

Teknik analisis gamma-oryzanol dalam beras perang (tidak digilap) dan beras putih (digilap)

[Method for analysis gamma-oryzanol from brown rice (unpolished) and white rice (polished)]

Mohd Lip Jabit, Mohd Nazrul Hisham Daud, Jeeven Karruppan dan Hanisa Hosni

Pengenalan

Nasi adalah makanan ruji rakyat Malaysia dan merupakan bijirin penting di Asia terutamanya di Asia Tenggara. Lebih daripada separuh populasi dunia menjadikan nasi sebagai makanan ruji. Umum mengetahui, nasi daripada beras yang dimasak diperoleh daripada pokok padi atau secara saintifiknya dikenali sebagai *Oryza sativa*. Sehingga kini, sebanyak 50 varieti padi telah dihasilkan oleh MARDI sejak tahun 1964 untuk ditanam oleh pesawah di Malaysia dan sebahagian besarnya adalah beras putih biasa. Pada masa kini, pengguna semakin beralih kepada nasi yang mempunyai nilai kesihatan sebagai sumber karbohidrat mereka. Pengguna boleh mendapatkan beras berwarna (merah, hitam dan ungu), beras rebus, beras cambah atau beras perang. Beras perang adalah beras yang tidak dibuang lapisan dedaknya (*bran*) selepas kulit padi dikupas (*dehusk*) dan tidak melalui proses penggilapan (*unpolished*). Beras putih di pasaran pula adalah beras yang telah dibuang lapisan dedaknya melalui proses penggilapan (*polished*). Terdapat pelbagai jenama beras putih di pasaran seperti Beras Faiza Emas, Beras Jati dan Beras Saga (*Gambar 1*).

Bagi beras perang, terdapat juga pelbagai jenama yang dijual di pasaran seperti Fiona Brown Rice, EcoBrown's dan Jasmine SunBrown (*Gambar 2*).



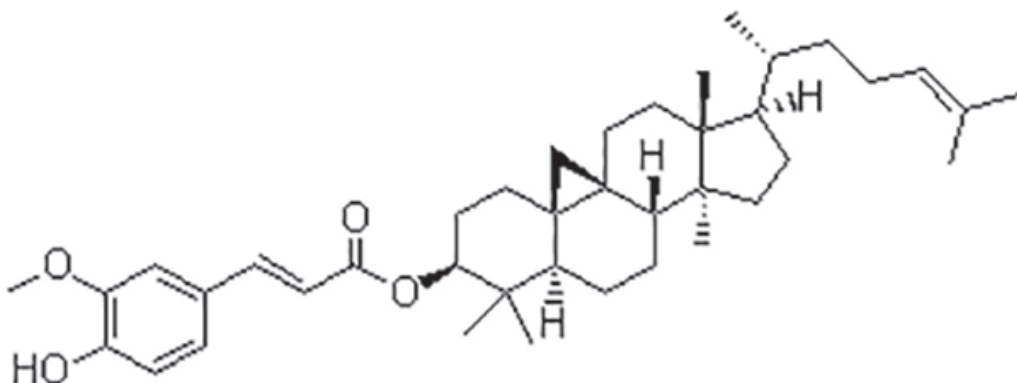
Gambar 1. Antara jenama beras putih di pasaran Malaysia



Gambar 2. Antara jenama beras perang di pasaran Malaysia

Sebatian kimia gamma-oryzanol (γ -oryzanol)

Secara amnya, beras adalah merupakan sumber karbohidrat yang memberi tenaga kepada tubuh badan. Walau bagaimanapun, beras juga mengandungi unsur-unsur lain yang memberi fungsi penting kepada tubuh badan. Antaranya ialah gamma-oryzanol (γ -oryzanol) yang mempunyai kefungsiian untuk tubuh badan sebagai antioksidan. Struktur kimia γ -oryzanol adalah seperti dalam Gambar 3. Sejak tahun 1970, γ -oryzanol telah dipatenkan di Jepun sebagai bahan penting dalam kosmetik. Bahan ini dilaporkan mempunyai kemampuan menghalang kesan cahaya UV menyebabkan ia dijadikan salah satu bahan dalam losyen kulit kalis UV. Bahan γ -oryzanol ini dan ester semula jadinya juga telah dipatenkan sebagai peransang pertumbuhan rambut dan bersifat antipenuaan terhadap lapisan kulit manusia. Kajian juga menunjukkan γ -oryzanol dapat mengurangkan penyerapan kolesterol dalam badan yang berbentuk asid hempedu dan sterol.



