

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETIL ASETAT  
BUAH SEMU JAMBU METE (*Anacardium occidentale, Linn*)  
PADA MINYAK KACANG TANAH**

**SKRIPSI**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
gelar Sarjana Sains (S.Si) Program Studi Ilmu Kimia  
pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia  
Jogjakarta**



Disusun oleh :

**DWI HESTI KURNIASIH**  
No. Mhs : 00 612 046

**JURUSAN ILMU KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
JOGJAKARTA  
2005**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETIL ASETAT  
BUAH SEMU JAMBU METE (*Anacardium occidentale, linn*)  
PADA MINYAK KACANG TANAH**

Oleh :

**DWI HESTI KURNIASIH**  
No.Mhs : 00612046

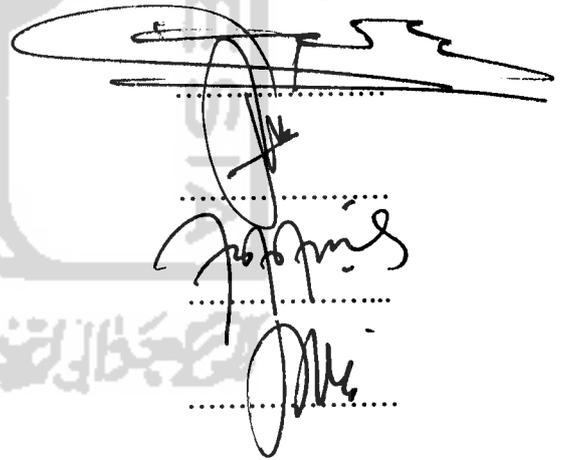
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Jurusan Ilmu Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 21 Februari 2005

Dewan Penguji

1. Drs. Allwar, M.Sc
2. Rudy Syahputra, M.Si
3. Is Fatimah, M.Si
4. Dwiarso Rubiyanto, S.Si

Tanda Tangan



Mengetahui,  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia



Jaka Mughra, M.Si

## MOTTO

*“Sungguh seseorang hanya akan meraih pengetahuan bila dalam dirinya terdapat enam hal : Kesadaran, Semangat, Ketabahan, Bekal, Bimbingan guru dan proses terus yang tiada henti”(Al Hadist)*

*“Dan diantara tanda-tanda kekuasaannya ialah terciptanya segala langit dan perbedaan bahasa dan warna kulitmu. Sungguh dalam hal itu terdapat tanda-tanda orang yang berilmu”(Q.S Arrum : 22 )*

*“Barang siapa yang berjalan disuatu jalan untuk menuntut ilmu maka Allah SWT memudahkan kepadanya suatu jalan ke syurga”(H.R.Muslim)*

*“Dan apabila dikatakan kepada mereka takutlah kamu akan apa-apa yang dihadapanmu dan apa-apa yang ada dibelakangmu, supaya kamu mendapat rahmat” (Q.S.Yaasiin : 40 )*

## PERSEMBAHAN

*Kupersembahkan karya kecilku ini kepada :*

*Bapak dan Ibuku yang selalu memberikan kasih sayang dan doanya,  
Adekku "Idoet" yang selalu memberikan dorongan dan semangat,  
Budhe dan keluarga thank's atas doa dan kebersamaanya,  
dan buat semua keluarga (Tegal & PWT) yang telah membantuku selama ini.*

*Untuk teman-temanku :*

*Mumun (akhirnya q-ta selesai juga), Watie (thank's atas semuanya). Dessy (akhirnya q-ta wisuda bareng), Nunung, Dian, Winnie, Milla, Chanty (thank's atas kebersamaan q-ta selama ini), mas Thoriq( makasih ya dah diajari), Enda dan buat teman-temanku Q-mia angkatan 00 (kapan neh q-ta jalan-jalan lagi)  
"GOOD LUCK" untuk kalian semua.....*

## KATA PENGANTAR

---

Alhamdulillah segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana Sains di Jurusan Ilmu Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia dengan judul “ **UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETIL ASETAT BUAH SEMU JAMBU METE (*Annacardium occidentale, linn*) PADA MINYAK KACANG TANAH**”.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih atas bimbingan dan dukungan selama penyusunan skripsi ini kepada :

1. Bapak Jaka Nugraha, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Ibu Is Fatimah, M.Si selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktu dan tenaga serta pikiran sampai penyusunan skripsi ini selesai.
3. Bapak Dwiwarso Rubiyanto, S.Si selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, masukan dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Seluruh staf laboratorium Jurusan Ilmu Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
5. Seluruh dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

6. Seluruh mahasiswa Jurusan Kimia khususnya angkatan 2000.
7. Semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Semoga Allah SWT berkenan melimpahkan rahmat dan hidayahNya atas segala kebaikan yang telah dilakukan. Akhirnya penyusun berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jogjakarta, Februari 2005

Penyusun



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
MOTTO.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
INTISARI.....	xii
ABSTRAK .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Uraian tentang tanaman.....	5
2.1.1 Sistematika tumbuhan .....	5
2.1.2 Nama Daerah.....	5
2.1.3 Morfologi tumbuhan .....	6
<b>BAB III DASAR TEORI</b>	
3.1 Antioksidan	

3.2 Lemak.....	13
3.2.1 Asam lemak.....	13
3.3 Autooksidasi.....	14
3.4 Uji TBA (thiobarbiturate acid).....	15
3.5 Uji Thiosianat.....	16
3.6 Uji Bilangan Peroksida .....	16
3.7 Ekstraksi .....	17
3.8 Spektrofotometer UV-Vis .....	18
3.9 Pelarut Etil Asetat ( $C_2H_5OOCCH_3$ ).....	20
3.10 Minyak kacang tanah .....	21
3.11 Hipotesis.....	22

#### BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan.....	23
4.1.1 Alat-alat yang digunakan .....	23
4.1.2 Bahan-bahan yang digunakan .....	23
4.2 Cara Kerja.....	24
4.2.1 Penyediaan serbuk buah semu jambu mete.....	24
4.2.2 Ekstrak buah semu jambu mete.....	24
4.2.3 Pengujian aktivitas antioksidan.....	24
4.2.3.1 Preparasi sampel.....	24
4.2.3.2 Metode pengujian tiosianat .....	25
4.2.3.3 Metode pengujian thiobarbiturat (TBA) .....	25
4.2.3.4 Metode pengujian bilangan peroksida.....	26
4.2.3.4.1 Penentuan panjang gelombang maksimum kompleks	

iod amilum .....	26
4.2.3.4.2 Pembuatan kurva baku .....	26
4.2.3.4.3 Penentuan absorbansi sampel .....	27
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1 Ekstraksi buah semu jambu mete .....	28
5.2 Uji aktivitas antioksidan .....	30
5.3 Metode thiobarbiturate .....	30
5.4 Metode thiosianat .....	34
5.5 Metode pengujian bilangan peroksida .....	38
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
6.1 Kesimpulan .....	45
6.2 Saran .....	45
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	
<b>LAMPIRAN</b>	



## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Beberapa lemak alami.....	14
Tabel 2. Pengamatan absorbansi kompleks iod-amilum.....	39
Tabel 3. Pengamatan absorbansi sampel dengan metode bilangan peroksida .	42



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kurva hubungan antara absorbansi dengan lama penyimpanan 3 hari pada uji TBA (ekstrak).....	31
Gambar 2. Kurva hubungan antara absorbansi dengan lama penyimpanan 3 hari pada uji TBA (BHT) .....	33
Gambar 3. Reaksi pada uji tiosianat .....	35
Gambar 4 Kurva hubungan antara absorbansi dengan lama penyimpanan 3 hari pada uji Tiosianat (ekstrak).....	36
Gambar 5. Kurva hubungan antara absorbansi dengan lama penyimpanan 3 hari pada uji Tiosianat (BHT) .....	37
Gambar 6. Kurva baku kompleks iod-amilum.....	39
Gambar 7. Reaksi pada uji bilangan peroksida.....	40
Gambar 8. Kurva hubungan antara absorbansi dengan lama penyimpanan 3 hari pada uji bilangan peroksida (ekstrak) .....	43
Gambar 10. Kurva hubungan antara absorbansi dengan lama penyimpanan 3 hari pada uji bilangan peroksida(BHT).....	44

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETIL ASETAT  
BUAH SEMU JAMBU METE (*Anacardium occidentale, linn*)  
PADA MINYAK KACANG TANAH**

**DWI HESTI KURNIASIH**

**00612046**

**INTISARI**

Telah dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak buah semu jambu mete pada minyak kacang tanah. Antioksidan merupakan zat yang dapat menghambat oksidasi pada minyak kacang tanah. Uji aktivitas antioksidan pada minyak kacang tanah ini dilakukan dengan metode thiosianat, metode TBA dan penentuan bilangan peroksida dengan Spektrofotometer UV-Vis. Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak buah semu jambu mete dibandingkan dengan aktivitas antioksidan sintetik BHT (*Butylated Hidroxy Toluena*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah semu jambu mete dapat digunakan sebagai antioksidan pada minyak kacang tanah. Urutan aktivitas antioksidan adalah sebagai berikut BHT > ekstrak > kontrol.

Kata Kunci : antioksidan, jambu mete, spektrofotometer UV-Vis.



**ACTIVITY TEST OF ETHYL ACETATE EXTRACT  
FROM CASHEW FRUIT (*Anacardium occidentale*, Linn)  
AS ANTIOXIDANT ON PEANUT OIL**

**DWI HESTI KURNIASIH  
00612046**

**ABSTRAK**

Research on the antioxidation activity of cashew fruit (*Anacardium occidentale*, Linn) extract in peanut oil has been investigated. Antioxidant is a substance that retard oxidation in peanut oil. Antioxidant activity in peanut oil is tested using thiosianat method, TBA method and peroxide value test with UV-Vis Spektrofotometer. Antioxidant activity of the extract compared with synthetic antioxidant BHT.

The result of the study showed that the cashew fruit extract can be used as antioxidant in peanut oil. The succession antioxidant activities are : BHT > extract > control.

Keywords : antioxidant, cashew, spektrofotometer UV-Vis

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Jambu mete merupakan tanaman buah berupa pohon yang berasal dari Brasil Tenggara. Tanaman ini dibawa oleh pelaut Portugis ke India 425 tahun yang lalu, kemudian menyebar ke daerah tropis dan subtropis lainnya. Ditinjau dari segi komposisi dan nilai gizinya, buah semu jambu mete mempunyai kandungan vitamin dan mineral yang cukup tinggi. Kadar vitamin C-nya antara 147-372 mg/100 gram, mengandung vitamin B1, B2, niasin, serta asam amino dan kandungan P yang cukup. Buah semu jambu mete juga mengandung tanin yang cukup tinggi pula yaitu antara 0,06 sampai dengan 0,22g / 100g. Disamping itu jambu mete juga mengandung asam-asam organik seperti asam malat, sitrat dan lainnya yang berfungsi sebagai zat antioksidan .

Saat ini penggunaan antioksidan sintetik mulai dibatasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa antioksidan sintetik seperti *Butylated Hidroxy Toluena* ( BHT) ternyata dapat meracuni binatang percobaan dan bersifat karsinogenik. Oleh karena itu, industri makanan dan obat beralih mengembangkan antioksidan alami dan mencari sumber-sumber antioksidan alami baru. Dan salah satu buah yang berpotensi tinggi menghasilkan antioksidan adalah buah semu jambu mete.

Antioksidan merupakan persenyawaan kimia yang mempunyai aktivitas menghambat kerusakan lemak dan minyak akibat proses oksidasi dengan cara

menghambat terbentuknya radikal bebas pada langkah inisiasi atau menghambat kelanjutan reaksi berantai pada langkah propagasi. Beberapa antioksidan terdapat secara alami di alam dan ada pula yang berupa hasil sintetis dalam pabrik kimia.

