstraksi dengan campuran heksan dan etanol, rendemen minyak tertinggi diperoleh dari hasil ekstraksi dengan menggunakan nisbah pelarut heksan : etanol = 1 : 3 (v/v) yaitu sebesar 15,80%, sementara rendemen sterol tertinggi diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan nisbah pelarut heksan : etanol = 82 : 18 (v/v) yaitu sebesar 1,37% atau sebesar 11,70% terhadap lipida

Aroma ekstrak sterol yang dihasilkan masih belum baik, yaitu masih adanya aroma etanol dan aroma heksan seperti aroma bensin. Ekstrak sterol yang paling baik dari kelima nisbah pelarut adalah nisbah heksan :

etanol = 1 : 2, diikuti oleh nisbah heksan : etanol = 1 : 3 dan 1 : 1.

Hasil ekstraksi fitosterol dengan pelarut etanol yang terbaik adalah perlakuan nisbah lembaga dengan pelarut 1 : 10 (w/v), karena memiliki rendemen terbesar (18,39%) dibandingkan nisbah 1 : 5 (w/v) (13,37%), sedangkan aromanya sama. Kandungan senyawa fitosterol total pada ekstraksi menggunakan pelarut campuran heksan dan etanol relatif lebih tinggi daripada hasil ekstraksi dengan pelarut etanol saja.

Campuran heksan dan etanol dengan nisbah H : E = 1 : 1 (v/v) relatif lebih banyak menghasilkan sterol total, stigmasterol dan campesterol dibandingkan nisbah heksan dan etanol 1 : 2 dan 1 : 3 (v/v). Sementara β -sitosterol lebih banyak diperoleh dari ekstraksi menggunakan pelarut campuran heksan dan etanol dengan nisbah H : E = 1 : 2 (v/v).

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada PT Bogasari Flour Mills atas dukungan dana pada penelitian ini melalui Bogasari Nugraha tahun 2001.

DAFTAR PUSTAKA

- Andayani Y. 2003. Mekanisme aktivitas Antihyperglikemik Ekstrak Buncis (*Phaseolus vulgaris* Linn) pada Tikus Diabetes dan Identifikasi Komponen Aktif. [Disertasi]. Program Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Belitz HD, Grosch W. 1999. Food Chemistry (2nd ed.) . Translation from the fourth German Edition by MM. Burghagen, D. Hadziyev, P. Hessel, S. Jordan and C. Sprinz. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany.
- Christie WW. 2001. Sterols, Structure, Occurrence and Analysis. The Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee, Scotland.
- Cleghorn CL, Skeaff CM, Mann J, Chisholm A. 2003. Plant sterol-enriched spread enhances the cholesterol-lowering potential of a fat-reduced diet. Europe Journal of Clinical Nutrition. 57(1) : 170-176.
- Diack M, Saska M. 1994. Separation of Vitamin E and g-oryzanols from rice bran by Normal-Phase Chromatography. J. Am. Oil Chem. Soc. 71 : 1211.
- Eliasson AC, Larsson K. 1993. Cereal in Breadmaking. Marcel Dekker, Inc. New York. P : 241-256.

Formo MW, Jungermann E, Norris FA, Sonntag NOV. 1979. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Vol 1, (4rd) edition. John Wiley & Sons, Inc. Canada.

Ham B, Butler B, Thionville P. 2000. Evaluating the isolation and quantification of sterols in seed oils by solid-phase extraction and capillary gas-liquid chromatography. LCGC. 18(11):1174-1181.

Hui YH. 1996. Bailey's Industrial Oil and Fat Products (5rd ed vol 3), Edible oil and Fat Products : Products and Application Technology. John Wiley & Sons, Inc. New York.

Matz SA. 1992. Bakery Technology and Engineering (3rd ed). Van Nostrand Reinhold, New York.

Ponton J. 2001. Azeotrope Databank. <http://www.Azeotrope> Databank.htm [2 Agustus 2003]

SibTar Company. 1999. Chemical composition of wheat germ oil. http://www.sibline.ru/firms/sibtara/sostav-masia_eng.html [25 Nopember 2004]