Gambar 3. Struktur kimia γ -oryzanol

Analisis sebatian kimia γ -oryzanol

Analisis γ -oryzanol terbahagi kepada beberapa bahagian iaitu pengekstrakan, penyediaan sampel, penyediaan larutan standard dan instrumentasi.

Pengekstrakan

Sampel beras daripada varieti padi MRQ 74, MRQ 76 dan MRQ 103 dikisar halus sehingga 0.5 mm saiz partikel untuk meningkatkan kecekapan pengekstrakan γ -oryzanol. Sebanyak 1 g sampel beras diekstrak menggunakan 70% pelarut organik etanol dengan kaedah rendaman selama atau 24 jam pada suhu 30 °C bagi tujuan perbandingan. Setelah proses rendaman tamat, sampel ditapis menggunakan kertas turas Whatman no. 1. Sampel yang telah ditapis sudah sedia untuk dianalisis.

Penyediaan sampel analisis

Ekstrak sampel beras perlu ditapis lebih lanjut untuk mengelakkan alat penentuan sebatian kimia iaitu *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) tersumbat. Ekstrak ditapis menggunakan tapisan picagari nilon 0.45 μ m (Phenex, Phenomenex). Hasil tapisan dimasukkan ke dalam vial atau botol sampel.

Penyediaan standard piawai γ -oryzanol

Standard disediakan dengan menyediakan larutan stok piawai γ -oryzanol berkepekatan 100 ppm terlebih dahulu dengan menimbang 5 mg γ -oryzanol ke dalam 50 mL kelalang isi padu. Standard piawai dilarutkan dengan pelarut campuran metanol:isopropanol:etil asetat (47.5:40:12.5) dan pelarut ditambah sehingga ke aras 50 mL kelalang isi padu. Larutan stok piawai (100 ppm) ini dicairkan menjadi beberapa larutan piawai (*working solution*) yang akan digunakan untuk kalibrasi alat HPLC. Larutan piawai ini mempunyai kepekatan berbeza seperti 15 ppm, 7.5 ppm, 1.55 ppm dan 0.155 ppm.

Instrumentasi

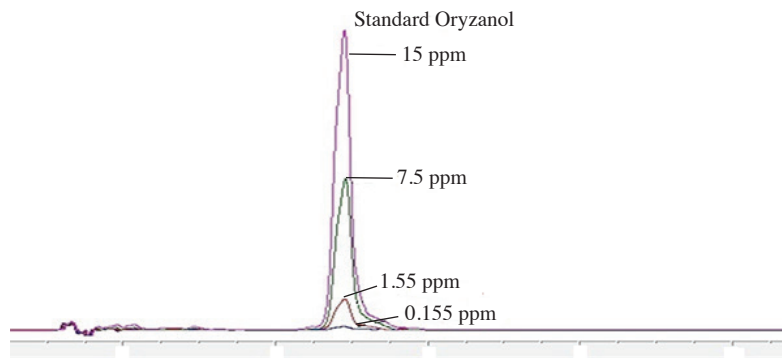
Sebelum analisis penentuan γ -oryzanol dilaksanakan menggunakan alat HPLC, kalibrasi perlu dijalankan menggunakan larutan standard pada kepekatan yang berbeza, iaitu daripada kepekatan rendah ke kepekatan tinggi. Alat HPLC (Agilent 1200) dilengkapi dengan pam kuaternari untuk mengalirkan pelarut fasa gerak ke dalam turus pemisah daripada jenis Phenomenex Kinetek C18. Turus ini berukuran 250 mm x 4.6 mm yang mempunyai bahan partikel bersaiz 5 mikron. Turus pemisah ini berfungsi memisahkan molekul γ -oryzanol di dalam ekstrak sampel dan pengesanan molekul γ -oryzanol menggunakan pengesanan Diod Array (DAD) pada gelombang 330 nm. Berikut adalah parameter peralatan HPLC yang digunakan untuk analisis ini:

Turus pemisah : Phenomenex Kinetek C18, 250 mm x 4.6 mm, 5 μ m
 Isi padu suntikan : 20 μ L
 Fasa gerak : Campuran pelarut (sistem isokratik)
 Metanol : Isopropanol:Etil Asetat (47.5:40:12.5)
 Kadar alir : 0.7 mL/min
 Gelombang pengesanan : DAD 330 nm
 Suhu : 30 $^{\circ}$ C

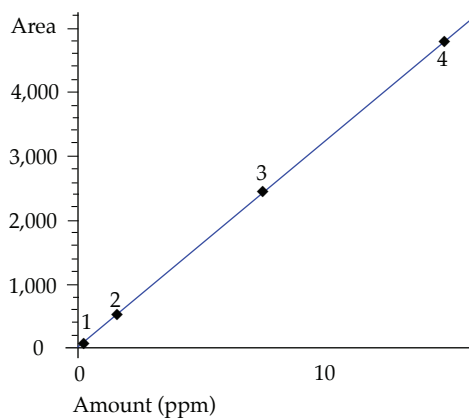
Lengkuk kalibrasi

Larutan standard yang telah disediakan pada kepekatan berbeza akan dianalisis menggunakan peralatan HPLC untuk melihat kesan kekuatan signal terhadap peningkatan jumlah kepekatan larutan piawai. Sebagaimana contoh yang ditunjukkan pada *Rajah 1*, kekuatan signal meningkat dengan peningkatan kepekatan larutan piawai yang digunakan.

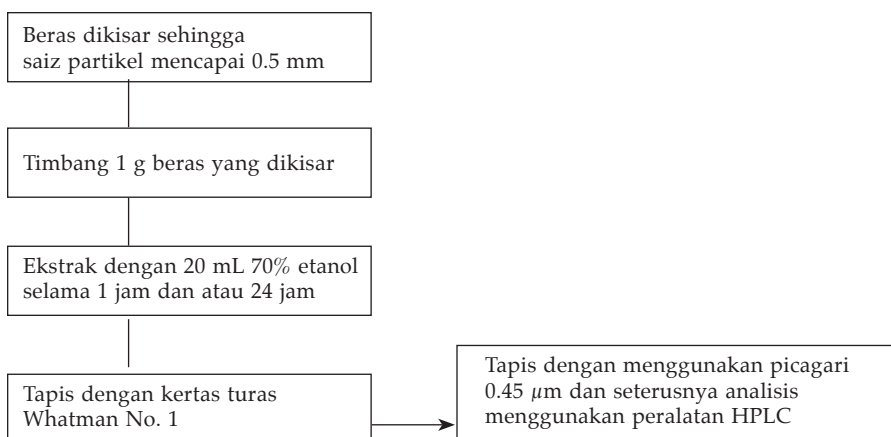
Jumlah luas permukaan dihasilkan oleh signal pada setiap kepekatan akan diplotkan terhadap kepekatan yang digunakan dalam larutan piawai membentuk lengkung kalibrasi yang akan digunakan untuk mengira jumlah kepekatan γ -oryzanol dalam ekstrak sampel yang dikaji (*Rajah 2*).



Rajah 1. Kromatogram standard γ -oryzanol menunjukkan peningkatan signal terhadap peningkatan kepekatan larutan standard



Rajah 2. Lengkuk kalibrasi pengesanan γ -oryzanol pada gelombang 330 nm



Carta alir 1. Proses analisis γ -oryzanol dalam sampel beras perang dan beras putih varieti padi MRQ 74, MRQ 76 dan MRQ 103 dengan tempoh pengekstrakan selama 1 jam dan 24 jam

Analisis kandungan γ -oryzanol dalam beras putih (digilap) dan beras perang (tidak digilap)