Sebagian besar antioksidan yang banyak digunakan adalah antioksidan sintetik seperti *Butylated Hydroxy Toluena* (BHT) dan *Butylated Hydroxy Anisole* (BHA). Antioksidan ini dapat mengalami kerusakan pada pemanasan suhu tinggi yaitu akan hilang keluar dari pemanasan oleh volatilitas (Kim and Pratt, 1992). Kim and Pratt mengemukakan rendahnya efektifitas BHT dalam memperlambat kerusakan minyak pada pemanasan.

Sifat antioksidan seperti yang dikatakan oleh Ali Khomsan dapat mencegah timbulnya ketengikan pada lemak. Ketengikan pada lemak menunjukkan telah terjadi proses oksidasi pada lemak, di mana struktur dari lemak telah berubah. Senyawa antioksidan sintetik yang banyak digunakan untuk mencegah kerusakan bahan pangan yang mengandung lemak misalnya BHT (*Butylated Hydroxy Toluena*) dan BHA (*Butylated Hydroxy Anisole*).

Penggunaan senyawa antioksidan sintetik dimungkinkan dapat menimbulkan efek samping yang berbahaya, sebab menurut laporan dari WHO ternyata pemakaian BHA telah menimbulkan pembengkakan pada organ hati dan mempengaruhi enzim di dalam hati setelah diujikan ke dalam beberapa binatang.

Untuk mengatasi kebutuhan antioksidan maka diperlukan upaya untuk mencari sumber antioksidan alami yang dimungkinkan tidak memiliki efek samping yang berbahaya. Banyak tanaman di Indonesia yang belum dimanfaatkan secara

optimal sebagai sumber antioksidan, sehingga perlu dilakukan penelitian terhadap berbagai tanaman yang berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

Untuk melakukan uji efektivitas antioksidan dipilih minyak kacang tanah. Pemilihan didasarkan pada kandungan asam lemak tak jenuh yang cukup tinggi, sehingga perubahan selama reaksi oksidasi cepat terlihat. Oleh karena itu dari penelitian ini diharapkan dapat memanfaatkan secara optimal zat antioksidan alami dari ekstrak buah semu jambu mete terhadap minyak kacang tanah, sehingga dapat diperoleh antioksidan alami untuk minyak kacang tanah yang aman dari efek samping. Selain itu, diharapkan pula nantinya mutu minyak kacang tanah yang diproduksi semakin meningkat dan turut di pangsa pasar internasional.

Dalam bahan alam, yang umumnya berfungsi sebagai antioksidan adalah polifenol. Untuk itu, ekstraksi antioksidan dapat dilakukan dengan pemilihan pelarut polar, salah satunya adalah etil asetat. Polifenol kelarutannya paling besar pada etil asetat oleh karena itu dipilih pelarut etil asetat.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Dari uraian diatas maka permasalahan yang timbul adalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etil asetat jambu mete memiliki aktifitas sebagai antioksidan pada minyak kacang tanah.
2. Bagaimana aktifitas ekstrak etil asetat buah semu jambu mete di banding dengan antioksidan sintetis.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etil asetat buah semu jambu mete memiliki aktivitas antioksidan pada minyak kacang tanah dan untuk mengetahui bagaimana aktivitas ekstrak buah semu jambu mete dibanding dengan antioksidan sintetik.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Pembaca mengetahui bahwa ekstrak etil asetat buah semu jambu mete dapat digunakan sebagai antioksidan pada minyak kacang tanah.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Uraian Tentang Tanaman

##### 2.1.1 Sistematika Tumbuhan

Kedudukan tanaman jambu mete berdasarkan ilmu sistematika tumbuhan adalah :

Divisio	:	<i>Spermatophyta</i>
Sub divisio	:	<i>Angiospermae</i>
Kelas	:	<i>Dicotyledone</i>
Bangsa	:	<i>Sapindales</i>
Suku	:	<i>Anacardiaceae</i>
Marga	:	<i>Anacardium</i>
Jenis	:	<i>Anacardium occidentale</i> L

##### 2.1.2 Nama Daerah

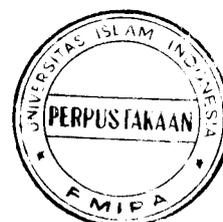
Di Indonesia jambu mete mempunyai nama yang berbeda-beda untuk tiap daerah, antara lain :

Sumatra : jambu orang (minangkabau), baju (lampung)

Jawa : jambu mete (jawa), jambu mede (sunda), jambu monyet (madura)

Bali : jambu jipang

Nusa Tenggara : nyambuk nyebet (sasak)



Sulawesi : jambu sereng (bugis), jambu dere (makasar),

Maluku : kanoke (seram), buwa jaki (ternate), buwa jaki (tidore)

(Syamsuhidayat dan Hutapea., 1991)

### 2.1.3 Morfologi Tumbuhan

Helaian daun tunggal, bertangkai, warna hijau kekuningan sampai hijau kecoklatan, bentuk bundar telur sungsang, panjang 4 cm sampai 22 cm, lebar 2 cm sampai 15 cm, ujung daun membulat dengan lekukan kecil ditengah, pangkal daun runcing, pinggir daun rata, panjang tangkai daun sampai 3 cm, tulang daun menyirip, permukaan atas dan bawah daun licin, tidak berambut.

Potongan kulit melengkung atau menggulung membujur pada kedua sisi, bentuk pipa, kadang-kadang agak pipih, tebal kulit 2 mm sampai 3 mm, lapisan gabus, warna kelabu kecoklatan mudah mengelupas, permukaan luar kulit tanpa gabus berwarna kecoklatan, permukaan dalam berwarna coklat muda dengan garis-garis halus membujur. Kulit agak sukar dipatahkan, agak liat, bekas patahan berserabut berwarna coklat muda.

Telah banyak dilakukan penelitian untuk mengetahui perubahan yang terjadi pada minyak menjadi tengik. Kerusakan lemak yang utama adalah timbulnya bau tengik dan rasa tengik yang disebut proses ketengikan. Hal ini disebabkan oleh autooksidasi radikal asam lemak tak jenuh oleh minyak. Ketengikan terjadi apabila komponen cita rasa dan bau yang mudah menguap terbentuk oksidatif dari lemak dan minyak yang tak jenuh.

Reaksi oksidasi menimbulkan bau yang tidak enak pada minyak dan lemak juga menyebabkan kerusakan vitamin A, C, D, E, dan K serta asam lemak esensial. Proses terjadi melalui pembentukan peroksida menyebabkan molekul tidak stabil sehingga akan mengalami dekomposisi membentuk asam-asam rantai pendek, alkohol, aldehid, dan keton (produk oksidasi sekunder). Jadi ketengikan yang timbul dalam minyak terjadi karena adanya aldehid bukan karena peroksida, kenaikan angka peroksida hanya merupakan indikator bahwa minyak tidak lama lagi akan menjadi tengik.

Adanya antioksidan pada lemak akan mengurangi kecepatan proses oksidasi. Antioksidan terdapat secara alami dalam lemak nabati dan kadang-kadang sengaja ditambah. Ada dua macam antioksidan yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan primer adalah suatu zat yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal yang melepaskan hidrogen. Zat-zat yang termasuk golongan ini dapat berasal dari alam dan dapat pula buatan. Antioksidan alam antara lain: tokoferol, lesitin, fosfotida, sesamol, gasipol, dan asam askorbat.

Antioksidan sekunder adalah suatu zat yang dapat mencegah kerja prooksidan sehingga dapat digolongkan sebagai sinergik. Beberapa asam organik tertentu, biasanya asam di- atau trikarboksilat, dapat mengikat logam-logam (*sequestran*).

Panas dan cahaya merupakan faktor lingkungan yang dapat mempercepat reaksi autooksidasi. Hal ini dapat terjadi karena ikatan rangkap pada asam lemak tidak jenuh mampu menangkap sumber energi dari luar, seperti energi panas dan cahaya yang kemudian digunakan untuk mengeksitasikan elektron ke tingkatan energi

yang lebih tinggi. Bila elektron yang tereksitasi ini kembali ke tingkat dasar, maka kelebihan energinya akan dilepas dalam bentuk panas, cahaya atau digunakan untuk reaksi. Dalam banyak hal peristiwa ini mengakibatkan pemutusan homolitik menjadi atom atau radikal bebas tergantung pada besarnya energi yang diserap (Triebold,1963).



## **BAB III**

### **DASAR TEORI**

#### **3.1 Antioksidan**

Antioksidan adalah suatu bahan yang dapat mencegah terjadinya oksidasi. Reaksi oksidasi dapat terjadi karena adanya oksigen atau peroksida. Antioksidan dapat digunakan untuk menghambat proses oksidasi di dalam bahan pangan (Tranggono., 1990). Lemak maupun minyak dapat dihambat proses oksidasinya dengan menambahkan antioksidan meskipun dalam jumlah yang kecil (Triebold., 1963). Karakteristik struktur senyawa antioksidan tersusun dari cincin benzen disertai gugus hidroksi atau gugus amino (Ketaren., 1986).

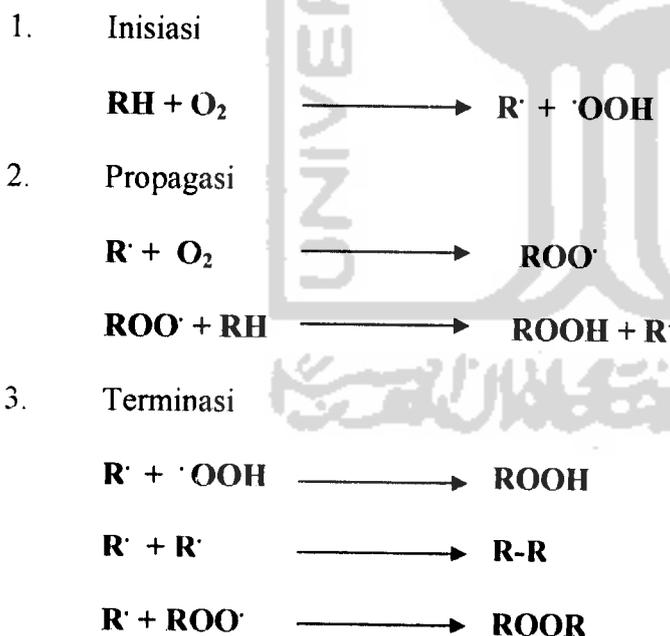
Menurut Desrosier (1970) ada enam persyaratan yang harus dimiliki oleh suatu senyawa yang dapat digunakan sebagai antioksidan yaitu :

1. Dapat larut dengan sempurna dalam lemak atau minyak
2. Tidak beracun dan tidak berefek fisiologis
3. Tidak menimbulkan flavor yang tidak enak
4. Tidak terlalu mahal harganya
5. Efektif pada penggunaannya dengan jumlah yang kecil
6. Memiliki fungsi yang baik pada berbagai macam jenis lemak dan minyak

Mekanisme reaksi yang mampu dilakukan oleh senyawa antioksidan guna menghambat, melawan, mencegah reaksi oksidasi atau menghentikan reaksi berantai radikal bebas pada lemak yang teroksidasi ada empat macam (Sultz,1962) yaitu :

1. Pelepasan hidrogen dari antioksidan
2. Pelepasan elektron dari antioksidan
3. Adisi lemak kedalam cincin aromatis dari antioksidan
4. Pembentukan senyawa kompleks antara cincin aromatis dari antioksidan

Sifat antioksidan tidak dapat menghentikan sama sekali proses autooksidasi pada lemak dan minyak, namun kemampuannya hanya menghambat setiap tahap proses oksidasi atau berperan sebagai inhibitor. Tahap-tahap reaksi oksidasi :



Keterangan :

RH : Minyak atau lemak tidak jenuh

ROO : Radikal Peroksida

R. : Radikal minyak atau lemak

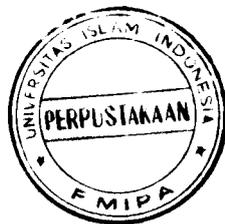
Dengan dilakukan penambahan antioksidan, maka energi radikal-radikal ditampung oleh antioksidan dan akan melepaskan atom H sehingga reaksi autooksidasi terhenti.

Secara umum antioksidan digolongkan menjadi dua macam yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alam. Antioksidan sintetis adalah suatu senyawa yang dibuat di laboratorium sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan, sedangkan antioksidan alam adalah senyawa baham alam yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Kebanyakan bahan alam yang dapat digunakan sebagai antioksidan yaitu terdapat pada daun, biji, batang, kulit pohon, akar ataupun dalam pohon.

Hudson (1990) membagi antioksidan menjadi lima macam yaitu :

#### 1. Antioksidan primer

Antioksidan primer adalah pemutus rantai yang dapat bereaksi dengan radikal lipid untuk dirubah menjadi produk lebih stabil. Yang tergolong sebagai antioksidan primer jika antioksidan tersebut mampu memberikan atom H dengan cepat pada radikal lipid sehingga mampu dirubah menjadi produk lain yang lebih stabil, contohnya adalah BHA, BHT, TBHQ.



## 2. Pengikat oksigen

Oksigen yang ada dalam sistem akan diikat oleh antioksidan jenis ini. Yang termasuk sebagai antioksidan pengikat oksigen misalnya asam askorbat, asam palmitat, asam eritrobat dan garam natrium.

## 3. Antioksidan sekunder

Peran dari antioksidan sekunder yaitu dapat digunakan untuk memperlambat laju autooksidasi dari lipid dengan mengubah radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil. Mekanisme dari antioksidan sekunder didasarkan pada zat yang dapat mengikat logam, menangkap oksigen, mendekomposisi hidroperoksida menjadi senyawa non radikal, mengabsorpsi radiasi ultraviolet atau mendeaktivasi oksigen.

## 4. Antioksidan enzimatik

Antioksidan enzimatik bersumber pada beberapa enzim yang dapat mengkatalisis reaksi zat tertentu dengan oksigen dan kemudian membebaskan oksigen dari sistem. Beberapa contoh antioksidan enzimatik yaitu enzim glukosa oksidase, superoksida, glutathione peroksida yang berfungsi memindahkan oksigen terlarut.

## 5. Sekuestran

Ada beberapa contoh antioksidan jenis sekuestran seperti asam sitrat, asam amino, EDTA yang mengikat ion logam seperti tembaga dan besi yang memacu oksidasi minyak melalui aksi katalisnya.

### 3.2 Lemak

Lemak merupakan trigliserida yang biasanya dihasilkan dari hewan yang dikenal dengan lemak hewani dan dari tumbuhan yang disebut dengan lemak nabati. Proses pembentukan trigliserida merupakan ester dari molekul gliserol dengan tiga molekul asam lemak yang membentuk satu molekul trigliserida dan tiga molekul air.

Dilihat dari titik leburnya menurut Markley (1964) untuk lemak dengan titik lebur yang rendah biasanya berwujud cair, sedangkan lemak yang memiliki titik lebur tinggi cenderung berwujud padat.

#### 3.2.1 Asam Lemak

Asam lemak digolongkan menjadi dua yaitu asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh, perbedaan keduanya yaitu pada titik lelehnya yang sangat besar sehingga hal ini yang berpengaruh pada sifat fisika suatu lemak atau minyak. Berdasarkan asam lemaknya, lemak dan minyak dikelompokkan menjadi tiga golongan (Jhon M., 1997), yaitu :

1. Minyak yang mengandung asam lemak berat 16 atau 18 dan sebagian besar merupakan minyak biji, seperti minyak biji kapas, minyak kacang tanah, minyak biji bunga matahari, minyak jagung, minyak wijen, minyak zaitun, minyak kelapa sawit, minyak kacang kedele, minyak safflower (*carthamus tinctorius*)
2. Minyak biji yang mengandung asam erusat (dokus-13-enoat), misalnya minyak biji rapa (*Brassica napus*) dan minyak biji mustar (*Brassica hirta*, *Brassica nigra*, *Brassica juncea*).

3. Minyak kelapa dan minyak kelapa sawit yang sangat jenuh (bilangan yodium sekitar 15).

Beberapa asam lemak alami dengan nama sistematis dan nama umum dicontohkan pada tabel 1 berikut ini

Tabel 1. Beberapa asam lemak alami

Rumus molekul	Nama sistematis (IUPAC)	Nama umum	Sumber
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CO}_2\text{H}$	12 Dodekanoat	Asam laurat	Minyak kelapa
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CO}_2\text{H}$	14 Tetradekanoat	Asam miristat	Minyak kelapa, Minyak pala
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}_2\text{H}$	16 Heksadekanoat	Asam palmitat	
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}_2\text{H}$	18 Oktadekanoat	Asam stearat	
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{CO}_2\text{H}$	20 Eikosanoat	Asam arakidat	Minyak biji rami

(Sumber : Robert B. dkk, 1998)

### 3.3 Autooksidasi

Ikatan tidak jenuh dalam semua lemak dan minyak merupakan pusat aktif yang antara lain, dapat bereaksi dengan oksigen. Reaksi ini menghasilkan produk oksidasi primer, sekunder, dan tersier yang dapat menyebabkan lemak atau makanan yang mengandung lemak tidak dapat dimakan.

Proses autooksidasi dan kerusakan yang terjadi pada bau rasa lemak dan makanan berlemak sering dinyatakan dengan istilah ketengikan. Biasanya ketengikan menunjukkan kerusakan karena oksidasi, tetapi dalam bidang persusuan, ketengikan biasanya menyatakan perubahan karena hidrolisis yang disebabkan oleh aktifitas enzim.

Ketengikan biasa karena oksidasi terjadi pada lemak seperti lemak babi, jika rendah pada oksigen, dan diberi ciri oleh bau dan rasa yang khas tetapi tidak menyenangkan dan makin lama baunya makin kuat dan tidak menyenangkan ketika oksidasi berlanjut. Diantara banyak faktor yang mempengaruhi laju oksidasi ialah faktor berikut:

1. jumlah oksigen yang ada.
2. derajat ketidakjenuhan lipid.
3. adanya antioksidan.

#### **3.4 Uji TBA (Thio barbiturate acid)**

Lemak yang rusak mengandung aldehid dan kebanyakan sebagai malonaldehid. Malonaldehid kemudian direaksikan dengan tiobarbiturat acid sehingga terbentuk kompleks berwarna merah. Intensitas warna sesuai dengan jumlah malonaldehid atau sebanding dengan ketengikan (Meyer,1960). Intensitas warna merah dapat ditentukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm (Patton 1974).

### 3.5 Uji Thiosianat

Metoda ini digunakan bertujuan untuk menguji senyawa peroksida yang terjadi dari asam lemak tak jenuh hasil reaksi dengan oksigen, peroksida akan mengoksidasi ion ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) dalam suasana asam menjadi ion ferri ( $\text{Fe}^{3+}$ ) selanjutnya ion ferri akan membentuk senyawa kompleks dengan ion thiosianat ( $\text{SCN}^-$ ) yang berwarna merah. Warna merah akan semakin tajam dengan bertambahnya peroksida dari asam lemak tak jenuh. Kemampuan antioksidan dengan metode thiosianat dapat dilihat dari rendahnya nilai absorbansi. Makin rendah absorbansi berarti semakin sedikit peroksida yang dihasilkan.

### 3.6 Uji Bilangan Peroksida

Bilangan peroksida dapat ditentukan karena bilangan peroksida adalah nilai terpenting untuk menentukan derajat kerusakan pada minyak atau lemak. Bilangan peroksida dinyatakan dengan jumlah mL natrium tiosulfat yang dibutuhkan untuk mengikat iod bebas dalam setiap gram bahan minyak atau lemak yang diselidiki. Asam lemak tak jenuh dapat mengikat oksigen pada ikatan rangkapnya sehingga membentuk peroksida, peroksida ini dapat ditentukan dengan metode iodometri (Jacobs,1973). Cara yang sering digunakan untuk menentukan bilangan peroksida berdasarkan pada reaksi antara alkalimetri iodida dalam larutan asam dengan ikatan peroksida. Iod yang dibebaskan pada reaksi ini kemudian dititrasi dengan Natrium Tiosulfat (Kateren,1986) pengukuran bilangan peroksida menunjukkan konsentrasi teroksidasi sebagai ukuran besarnya oksidasi lemak yang teroksidasi akan

mempunyai bilangan peroksida tinggi yang kemudian menurun disertai peruraian hasil oksidasi. Bilangan peroksida ditentukan berdasarkan jumlah iodine yang dibebaskan setelah lemak atau minyak ditambahkan kalium iodida (KI) (Winarno,1991). Demikianpula dengan pengukuran absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis, pengukuran absorbansi sampel melalui reaksi pembentukan kompleks iod amilum pada panjang gelombang maksimum dengan menggunakan kurva baku absorbansi kompleks iod amilum versus konsentrasi iod dengan yang dibebaskan dalam peroksida. Hal ini berarti bahwa semakin tinggi absorbansinya maka bilangan peroksida semakin tinggi dan tingkat oksidasi sampel semakin tinggi.

### 3.7 Ekstraksi

Diantara berbagai jenis metode pemisahan, ekstraksi pelarut merupakan metode pemisahan yang paling baik. Alasan utamanya adalah bahwa pemisahan ini dapat dilakukan baik dalam tingkat makro ataupun mikro. Prinsip metode ini didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Prinsip dasar dari ekstraksi pelarut menggunakan hukum fase Gibb's yang menyatakan bahawa :

$$P + V = C + 2$$

dimana P : fase

C : komponen, dan

V : derajat kebebasan

Menurut Hukum distribusi Nerst, Jika ( $X_1$ ) adalah konsentrasi zat terlarut dengan fase 1 dan ( $X_2$ ) adalah konsentrasi zat terlarut dalam fase 2, maka perbandingan pada kesetimbangan antara  $X_1$  dan  $X_2$  diperoleh :

$$K_D = \frac{(X_1)}{(X_2)}$$

dimana  $K_D$  = koefisien partisi

### 3.8 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dan spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi secara relatif, jika energi tersebut ditransmisikan, direfraksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang.

Emisi elektromagnetik sebagai fungsi dari panjang gelombang terdiri dari komponen-komponen pokok dari spektrofotometer tersebut meliputi :

1. Sumber tenaga radiasi stabil
2. Sistem yang terdiri atas lensa-lensa, cerminan, dan lain-lain
3. Monokromator untuk mengubah radiasi menjadi komponen-komponen pada panjang gelombang

4. Tempat sampel yang transparan dan detector radiasi yang dihubungkan dengan sistem pencatat (Sastrohamidjojo,2001).

Warna adalah kriteria utama mengidentifikasi suatu objek. Analisis spektrum radiasi elektromagnetik digunakan untuk menganalisis spesies kimia dan menelaah interaksinya dengan radisasi elektromagnetik. Persamaan Planck menunjukkan bahwa

$$E = h \nu$$

Dimana :

E : Energi foton

$\nu$  : Frekuensi

h : Ketetapan Planck ( $6,624 \times 10^{-27}$  erg detik)

Suatu foton memiliki energi tertentu dan dapat menyebabkan transisi tingkat energi suatu atom atau molekul. Suatu spektrum yang diperoleh dengan memplot beberap frekuensi terhadap frekuensi radiasi elektromagnetik adalah khas untuk spesies kimia tertentu dan berguna untuk identifikasi.

Bila cahaya jatuh pada senyawa, maka bagian dari cahaya diserap oleh molekul-molekul sesuai dengan struktur dari molekul. Setiap senyawa mempunyai tingkatan tenaga yang spesifik.

Bila cahaya mempunyai tenaga yang sama dengan perbedaan tenaga antara tingkat dasar (G) dan tenaga tingkat tereksitasi ( $E_1, E_2, \dots$ ) jatuh pada senyawa maka elektron-elektron pada tingkat dasar dieksitasi ketingkatan tereksitasi dan sebagian tenaga cahaya yang sesuai dengan panjang gelombang ini diserap. Elektron yang

tereksitasi akan melepaskan tenaga dengan proses radiasi panas dan kembali ke tingkat dasar asal.

Karena perbedaan tenaga antara tingkat dasar dan tingkat tereksitasi spesifik untuk tiap-tiap bahan atau senyawa, maka frekuensi yang diserap juga tertentu. Gambar hubungan intensitas radiasi (absorbansi) sebagai fungsi panjang gelombang atau frekuensi dikenal sebagai spektrum serapan. Hal ini sesuai dengan hukum Lambert-Beer yang berbunyi

$$A = \epsilon b c$$

Dimana :

A : absorbansi

$\epsilon$  : serapan molar

b : lebar kuvet

c : konsentrasi

panjang gelombang sinar UV-Vis adalah dari 400 nm hingga 700 nm.

Penentuan konsentrasi juga dapat menggunakan metode kurva kalibrasi. Dalam metode ini dibuat suatu seri larutan standar dengan berbagai konsentrasi dan absorbansi dari larutan. Langkah selanjutnya adalah membuat grafik antara konsentrasi (C) dengan Absorbansi (A) yang akan merupakan garis lurus melewati titik nol dengan slope =  $\epsilon \cdot b$  atau slope =  $a \cdot b$ . Konsentrasi larutan sampel dapat dicari setelah absorbansi larutan sampel diukur dan diinterpolasi ke dalam kurva kalibrasi



atau dimasukkan ke dalam persamaan garis lurus yang diperoleh dengan menggunakan program regresi linear pada kurva kalibrasi.

### 3.9 Pelarut Etil Asetat ( $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ )

Etil asetat merupakan suatu zat cair tak berwarna dengan bau buah semerbak bertitik didih  $77^\circ$  dan  $d = 0,9 \text{ g/cc}$ . Larut sedikit dalam air tapi mudah larut dalam pelarut organik.

Dapat terbentuk dari:

1. Etanol dan asam asetat glasial yang dipanaskan pada  $140^\circ$  dalam asam sulfat pekat.



2. Asetilasi etanol dengan asetil klorida atau anhidrida asetat.



3. Etil Yodida dipanaskan dengan perak asetat.



### 3.10 Minyak Kacang Tanah

Tanaman kacang tanah (*Arachis hypogea L*) merupakan tanaman setahun, termasuk famili *leguminoceae*. Kacang tanah berasal dari Amerika Latin dan berkembang ke negara-negara Asia seperti India, Filipina, Jepang dan Indonesia.

Sifat fisik dan kimia minyak kacang tanah merupakan minyak yang lebih baik daripada minyak jagung, minyak biji kapas, minyak olive, minyak bunga matahari,

untuk *salad dressing*, dan disimpan dibawah suhu  $-11^{\circ}\text{C}$ . Hal ini disebabkan karena minyak kacang tanah jika berwujud padat berbentuk amorf, dimana lapisan padat tersebut tidak pecah sewaktu proses pembekuan. Minyak kacang tanah yang didinginkan pada suhu  $-6,6^{\circ}\text{C}$ , akan menghasilkan sejumlah besar trigliserida padat.

Komposisi minyak kacang tanah mengandung 76-82 % asam lemak tidak jenuh, yang terdiri dari 40-50 % asam oleat dan 30-35 % asam linoleat. Asam lemak jenuh sebagian besar terdiri dari asam palmitat, sedangkan kadar asam miristat sekitar 5 %. Kandungan asam linoleat yang tinggi akan menurunkan kestabilan minyak.

Kestabilan minyak akan bertambah dengan cara hidrogenasi atau dengan penambahan antioksidan. Dalam minyak kacang tanah terdapat persenyawaan tokoferol yang merupakan antioksidan alami dan efektif dalam menghambat proses oksidasi minyak kacang tanah.

### **3.11 Hipotesis**

Dari penelitian-penelitian terdahulu dan teori yang ada dapat dibuat hipotesis bahwa ekstrak etil asetat buah semu jambu mete dapat digunakan sebagai antioksidan pada minyak kacang tanah.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Alat dan Bahan

##### 4.1.1 Alat yang digunakan :

1. Spektrofotometer UV-Vis merk Hitachi U-2010
2. Evaporator buchii
3. Peralatan gelas merk Pyrex
4. Kompor listrik merk Maspion
5. Sokhlet
6. Timbangan Listrik OHAUS Voyager 200
7. Alat Pengering

##### 4.1.2 Bahan-bahan yang digunakan :

1. Buah semu jambu mete
2. Minyak kacang tanah buatan Tehnologi Pertanian UGM
3. *Butylated Hidroxy Toluena* (BHT)
4. Etanol absolute buatan E Merck
5.  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  buatan E Merck
6. *Thio Barbiturate Acid* (TBA)
7. Etil asetat buatan E Merck
8. Asam asetat buatan E Merck

9. Kloroform buatan E Merck
10. I<sub>2</sub> buatan E Merck
11. KI buatan E Merck
12. Amilum buatan E Merck
13. Akuades buatan Laboratorium Kimia Lanjut F MIPA UII

#### **4.2 Cara kerja**

##### **4.2.1 Penyediaan serbuk buah semu jambu mete**

Buah semu jambu mete dipilih yang kondisinya masih segar dan baik. Buah semu jambu mete dicuci dan dipotong tipis-tipis kemudian dikeringkan dengan oven setelah itu buah semu jambu mete ditumbuk sehingga menjadi serbuk.

##### **4.2.2 Ekstrak buah semu jambu mete**

25 gram serbuk buah semu jambu mete dibungkus dengan kertas saring kemudian dimasukkan dalam alat sokhlet.

1. Ekstraksi pertama dilakukan selama kurang lebih 6 jam dengan menggunakan pelarut n-heksana.
2. Ekstraksi kedua dilakukan selama kurang lebih 6 jam dengan menggunakan pelarut etil asetat.
3. Ekstrak etil asetat yang didapat, dipekatkan dengan evaporator buchii.

##### **4.2.3 Pengujian aktivitas antioksidan**

###### **4.2.3.1 Preparasi sampel**

Sampel ekstrak buah semu jambu mete konsentrasinya dibuat menjadi 0,02 % (b/v) dalam etanol dan sebagai sampel pembanding digunakan antioksidan sintetik

*Butylated Hidroksy Toluena* (BHT) juga dikenakan perlakuan yang sama. Masing-masing sampel diambil sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam botol dan ditambahkan 10 mL minyak kacang tanah 0,005 M. Dibuat pula sampel minyak kacang tanah tanpa penambahan antioksidan yang diberi perlakuan sama. Masing-masing larutan campuran tadi dimasukkan ke dalam botol warna gelap tertutup dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 60 °C selama 3 hari.

#### **4.2.3.2 Metode pengujian tiosianat**

Pengujian tiosianat dilakukan terhadap sampel hasil penyimpanan selama 3 hari dengan cara sampel disimpan dalam oven pada temperatur 60° dikeluarkan dibiarkan temperatur sama dengan temperatur kamar, dipipet sebanyak 0,1 mL ke dalam tabung reaksi ditambah berturut-turut etil asetat 75 % sebanyak 4,7 mL, 0,1 mL NH<sub>4</sub> SCN 30 % dan 0,1 mL FeCl<sub>2</sub> 0,02 M dalam 3,5 % HCL. Campuran dibiarkan selama kurang lebih 3 menit sampai reaksi sempurna dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 500 nm dengan spektrofotometer Uv-Vis. Prosedur pengujian yang sama diberlakukan terhadap pembanding (BHT). Sehingga diperoleh data absorbansi untuk sampel dan pembanding.

#### **4.2.3.3 Metode pengujian thio barbiturat acid (TBA)**

Pengujian dilakukan terhadap sampel hasil penyimpanan selama 3 hari dengan cara sampel yang telah disimpan dalam oven pada temperatur 60° dikeluarkan dan dibiarkan temperatur sama dengan temperatur kamar, kemudian dipipet sebanyak 2 mL ditambah dengan 2 mL CCl<sub>3</sub>COOH 20 %, 1mL TBA 0,67 % lalu dipanaskan dengan “waterbath” selama 10 menit setelah dingin diuji dengan spektrofotometer

UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm. Prosedur yang sama diberlakukan terhadap pembanding BHT sehingga diperoleh data absorbansi sampel dengan variasi pembanding BHT.

#### **4.2.3.4 Metode pengujian dengan bilangan peroksida**

##### **4.2.3.4.1 Penentuan panjang gelombang maksimum kompleks iod-amilum**

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan kompleks iod-amilum dilakukan dengan cara :

1. Dibuat larutan iod 0,005 M dengan mereaksikan iod dan KI dalam akuades.
2. Diambil 1 mL larutan iod 0,005 M dan dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, diencerkan sampai tanda dengan akuades kemudian ditambah 0,5 mL amilum 1 %.
3. Diukur pada panjang gelombang maksimum kompleks iod amilum pada panjang gelombang antara 400 - 700 nm.

##### **4.2.3.4.2 Pembuatan kurva baku kompleks iod-amilum**

1. Dibuat variasi konsentrasi larutan iod yang ditambahkan dalam pembuatan kompleks iod amilum : 30; 35; 40; 45; 50 ppm.
2. Masing-masing dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL dan diencerkan dengan akuades sampai tanda.
3. Ditambahkan masing-masing kedalamnya 0,5 ml amilum 1 %.
4. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

#### 4.2.3.4.3 Penentuan absorbansi sampel

1. Dibuat 3 buah sampel yang akan diukur absorbansinya, yang terdiri atas masing-masing 2,5 g minyak, 2,5 g minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat buah semu jambu mete dan 2,5 g minyak dengan penambahan antioksidan sintetik BHT kemudian dipanaskan dalam oven selama 24 jam pada suhu 40° C.
2. Masing-masing sampel dikeluarkan dari oven dan dibiarkan suhu sama dengan suhu kamar kemudian dimasukkan ke erlenmeyer dan ditambahkan ke dalamnya asam asetat dan kloroform sebanyak 15 mL dengan perbandingan 3 : 2.
3. Didiamkan 5 menit dan ditambahkan 15 mL akuades.
4. Diambil 10 ml lapisan bagian atas dan ditambahkan 0,5 mL amilum 1 %.
5. Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengekstraksi senyawa-senyawa aktif dalam buah semu jambu mete yang dapat digunakan sebagai antioksidan pada minyak, dimana senyawa aktif yang terdapat dalam buah semu jambu mete adalah polifenol. Metode yang digunakan adalah ekstraksi sokhletasi dengan pelarut etil asetat. Metode ini dipilih karena senyawa polifenol merupakan penyusun terbesar dari buah semu jambu mete merupakan golongan flavonoid semi polar sehingga cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti etil asetat, kloroform, eter, dll.

Hasil ekstraksi yang diperoleh selanjutnya diujikan aktivitas antioksidannya pada minyak kacang tanah. Pada uji aktivitas antioksidan ini menggunakan kontrol antioksidan sintetis yaitu *Butylated Hidroxy Toluena* (BHT) dan minyak kacang tanah tanpa penambahan antioksidan sebagai pembanding dengan metode asam tiobarbiturat, metode tiosianat dan penentuan bilangan peroksida.