Analisis kandungan γ -oryzanol telah dijalankan ke atas beras putih dan beras perang daripada tiga varieti padi MARDI iaitu MRQ 74, MRQ 76 dan MRQ 103. Keputusan analisis mendapati kandungan γ -oryzanol adalah rendah dalam semua beras putih (digilap) berbanding dengan beras perang. Dalam *Jadual 1*, menunjukkan antara ketiga-tiga varieti MRQ 74 mempunyai aras γ -oryzanol yang paling tinggi iaitu 103.2 $\mu\text{g/g}$ diikuti oleh MRQ 76 dan MRQ 103 iaitu masing-masing pada 77.5 dan 64.2 $\mu\text{g/g}$. Data analisis mencadangkan pengambilan beras daripada varieti padi MRQ 74 dalam pemakanan dapat memperoleh khasiat γ -oryzanol yang lebih tinggi berbanding dengan varieti MRQ 76 dan MRQ 103.

Pemanjangan tempoh pengekstrakkan selama 24 jam menunjukkan kadar pengekstrakan yang lebih tinggi berbanding dengan pengekstrak selama 1 jam dalam semua varieti yang tak digilap. Peningkatan peratus pengekstrakan γ -oryzanol antara 14 – 35% dalam sampel beras tidak digilap. Melalui eksperimen

Jadual 1. Kandungan γ -oryzanol dalam varieti MRQ 74, MRQ 76 dan MRQ 103 yang tidak digilap pada tempoh pengekstrakan selama 1 jam dan 24 jam

Varieti padi	Rawatan	Purata kepekatan γ -oryzanol ($\mu\text{g/g}$)	$\pm\text{SD}$
MRQ 74	Tidak digilap dan diekstrak 24 jam	103.2	1.8
MRQ 76	Tidak digilap dan diekstrak 24 jam	77.5	1.5
MRQ 103	Tidak digilap dan diekstrak 24 jam	64.2	2.6
MRQ 74	Tidak digilap dan diekstrak 1 jam	67.2	2.0
MRQ 76	Tidak digilap dan diekstrak 1 jam	59.7	0.8
MRQ 103	Tidak digilap dan diekstrak 1 jam	55.2	2.2

ini mencadangkan pengekstrakan selama 24 jam memberi pengekstrakan γ -oryzanol yang lebih berkesan.

Dalam *Jadual 2*, pengekstrakan kandungan γ -oryzanol dalam sampel beras yang digilap selama satu jam dan 24 jam tidak menunjukkan perbezaan yang signifikan dalam F-test yang telah dijalankan. Ini bermakna tiada perbezaan yang nyata sekiranya sampel beras yang digilap diekstrak selama satu jam ataupun 24 jam. Oleh itu, pengekstrakan selama sejam sudah memadai untuk mengekstrak kesemua γ -oryzanol dalam sampel beras yang digilap. Pemanjangan tempoh pengekstrakan selama 24 jam akan membazirkan masa dan tenaga.

Jumlah kandungan γ -oryzanol di dalam varieti MRQ 74 adalah yang tertinggi iaitu 14.8 $\mu\text{g/g}$ diikuti oleh varieti MRQ 103 dan MRQ 76, masing-masing pada aras 12,7 dan 11.8 $\mu\text{g/g}$.

Jadual 2. Kandungan γ -oryzanol dalam varieti MRQ 74, MRQ 76 dan MRQ 103 yang digilap pada tempoh pengekstrakan selama 1 jam dan 24 jam

Varieti padi	Rawatan	Purata γ -oryzanol ($\mu\text{g/g}$)	$\pm\text{SD}$
MRQ 74	Digilap and diekstrak 24 jam	14.8	0.1
MRQ 76	Digilap and diekstrak 24 jam	11.8	0.4
MRQ 103	Digilap and diekstrak 24 jam	12.7	0.8
MRQ 74	Digilap dan diekstrak 1 jam	13.8	0.2
MRQ 76	Digilap dan diekstrak 1 jam	10.1	0.5
MRQ 103	Digilap dan diekstrak 1 jam	13.7	1.0

Kesimpulan

Kajian ini membuktikan kewujudan γ -oryzanol dalam beras berbeza bagi setiap varieti padi. Hasil kajian menunjukkan kandungan γ -oryzanol adalah lebih tinggi dalam beras perang. Penggilapan beras (beras putih) menunjukkan kehilangan γ -oryzanol yang tinggi iaitu 80.2 – 85.7% kehilangan. Kajian ini turut mencadangkan proses pengekstrakan selama 24 jam dijalankan bagi mendapatkan γ -oryzanol yang lebih tinggi. berbanding pengekstrakan selama 1 jam. Antara ketiga-tiga varieti padi yang diuji, MRQ 74 menunjukkan kandungan γ -oryzanol paling tinggi, diikuti MRQ 76 dan MRQ 103.