#### 5.1 Ekstraksi Buah Semu Jambu Mete

Buah semu jambu mete yang digunakan adalah buah dalam kondisi yang baik. Buah semu jambu mete diperoleh dengan pemetikan pada pohon yang berada di halaman salah satu fakultas di Universitas Gajah Mada ( UGM ). Pengambilan sampel dilakukan dengan metode acak sederhana. Buah semu jambu mete dipilih yang kondisinya baik. Kemudian dicuci hingga bersih untuk menghindari jamur



dan kotoran lain yang menempel. Buah semu jambu mete dipilih karena mengandung senyawa polifenol yang cukup besar, sehingga diharapkan senyawa aktif antioksidan dapat terambil secara maksimal. Buah semu jambu mete dihaluskan untuk mendapatkan serbuk buah semu jambu mete. Hal ini dimaksudkan untuk memperbesar luas permukaan daun teh sehingga interaksi antara pelarut dengan senyawa yang akan diambil lebih efektif.

Senyawa yang akan diambil dari buah semu jambu mete dipisahkan dengan metode ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan berdasarkan pada metode ekstraksi sokhletasi. Ekstraksi ini dilakukan dengan cara serbuk buah semu jambu mete dibungkus rapat dengan kertas saring. Kemudian dimasukkan ke dalam alat sokhlet dan sokhlet disambungkan dengan kondensor ( pendingin balik ) pada bagian atasnya, serta labu alas bulat pada bagian bawahnya untuk menampung ekstrak. Sebelum pelarut etil asetat dimasukkan ke dalam labu alas bulat diberi 5 buah batu didih yang berfungsi untuk meratakan panas dan mencegah terjadi bumping karena ekstraksi dilakukan kurang lebih 6 jam.

Ekstraksi dilakukan dengan memanaskan pelarut dengan penangas air untuk menjaga agar tidak terjadi kelebihan temperatur pada saat pemanasan. Ekstraksi dilakukan dengan memisahkan senyawa-senyawa nonpolar seperti lemak, pigmen, klorofil dan senyawa nonpolar lain yang ada di dalam buah semu jambu mete terlebih dahulu menggunakan pelarut n-heksana karena pelarut ini termasuk pelarut nonpolar sehingga dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar yang terdapat di dalamnya. Kemudian ekstraksi dilanjutkan dengan menggunakan pelarut etil asetat untuk mendapatkan senyawa aktif antioksidan yang diinginkan.

Pelarut n-heksana yang digunakan untuk memisahkan senyawa nonpolar sebanyak 125 mL. Pada sirkulasi pertama pelarut n-heksana berwarna kuning, sedangkan pada sirkulasi selanjutnya warna pelarut n-heksana dalam sokhlet semakin berkurang sampai akhirnya menjadi tidak berwarna.

Ekstraksi berlangsung selama 6 jam. Agar pemisahan lebih optimal, residu didiamkan selama 1 malam dalam keadaan terendam n-heksana. Filtrat n-heksana yang diperoleh berwarna kuning. Selanjutnya residu diekstrak dengan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 125 mL sampai etil asetat yang berada dalam soklet menjadi tidak berwarna. Proses ekstraksi berlangsung selama 6 jam. Ekstrak yang diperoleh sebanyak 65 mL kemudian dipekatkan dengan evaporator buhii untuk menguapkan pelarut etil asetat dan mendapatkan hasil berupa jel yang berwarna coklat kehitaman dengan berat 35 g.

## 5.2 Uji Aktifitas Antioksidan

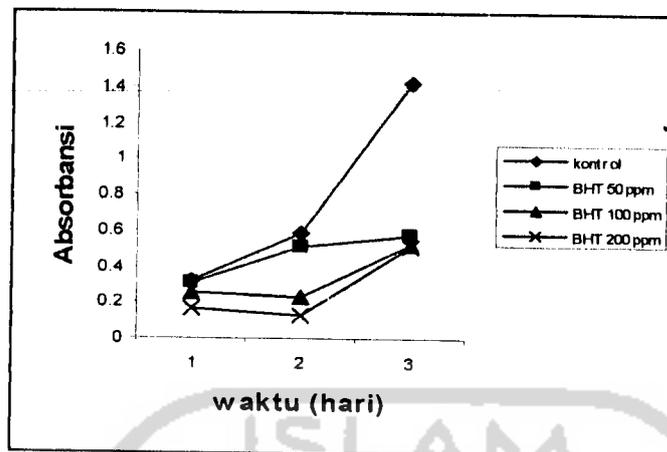
Metode pengujian antioksidan yang dilakukan adalah dengan menggunakan metode tiobarbiturat, metode tiosianat dan metode pengujian bilangan peroksida terhadap minyak kacang tanah. Antioksidan sintetis yang digunakan sebagai kontrol adalah BHT dengan konsentrasi yang sama dengan konsentrasi ekstrak buah semu jambu mete yaitu 0,02 % ( b/v ) dan sebagai pembanding digunakan minyak kacang tanah tanpa penambahan antioksidan.

## 5.3 Metode asam tiobarbiturat

Pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode asam tiobarbiturat ini dilakukan melalui pengukuran absorbansi produk oksidasi minyak kacang tanah pada panjang gelombang 532 nm. Uji ini berdasarkan atas

Dari gambar 1 terlihat bahwa minyak kacang tanah tanpa penambahan antioksidan mempunyai absorbansi lebih tinggi dibandingkan dengan sampel minyak kacang tanah dengan penambahan ekstrak etil asetat buah semu jambu mete. Hal ini menunjukkan bahwa proses oksidasi yang terjadi pada sampel minyak tanpa penambahan antioksidan lebih besar dibanding dengan yang lainnya. Hal ini menunjukkan pula bahwa ekstrak buah semu jambu mete mengandung senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Sampel minyak dengan penambahan ekstrak buah semu jambu mete menunjukkan pembentukan peroksida yang relatif lebih sedikit dibandingkan dengan minyak kacang tanah tanpa penambahan apapun. Minyak kacang tanah yang digunakan untuk menguji aktifitas antioksidan tak jenuh yang besar dimana asam lemak tak jenuh dalam minyak kacang tanah ini mengandung dua atau lebih ikatan rangkap yang diharapkan dapat memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan penggunaan asam lemak tak jenuh yang tidak memiliki ikatan rangkap. Apabila digunakan asam lemak dengan satu ikatan rangkap maka kerusakan yang terjadi kurang bisa teramati karena kecilnya tingkat oksidasi yang terjadi. Akibatnya aktivitas antioksidan yang diuji kurang bisa menunjukkan hasil yang signifikan. Tingkat oksidasi akan semakin meningkat dengan semakin bertambahnya ikatan rangkap, karena asam lemak tak jenuh dengan ikatan rangkap lebih dari dua akan lebih mudah teroksidasi di banding asam lemak yang hanya punya satu ikatan rangkap pada kondisi yang sama.

Pada penelitian ini digunakan pula antioksidan sintetis BHT. Hasil pengukuran absorbansi pada metode asam tiobarbiturat disajikan dalam gambar 2.



**Gambar 2. Kurva hubungan antara absorbansi dengan lama penyimpanan selama 3 hari pada uji TBA**

Dari gambar 2 terlihat bahwa minyak kacang tanah tanpa penambahan antioksidan mempunyai absorbansi tertinggi dibandingkan dengan sampel kontrol minyak kacang tanah yang ditambahkan antioksidan sintetis BHT. Hal ini dimaksudkan untuk membandingkan kekuatan antioksidan antara senyawa dalam ekstrak buah semu jambu mete dengan antioksidan sintetis BHT secara kuantitatif. Penggunaan ini dimaksudkan untuk menguji secara kualitatif kekuatan antioksidan dari ekstrak buah semu jambu mete dan kontrol sampel minyak kacang tanah tanpa penambahan antioksidan tersebut telah memperlihatkan perlakuan uji aktifitas antioksidan yang tepat dalam penelitian ini.

Dari gambar 1 dan 2 terlihat juga bahwa pada penyimpanan hari pertama sampai hari ketiga mengalami kenaikan absorbansi. Kenaikan absorbansi pada sampel kontrol menunjukkan semakin banyaknya peroksida yang terbentuk yang akan mengalami dekomposisi menjadi produk sekunder berupa malonaldehid yang disebabkan oleh proses pemanasan pada suhu 60° C dan lamanya waktu

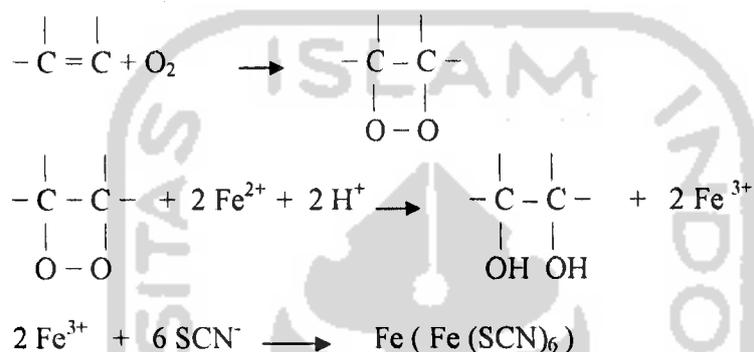
pemanasan. Semakin banyaknya malonaldehid yang terbentuk menunjukkan semakin tingginya tingkat kerusakan minyak. Kenaikan absorbansi sampel lebih rendah bila dibandingkan dengan sampel kontrol. Hal ini disebabkan karena adanya penambahan BHT yang berfungsi untuk menghambat atau memperlambat proses oksidasi pada minyak. Dengan terhambatnya oksidasi oleh komponen antioksidan BHT, maka peroksida yang terbentuk akan lebih sedikit, karena malonaldehid yang bereaksi dengan TBA lebih sedikit pula. Dengan demikian peningkatan absorbansi pada sampel ini lebih rendah dibanding dengan sampel kontrol.

#### 5.4 Metode tiosianat

Metode pengujian aktivitas antioksidan selanjutnya adalah dengan menggunakan metode tiosianat. Metode ini menggambarkan banyaknya peroksida yang terbentuk selama pemanasan. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode tiosianat adalah suatu mekanisme pengukuran aktivitas antioksidan dalam menghambat terbentuknya senyawa-senyawa radikal yang bersifat reaktif. Proses terbentuknya radikal bebas ini disebabkan oleh oksidasi asam lemak pada kondisi buffer yang diinkubasi pada suhu tertentu. Pengukuran bilangan peroksida sampel dilakukan pada waktu pemanasan selama 1, 2 dan 3 hari menggunakan larutan besi klorida ( $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) dan amonium tiosianat ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ ). Senyawa peroksida dinyatakan sebagai senyawa yang dapat dinyatakan dalam absorbansi pada panjang gelombang 500 nm.

Reaksi yang terjadi dalam pengujian metode ini adalah peroksida dari asam lemak tak jenuh bereaksi dengan oksigen. Peroksida ini akan mengoksidasi

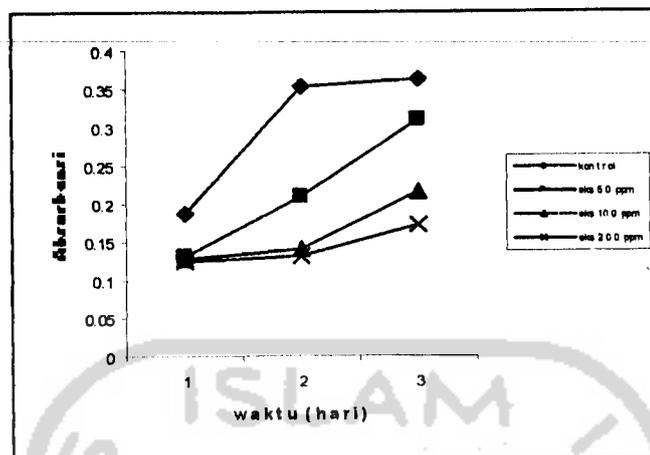
ion ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) menjadi ion ferri ( $\text{Fe}^{3+}$ ) dan ion ferri selanjutnya akan bereaksi dengan ion  $\{\text{Fe}(\text{CNS})_6^{-3}\}$ . Apabila warna merah yang terbentuk semakin intensif, maka hal ini menandakan semakin besar kandungan peroksida dalam sampel. Dengan reaksi sebagai berikut :



**Gambar. 3** Reaksi pada uji metode tiosianat

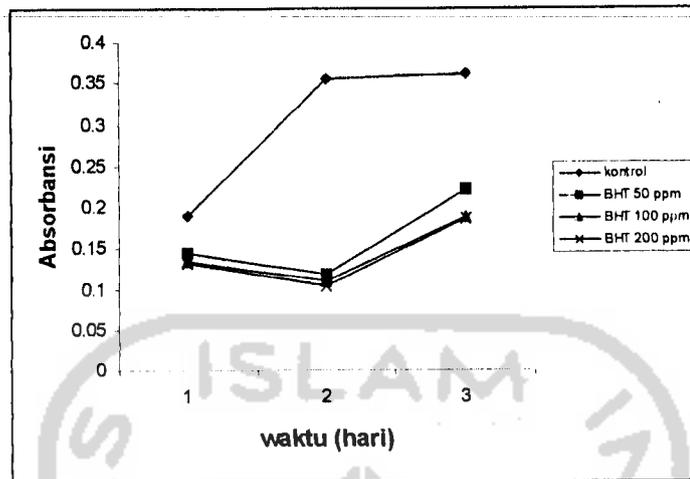
Dengan terhambatnya oksidasi maka peroksida yang terbentuk menjadi lebih sedikit, oleh karenanya  $\text{Fe}^{3+}$  yang bereaksi dengan tiosianat lebih sedikit pula, dengan begitu absorbansi lebih rendah. Kemampuan antioksidan pada metode tiosianat dilihat dari rendahnya nilai absorbansi, berarti semakin sedikit peroksida yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan reaksi diatas.

Dari uji aktivitas antioksidan dengan metode tiosianat ini diperoleh absorbansi yang disajikan dalam gambar 4.



**Gambar 4. Kurva hubungan antara absorbansi dengan lama penyimpanan selama 3 hari pada uji Tiosianat**

Dari gambar 4 terlihat bahwa dengan semakin tinggi nilai absorbansi dari sampel, maka semakin tinggi pula kandungan peroksida dalam sampel tersebut. Sampel pembanding memiliki nilai absorbansi tertinggi karena tidak adanya zat yang ditambahkan yaitu antioksidan dan untuk menghambat reaksi oksidasi. Hal ini menyebabkan minyak kacang tanah yang kandungan asam lemak tidak jenuhnya besar mudah mengalami oksidasi dengan oksigen pada suhu diatas suhu kamar. Dapat dilihat perbedaan yang terjadi dengan penambahan suatu antioksidan pada sampel selain pembanding yang dapat membantu menghambat reaksi oksidasi asam lemak tak jenuh dengan oksigen lebih lanjut. Sampel selain pembanding tanpa penambahan antioksidan juga digunakan pula sampel dengan penambahan antioksidan sinetis BHT. Hasil pengukuran absorbansi dengan metode tiosianat disajikan dalam gambar 5.



**Gambar 5. Kurva hubungan antara absorbansi dengan lama penyimpanan selama 3 hari pada uji Tiosianat**

Dari gambar 5 menunjukkan bahwa BHT tetap lebih paling efektif berlaku sebagai antioksidan dibanding dengan antioksidan yang lain. Penggunaan BHT pada penelitian ini untuk mengontrol uji apakah perlakuan penelitian pada kedua metode ini dilakukan dengan benar. BHT merupakan antioksidan sintetis yang sering digunakan karena itu BHT digunakan sebagai kontrolnya. Dari hasil uji kedua metode ini menunjukkan bahwa ekstrak buah semu jambu mete mengandung senyawa aktif yang mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dibanding BHT. Kedua metode ini menunjukkan bahwa minyak kacang tanah mudah rusak teroksidasi karena pemanasan menghasilkan senyawa radikal dan oksidasi ini akan dihambat atau diperlambat dengan adanya senyawa antioksidan yang ditambahkan ke dalam minyak kacang tanah.

Dari gambar 4 & 5 terlihat bahwa pada penyimpanan hari pertama sampai hari ketiga mengalami kenaikan absorbansi. Kenaikan absorbansi ini disebabkan

oleh proses pemanasan pada suhu 60° C dan banyaknya waktu penyimpanan sampel. Akan tetapi kenaikan ini akan lebih rendah bila dibandingkan dengan sampel kontrol. Hal ini disebabkan karena adanya penambahan BHT. Dengan terhambatnya antioksidan oleh BHT, maka peroksida yang terbentuk akan lebih sedikit. Karena itu Fe<sup>2+</sup> yang teroksidasi dan bereaksi dengan tiosinat lebih sedikit pula.

### **5.5 Metode Pengujian Bilangan Peroksida**

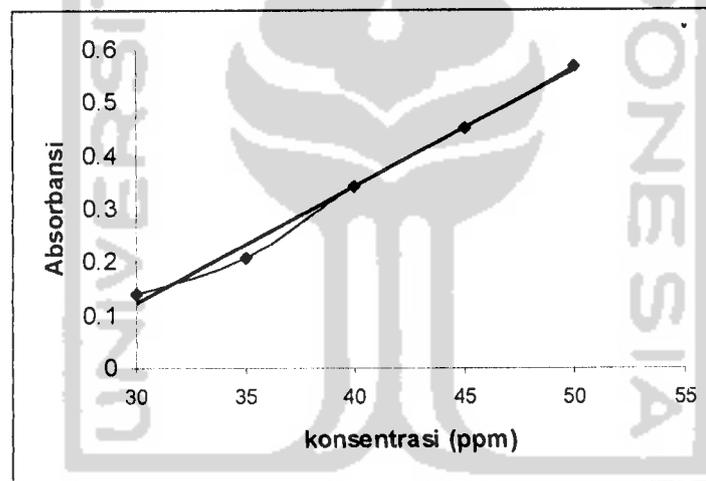
Uji bilangan peroksida dilakukan untuk melihat aktivitas antioksidan dalam menghambat proses autooksidasi pada minyak kacang tanah. Dalam uji bilangan peroksida ini ada 3 penentuan yang dilakukan meliputi : penentuan panjang gelombang maksimum kompleks iod-amilum, penentuan kurva kalibrasi kompleks iod-amilum dan penentuan bilangan peroksida sampel.

#### **1. Penentuan panjang gelombang maksimum kompleks iod-amilum**

Penentuan panjang gelombang maksimum kompleks iod-amilum dilakukan untuk mengetahui panjang gelombang yang dapat diserap secara maksimum oleh kompleks biru iod-amilum dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Penentuan panjang gelombang maksimum kompleks biru iod-amilum diukur dalam rentang pengukuran 400-700 nm. Dalam penelitian yang telah dilakukan diperoleh nilai 559 nm, sebagai panjang gelombang maksimum kompleks iod-amilum dan nilai ini yang akan digunakan pada pengukuran absorbansi sampel selanjutnya.

## 2. Pembuatan kurva baku penentuan bilangan peroksida

Pembuatan kurva baku dilakukan untuk menentukan konsentrasi senyawa standar sehingga dapat digunakan sebagai pembanding terhadap sampel yang akan diteliti, karena syarat untuk menentukan konsentrasi suatu senyawa adalah harus mempunyai senyawa standar. Dalam penelitian ini dibuat kurva baku dengan berbagai variasi konsentrasi penambahan larutan iod pada pembentukan kompleks iod-amilum berturut-turut 30 ppm; 35 ppm; 40 ppm; 45 ppm dan 50 ppm. Dari hasil pengukuran diperoleh kurva baku yang disajikan pada gambar 6.



**Gambar 6. Kurva baku kompleks iod-amilum**

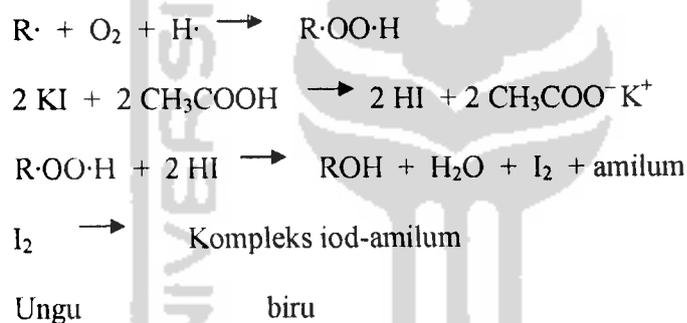
**Tabel 2. Pengamatan absorbansi kompleks iod-amilum**

	Konsentrasi (ppm) (x)	Absorbansi (Y)
1	30	0,142
2	35	0,207
3	40	0,344
4	45	0,451
5	50	0,569

Dari nilai absorbansi yang didapat, diketahui persamaan regresi linier dengan absorbansi, yaitu  $Y = Bx + A$ , diperoleh Intersep = -0,5358, slope = 0,02196  $R = 0,9955$ . Sehingga diperoleh persamaan kurva baku  $Y = 0,02196 x - 0,5358$

### 3. Penentuan bilangan peroksida

Penentuan bilangan peroksida berprinsip pada jumlah iod dalam KI yang dibebaskan oleh peroksida. Penentuan didasarkan pada pengukuran absorbansi dari kompleks yang terbentuk antara iod yang dibebaskan oleh peroksida dengan amilum menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Adapun reaksi pembentukan kompleks iod-amilum adalah



**Gambar.7 Reaksi pada uji Bilangan Peroksida**

Pada penelitian ini dibuat 3 sampel yaitu 2,5 gr sampel minyak, 2,5 gr sampel minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat buah semu jambu mete dan 2,5 gr sampel minyak dengan penambahan antioksidan sintetis BHT yang kemudian dipanaskan dengan oven selama 24 jam pada suhu 40°C. Tujuan dilakukannya pemanasan adalah agar proses oksidasi minyak dapat segera terjadi dan antioksidan mulai bekerja. Kemudian sampel dikeluarkan dari oven dan dibiarkan suhunya sama dengan suhu kamar untuk kemudian dilakukan penentuan

bilangan peroksida dengan pengukuran absorbansi kompleks yang terbentuk pada panjang gelombang 559 nm.

Penentuan bilangan peroksida dengan menggunakan metode Spektrofotometer UV-Vis ini berdasarkan pengukuran absorbansi kompleks iod-amilum pada panjang gelombang 559 nm. Penentuan bilangan peroksida berdasarkan jumlah iod yang dihasilkan, dimana 1 mol peroksida menghasilkan 1 mol iod. Dalam penentuan bilangan peroksida dapat menggunakan metode titrasi, namun pada metode spektrofotometer ini tidak digunakan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  oleh karena itu, pada penentuan ini digunakan nilai absorbansi sampel, dimana 1 mol iod sama dengan 2 ekuivalen (eq) iod. Volume larutan yang digunakan adalah 24 ml ( 15 ml x 30 % asasetat + 15 ml aquades = 24 ml ), dimana 5 ml lapisan bagian atas digunakan untuk pengukuran absorbansi dan berat sampel yang digunakan adalah 2,5 gr. Oleh karena itu, bilangan peroksida dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan :

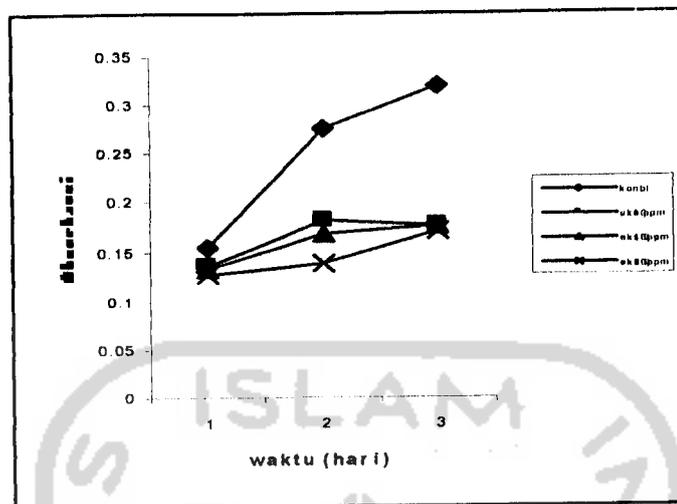
$$\text{Bilangan Peroksida} : \frac{[(\text{absorbansi} + \text{intersep}) \text{slope}] \times 2 \text{meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{mL}}{2,5 \text{ gr}}$$

Dengan menggunakan data dari persamaan regresi linear kurva baku dan penentuan bilangan peroksida diperoleh bilangan peroksida sampel yang disajikan pada tabel 3.

Tabel 3. Pengamatan absorbansi sampel dengan metode Bilangan Peroksida

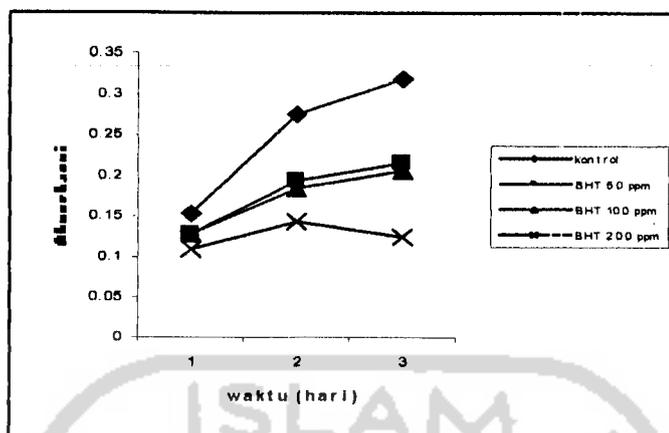
Waktu ( Hari )	Konsentrasi	Absorbansi	Bilangan Peroksida
1	1. Kontrol	0,153	120,445
	2. Ekstrak 50 ppm	0,134	117,123
	3. Ekstrak 100 ppm	0,132	116,773
	4. Ekstrak 200 ppm	0,126	115,124
	5. BHT 50 ppm	0,128	116,074
	6. BHT 100 ppm	0,128	116,074
	7. BHT 200 ppm	0,110	112,926
2	1. Kontrol	0,275	141,779
	2. Ekstrak 50 ppm	0,181	123,342
	3. Ekstrak 100 ppm	0,167	122,893
	4. Ekstrak 200 ppm	0,139	117,997
	5. BHT 50 ppm	0,195	127,790
	6. BHT 100 ppm	0,185	126,041
	7. BHT 200 ppm	0,145	119,056
3	1. Kontrol	0,320	134,260
	2. Ekstrak 50 ppm	0,177	124,467
	3. Ekstrak 100 ppm	0,176	124,467
	4. Ekstrak 200 ppm	0,171	116,074
	5. BHT 50 ppm	0,215	131,287
	6. BHT 100 ppm	0,203	129,189
	7. BHT 200 ppm	0,126	115,724

Dari hasil pengukuran diperoleh bahwa sampel minyak tanpa penambahan antioksidan memiliki nilai absorbansi tertinggi, dilanjutkan dengan minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat buah semu jambu mete dan minyak dengan penambahan antioksidan sintetis BHT. Nilai absorbansi yang semakin tinggi menunjukkan bahwa peroksida yang terbentuk semakin banyak karena intensitas warna kompleks yang semakin tinggi. Hal ini berarti bahwa iod yang dibebaskan oleh peroksida semakin banyak pula yang nantinya akan bereaksi membentuk kompleks dengan amilium. Untuk lebih jelas dapat dilihat pada gambar 8 berikut.



**Gambar 8. Kurva hubungan antara lama waktu penyimpanan dengan absorbansi selama 3 hari pada uji Bilangan Peroksida**

Dari tabel ditunjukkan bahwa absorbansi tertinggi dimiliki oleh minyak tanpa penambahan antioksidan, hal ini berarti bahwa tingkat oksidasi yang terjadi semakin tinggi. Pada minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat buah semu jambu mete dan penambahan antioksidan sintetik BHT memiliki nilai absorbansi yang lebih rendah, hal ini menunjukkan bahwa adanya penambahan ekstrak etil asetat buah semu jambu mete dapat menghambat terjadinya proses autooksidasi pada minyak dan begitu pula yang terjadi pada penambahan antioksidan sintetik BHT. Untuk lebih jelas dapat dilihat pada gambar 9.



**Gambar 9. Kurva hubungan antara lama waktu penyimpanan dengan absorbansi selama 3 hari pada uji Bilangan Peroksida**

Dengan menggunakan persamaan regresi linear yang telah diperoleh, digunakan untuk menentukan bilangan peroksida sampel. Dari tabel ditunjukkan hasil bahwa bilangan peroksida tertinggi dimiliki oleh minyak tanpa penambahan antioksidan sedangkan bilangan sampel minyak dengan penambahan ekstrak etil asetat buah semu jambu mete dan minyak dengan penambahan antioksidan sintetik BHT memiliki bilangan peroksida yang lebih rendah. Semakin tinggi bilangan peroksida yang terbentuk, hal ini berarti bahwa tingkat oksidasi yang terjadi pada minyak tanpa penambahan antioksidan paling tinggi, karena tidak adanya zat antioksidan yang ditambah untuk dapat menghambat terjadinya proses autooksidasi. Dengan demikian dimungkinkan bahwa ada senyawa aktif dalam ekstrak etil asetat buah semu jambu mete yang dapat berfungsi sebagai antioksidan.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pengujian terhadap ekstrak buah semu jambu mete dapat diambil kesimpulan :

1. Ekstrak etil asetat buah semu jambu mete dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan pada minyak kacang tanah.
2. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode asam tiobarbiturat, metode tiosinat dan metode bilangan peroksida didapatkan urutan aktivitas sebagai berikut BHT > ekstrak > kontrol.

#### 6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dan lebih banyak untuk mengetahui manfaat lain dari ekstrak buah semu jambu mete.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas terhadap bahan alam lainnya yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan alami.

## DAFTAR PUSTAKA

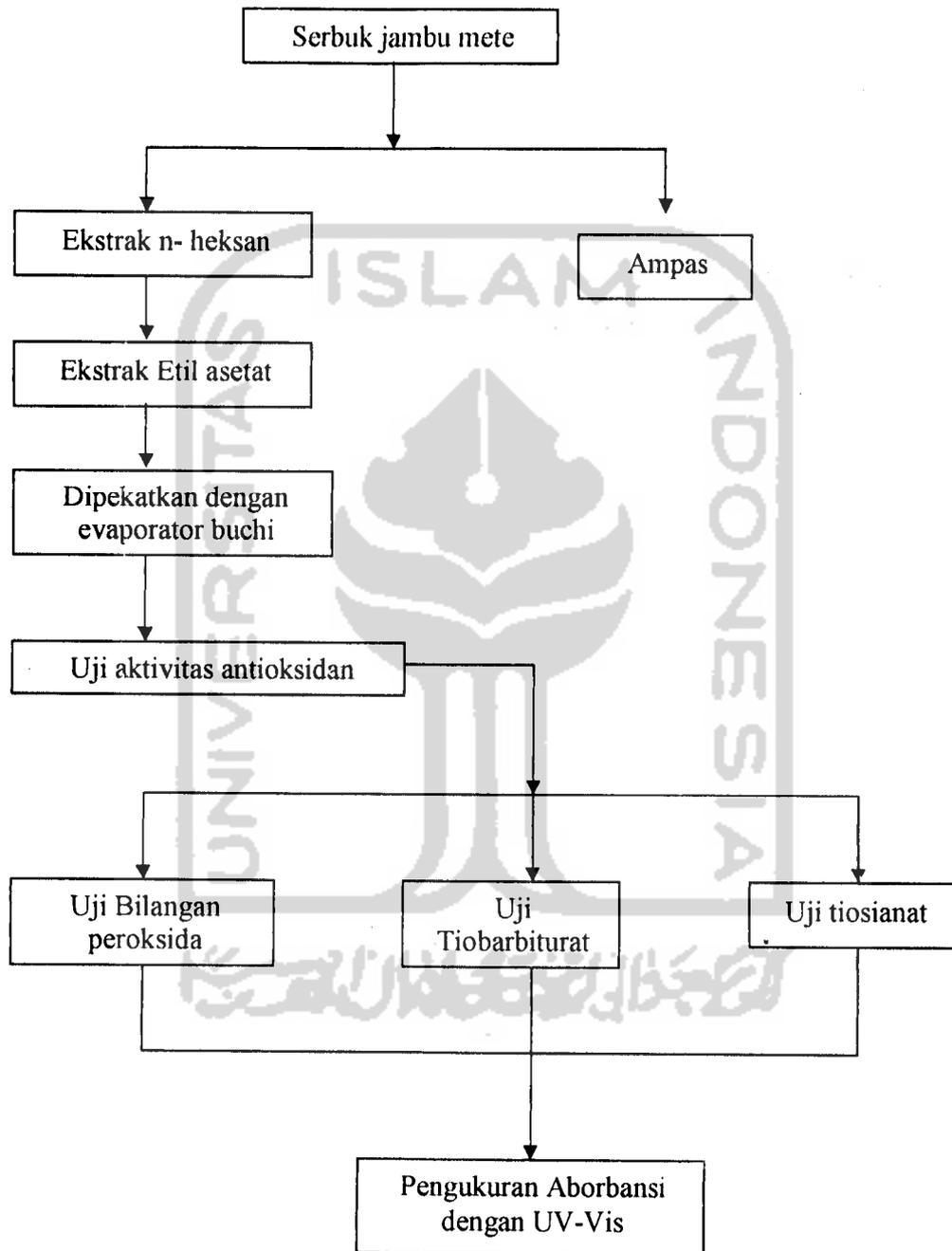
- Andarwulan, N., Wijaya, C.H., Cahyono, J.T., 1996, *Aktivitas Antioksidan dalam Daun Sirih (Piper betle L)*, Buletin Teknologi Industri Pangan, Edisi 7 (1)
- Backer, C.A., and Bakhuizen Van den Brink, R.C., 1963, *Flora of Java*, Vol 1, N.V.P. Noordheef Groningen The Netherland.
- Eckey, A.E., 1954, *Vegetable Fats and Oil*, Reinhold Publishing Cooperation, New York
- Hadisusilo, S., Kumalasari, L., Kosela, 1999, *Uji Aktivitas Antioksidan Biji Kluwe (Pangium Edule Reinw)*, Seminar Nasional Kimia Bahan Alam, Jogjakarta
- Harjanti, S., 2000, *Studi Kinetika Reaksi Oksidasi dan Penentuan Kandungan  $\alpha$ -Tokoferol Alami dalam Minyak Sawit*, Skripsi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada
- Indriati, A., 2002, *Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Buah Jambu Mete (Anacardium occidentale L.)*, Makalah Kimia Bahan Alam
- Jacob, M., B., 1973, *The Chemical Analysis of Food and Food Produc*, 3<sup>rd</sup> edition, Robert E. kreger publishing Co, Inc Huntington, New York
- Ketaren, S., 1986. *Minyak dan Lemak Pangan*, UI Press, Jakarta halaman (120-127)
- Khopkar, S., M 1990, *Konsep Dasar Kimia Analitik*, Alih Bahasa : A. Saptorahardjo, UI-Press, Jakarta
- Kim, M,C, and Pratt, D,E, 1992, *Thermal Degradation of Phenolic Antioksidan*, J, food, Sci
- Meyer, L., H., 1960, *Food Chemistry*, A Fillated East West PVT LTD, New Delhi
- Mulyani, N., L, Puspitasari-Nienaber, S.Fardiaz, 1998, *Kajian Aktivitas Antioksidan Berbagai Bumbu Tradisional Olahhan Industri*. Jurusan Ilmu Teknologi Pangan
- Patton, S., 1974, *Malonaldehyde lipid Oxidation and The Tiobarbituric Acid*, American Oil Chemistry
- Sastrohamidjojo, 2001, *Spektroskopi*, Edisi kedua, Liberty, Jogjakarta

- Sudarmadji, S., B Haryono, Suhardi, 1997, *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan & Pertanian*, Edisi 4, Penerbit Liberty. Yogyakarta. Halaman 87 – 89, 154
- Sudarmadji, S., B Haryono, Suhardi, 1997, *Analisa Untuk Bahan Makanan & Pertanian*, Edisi 4, Penerbit Liberty. Yogyakarta. Halaman 114-117
- Suwandi, R dan A Hidayat, 1995, *Evaluasi Sifat Antioksidan dari Kunyit (Curcuma Longa L.) sebagai Bahan Penghambat Kemunduran Mutu Ikan Olah Dalam Suatu Model*, Laporan Penelitian, Fakultas Perikanan, IPB, Bogor
- Shahidi, F., 2000, *Natural Antioxidants: Sources, Effects and Applications*, <http://www.sifst.org.sg/article-naturalantioxidants.htm>
- Tranggono, Sutardi, Haryadi, Suparno, Murdiati, A Sudarmadji, S., Rahayu, K., Naruki, S., Astuti, M., 1990, *Bahan Tambahan Pangan (Food Additives)*, PAU Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Triebold, H., O., 1963, *Food Composition and Analysis*, D, Van Nostrand Company Inc, N.4
- Vogel, 1985, *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro Dan Semimakro*, edisi kelima, PT Kalman Media Pusaka, Jakarta
- Winarno, F., G., 1991, *Kimia Pangan Dan Gizi*, Penerbit Pt Gramedia Pustaka Utama, Jakarta

# LAMPIRAN



### Lampiran 1. Skematika Kerja



## Penyimpanan Hari I

### 1. Kontrol

Absorbansi = 0,181

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(\text{absorbansi} + \text{intersep}) / \text{slope}] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$\begin{aligned} \text{Bilangan Peroksida} &= \frac{[(0,181 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}} \\ &= 123,342 \end{aligned}$$

### 2. BHT 50 ppm

Absorbansi = 0,167

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,167 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 122,893$$

### 3. BHT 100 ppm

Absorbansi = 0,139

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,139 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 117,997$$

### 4. BHT 200 ppm

Absorbansi = 0,145

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,145 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 119,046$$

### 5. Ekstrak 50 ppm

Absorbansi = 0,196

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,196 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 127,965$$

### 6. Ekstrak 100 ppm

Absorbansi = 0,175

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,175 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 124,292$$

### 7. Ekstrak 200 ppm

Absorbansi = 0,120

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,120 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 114,675$$

## Penyimpanan Hari II

### 1. Kontrol

Absorbansi = 0,320

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(\text{absorbansi} + \text{intersep}) / \text{slope}] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$\begin{aligned} \text{Bilangan Peroksida} &= \frac{[(0,320 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}} \\ &= 134,260 \end{aligned}$$

### 2. Ekstrak 50 ppm

Absorbansi = 0,177

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,177 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 124,467$$

### 3. Ekstrak 100 ppm

Absorbansi = 0,176

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,176 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 124,467$$

### 4. Ekstrak 200 ppm

Absorbansi = 0,171

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,171 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 123,593$$

### 5. BHT 50 ppm

Absorbansi = 0,215

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,215 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 131,287$$

### 6. BHT 100 ppm

Absorbansi = 0,203

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,203 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 129,189$$

### 7. BHT 200 ppm

Absorbansi = 0,126

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,126 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 115,724$$

### Penyimpanan Hari III

1. Kontrol

Absorbansi = 0,153

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(\text{absorbansi} + \text{intersep}) / \text{slope}] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$\begin{aligned} \text{Bilangan Peroksida} &= \frac{[(0,153 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}} \\ &= 120,445 \end{aligned}$$

2. BHT 50 ppm

Absorbansi = 0,128

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,128 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 116,074$$

3. BHT 100 ppm

Absorbansi = 0,128

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,128 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 116,074$$

4. BHT 200 ppm

Absorbansi = 0,110

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,110 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 112,926$$

5. Ekstrak 50 ppm

Absorbansi = 0,134

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,134 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 119,046$$

6. Ekstrak 100 ppm

Absorbansi = 0,132

$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,132 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 116,773$$

7. Ekstrak 200 ppm

Absorbansi = 0,126

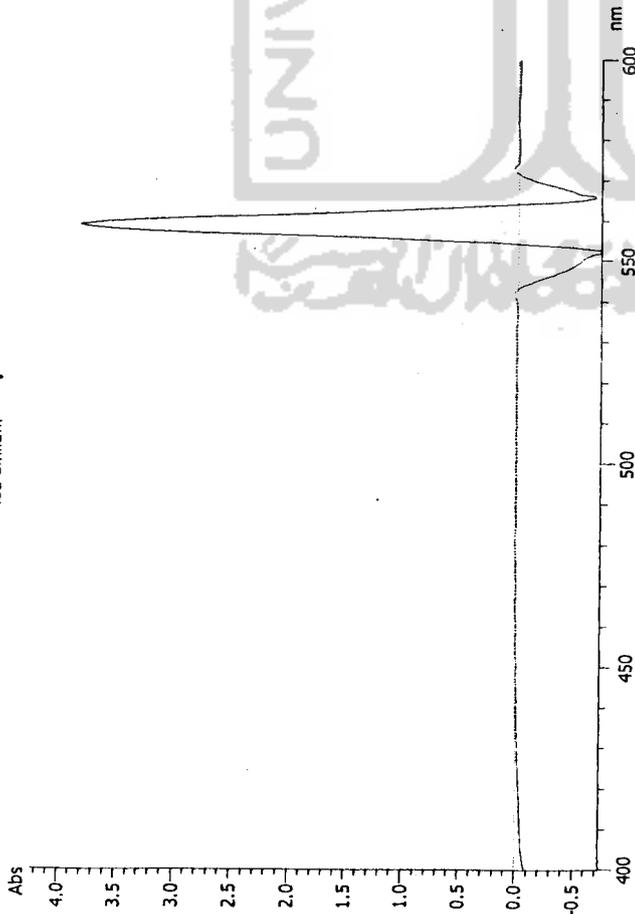
$$\text{Bilangan Peroksida} = \frac{[(0,126 + 0,5358) / 0,02196] \times 2 \text{ meq} \times 24 \text{ mL} / 5 \text{ mL}}{2,5 \text{ gram}}$$

$$= 115,724$$



Report Date: 11:16:21, 10/04/2004

Iod amilum



Peaks	Start (nm)	Apex (nm)	End (nm)	Height (Abs)	Area (Abs*nm)	Valley (nm)	Valley (Abs)
1	600.0	585.5	578.0	0.005	-0.091	578.0	-0.006
2	578.0	573.0	565.5	0.038	-2.047	565.5	-0.674
3	565.5	559.0	552.0	3.841	18.942	552.0	-0.755
4	552.0	542.0	400.0	0.035	-3.770	400.0	-0.080

Data Points  
nm Abs

Sample: Iod amilum  
Run Date: 11:13:23, 10/04/2004  
Operator: irman  
Comment: pamiang gelombang maks

Instrument: U-2010 Spectrophotometer  
Model: 0000-000  
Serial Number: 2550 01  
ROM Version:

Measurement Type: Wavelength Scan  
Data Mode: Abs  
Starting Wavelength: 600.0 nm  
Ending Wavelength: 400.0 nm  
Scan Speed: 800 nm/min  
Sampling Interval: 0.5 nm  
Slit Width: 2 nm  
Lamp Change: 340.0 nm  
Baseline Correction: System  
Response: Fast  
Path Length: 10.0 mm

Processing Performed  
Savitsky-Golay Smoothed  
Smoothing Order: 3  
Number of Points: 20  
Number of Times: 1

Peak Integration Method: Rectangular

Report Date: 11:25:26, 10/12/2004

Standard Calibration

Std No. / Name	Abs(559.0)	Conc()	diff	RD	t
1	0.142	0.6	0.0	5.0508	1.1860
2	0.207	0.7	-0.0	-6.8585	-1.6104
3	0.344	0.8	0.0	0.0000	0.0000
4	0.451	0.9	0.0	0.0000	0.0000
5	0.569	1.0	0.0	0.0000	0.0000

Calibration type: 1st order

Force curve through zero: No

Start (): 0.6

End (): 1.0

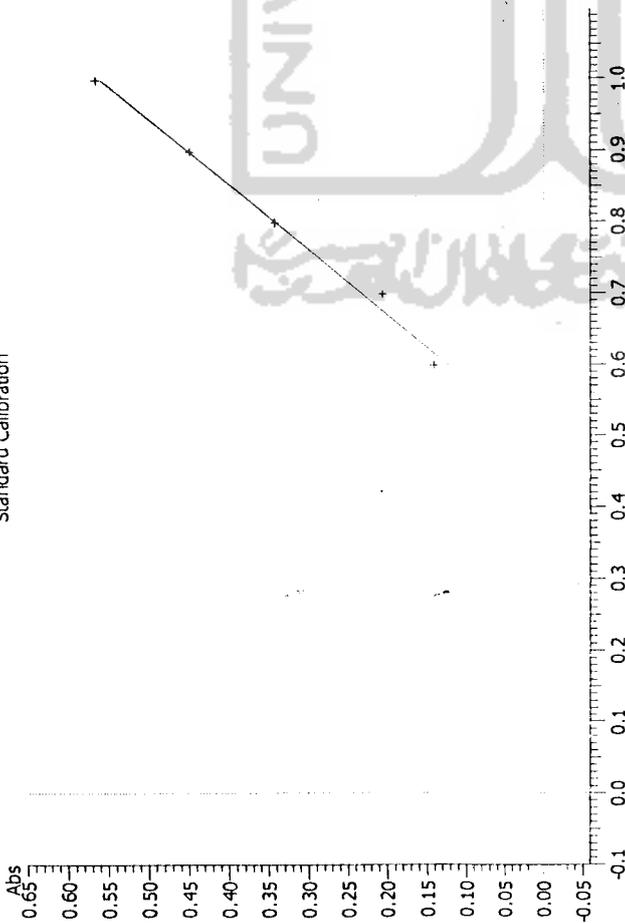
A0: -0.5358

A1: 1.0990

R: 0.9956

R2: 0.9911

Samp No. / Name: Abs(559.0) Conc() Avg Conc [SD][CV] (%)  
1: 0.004 0.5



Sample: ninhidrin 0.048  
Run Date: 11:22:46, 10/12/2004  
Operator: irman  
Comment: uji ketelitian

Instrument: U-2010 Spectrophotometer  
Model: 0000-000  
Serial Number: 2550 01  
ROM Version:

Instrument Parameters  
Measurement Type: Photometry  
Data Mode: Abs  
Number of Wavelengths: 1  
Wavelength 1: 559.0 nm  
Slit Width: 2 nm  
Lamp Change: 340.0 nm  
Baseline Correction: System  
Path Length: 10.0 mm