Bibliografi

- Azrina, A., Maznah, I. dan Azizah, A.H. (2008). Extraction and Determination of Oryzanol in Rice Bran of Mixed Herbarium UKMB; AZ 6807: MR 185, AZ 6808: MR 211, AZ6809: MR 29, *Food Journal* 15 (1): 89 – 96
- Duangkamol, R., Chitti, T. dan Supakit C., March 4 – 5, 2014. 1st Joint ACS AGFD- *American Chemical Society (ACS)*, International Chemical Sciences Chapter in *Thailand*, Symposium Thailand
- Hu, W., Wells, J.H., Shin, T-S. dan Godbe, J.S. (1996). Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanol from stabilized rice bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73: 1653 – 1656
- Lichtenstein, A.H., Ausman, L.M., Carrasco, W. (1994). Rice bran oil consumption and plasma lipid levels in moderately hypercholesterolemic humans. *Arterioscle. and Thromb.* 14: 554 – 556
- Lloyd, B.J., Siebenmorgen, T.J dan Beers, K.W. (2000). Effect of commercial processing on antioxidants in rice bran. *Cereal Chemistry* 77(5): 551 – 555
- Noboru, K. dan Yusho, T. (1970). Oryzanol containing cosmetics. *Japanese Patent* 70: 32078
- Shugo, M. (1979). Anti-dandruff and anti-itching shampoo. *Japanese Patent* 79: 36306

Ringkasan

Kajian kandungan γ -oryzanol dalam beras daripada varieti padi MRQ 74, MRQ 76 dan MRQ 103 adalah untuk menentukan kewujudan bahan antioksidan ini dalam varieti padi MARDI. Di samping itu, kajian ini dapat membuktikan kesan proses penggilapan terhadap kandungan γ -oryzanol dalam beras putih. Lebih 80% γ -oryzanol telah susut hasil daripada proses tersebut. Maklumat ini secara tidak langsung mencadangkan pengambilan beras yang tidak digilap atau beras perang bagi mendapatkan khasiat γ -oryzanol yang lebih tinggi. Kajian teknik pengekstrakan mendapati pengekstrakan selama 24 jam menghasilkan γ -oryzanol lebih tinggi berbanding dengan pengekstrakan selama satu jam. Keputusan ini mencadangkan tempoh pengekstrakan perlu dioptimumkan untuk pengekstrakan γ -oryzanol yang lebih cekap.

Summary

The study of γ -oryzanol content in rice from rice varieties MRQ 74, MRQ 76 and MRQ 103 was to determine the presence of this anti-oxidant substance in MARDI rice varieties. In addition, this study can prove the effect of polishing process on the content of γ -oryzanol in white rice. More than 80 percent of γ -oryzanol has been depleted as a result of the process. This information indirectly suggests the intake of unpolished rice or brown rice to obtain higher γ -oryzanol nutrients. Studies of extraction techniques found that extraction for 24 hours produced higher γ -oryzanol than extraction for one hour. These results suggest that the extraction period should be optimised for more efficient γ -oryzanol extraction.

Pengarang

Mohd Lip Jabit

Pusat Pengkomesialan Teknologi dan Bisnes, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

E-mel: alip@mardi.gov.my

Mohd Nazrul Hisham Daud (Dr.)

Pusat Pengkomesialan Teknologi dan Bisnes, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Jeeven Karruppan

Pusat Penyelidikan Padi dan Beras, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Hanisa Hosni

Pusat Penyelidikan Padi dan Beras, Ibu Pejabat MARDI

Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor.