

Periode : Ganjil
Tahun : 2023-2024
Skema Penelitian : Mandiri
Tema RIP Penelitian : Pengembangan Fitofarmaka Berbasis Sumber Daya Lokal

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN DASAR**

**Penetapan Kadar Gamma Oryzanol dari Ekstrak Etanol Bekatul Beras
(Oryza sativa) di Indonesia**



TIM PENGUSUL:

Ketua Tim : Afifah Kusuma Vardhani NIDN 0304038804

Mahasiswa Eksternal : Hidayah Sunar Perdanastuti NIM
05187469FA07411

**Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi
Universitas Esa Unggul
Tahun 2024**

Lembar Pengesahan Laporan Akhir
Program Penelitian
Universitas Esa Unggul

1. Judul Kegiatan Penelitian : PENETAPAN KADAR GAMMA ORYZANOL DARI EKSTRAK ETANOL BEKATUL BERAS (ORYZA SATIVA) DI INDONESIA
2. Nama Mitra Sasaran :
3. Ketua Tim
 - a. Nama Lengkap : dr. AFIFAH KUSUMA VARDHANI, S.Ked, M.Si., M.Pd.Ked.
 - b. NIDN : 0304038804
 - c. Jabatan Fungsional : Tenaga Pengajar
 - d. Fakultas/ Program Studi : Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan/ Fikes/Program Studi Farmasi
 - e. Bidang Keahlian :
 - f. Nomor Telepon/ HP : 085229280880
 - g. Email : afifah.kusuma@esaunggul.ac.id
4. Jumlah Anggota Dosen :-
5. Jumlah Anggota Mahasiswa :-
6. Lokasi Kegiatan Mitra
 - Alamat
 - Kabupaten/ Kota
 - Provinsi
7. Periode/ Waktu Kegiatan : 1 Januari 2024 s/d 1 Februari 2024
8. Luaran yang Dihasilkan : Jurnal Nasional terakreditasi Sinta 2
9. Usulan/ Realisasi Anggaran
 - a. Dana Mandiri :
 - b. Sumber Dana Lain (1) :

Jakarta, 14 Mei 2024
Ketua Peneliti,



(dr. AFIFAH KUSUMA VARDHANI, S.Ked,
M.Si., M.Pd.Ked.)
NIDN/K. 0304038804

Menyetujui,
Dekan Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan



(Prof. Dr. APRILITA RINA YANTI EFF,
M.Biomed, Apt)
NIP/NIK. 215020572

Mengetahui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian
Masyarakat Universitas Esa Unggul

(LARAS SITOAYU, S.Gz, M.K.M)
NIK. 215080596

IDENTITAS DAN URAIAN UMUM

1. Judul Penelitian : Penetapan Kadar Gamma Oryzanol dari Ekstrak Etanol Bekatul Beras (*Oryza sativa*) di Indonesia

2. Tim Peneliti

No	Nama	Jabatan	Bidang Keahlian	Instansi Asal	Alokasi Waktu (jam/minggu)
1	Afifah Kusuma Vardhani	Ketua	Ilmu Herbal	Universitas Esa Unggul	20 jam/minggu
2	Hidayah Sunar Perdanastuti	Anggota 1 (Mahasiswa Eksternal)	Farmakologi	Universiti Sains Malaysia	18 jam/minggu

3. Objek Penelitian (jenis material yang akan diteliti dan segi penelitian):

Objek pada penelitian ini adalah kadar atau kandungan zat fitokimia *Gamma Oryzanol* yang diperoleh dari Ekstrak Etanol Bekatul Beras Indonesia.

4. Masa Pelaksanaan

Mulai : bulan: Januari tahun: 2024

Berakhir : bulan: Februari tahun: 2024

5. Usulan Biaya: Tahun ke-1 : Rp 2.000.000, 00

6. Lokasi Penelitian (lab/studio/lapangan): Fakultas Farmasi Universitas Indonesia

7. Instansi lain yang terlibat (jika ada, dan uraikan apa kontribusinya)

Tidak ada

8. Temuan yang ditargetkan (produk atau masukan untuk kebijakan)

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengidentifikasi kadar gamma oryzanol pada ekstrak bekatul beras di Indonesia. Gamma oryzanol merupakan zat fitokimia yang telah banyak diteliti memiliki manfaat bagi kesehatan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan menjadi suatu produk berbahan dasar bekatul sebagai produk obat dan kosmetik berbahan alam serta nutrasetika.

9. Kontribusi mendasar pada suatu bidang ilmu

Penelitian ini didasari atas meningkatnya minat dan pemanfaatan bahan alam sebagai bahan aktif dari suatu sediaan obat atau kosmetik serta pangan fungsional. Hasil penelitian ini mampu menentukan kadar gamma oryzanol yang terdapat pada ekstrak bekatul beras di Indonesia untuk dilakukan pengembangan berupa produk sediaan obat atau kosmetik berbahan alami.

1. Jurnal ilmiah yang menjadi sasaran Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology tahun 2024

Indeks: Sinta 2 dan Index Copernicus International

Tahun : Vol. 11 Issue: 1 tahun 2024

Link: <https://journal.unpad.ac.id/ijpst/article/view/46297>

2. Luaran HKI : Hak Cipta

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan Laporan Akhir.....	ii
IDENTITAS DAN URAIAN UMUM.....	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TIM PELAKSANA DAN TUGAS.....	v
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
BAB II.....	3
RENSTRA DAN PETA JALAN PENELITIAN PERGURUAN TINGGI.....	3
BAB III.....	4
TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI.....	4
BAB IV.....	6
METODE PENELITIAN.....	6
A. Deskripsi Data.....	6
B. Uji Prasyarat Data.....	6
C. Pengujian Hipotesis.....	6
BAB V.....	7
HASIL.....	7
BAB VI.....	9
PEMBAHASAN.....	9
A. Pembahasan Hasil Penelitian.....	9
B. Keterbatasan Penelitian.....	9
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....	10
A. KESIMPULAN.....	10
B. SARAN.....	10
BAB VIII.....	11
BIAYA DAN JADWAL PENELITIAN.....	11

Lampiran

DAFTAR TIM PELAKSANA DAN TUGAS

1. Ketua Pelaksana

Nama : dr. Afifah Kusuma Vardhani, M.Si, M.Pd.Ked
NIDN : 0304038804
Jabatan Fungsional : Tenaga Pengajar
Fakultas/ Prodi : Ilmu-ilmu Kesehatan/ Farmasi
Tugas : Bertanggung jawab terhadap pembuatan proposal, pelaksanaan riset, mengolah data dan menyusun laporan akhir, membuat pertanggung-jawaban keuangan, menyusun publikasi

2. Anggota 1

Nama : Hidayah Sunar Perdanastuti
NIM : Mahasiswa Eksternal
Jabatan Fungsional :
Fakultas/ Prodi : Universiti Sains Malaysia
Tugas : Membantu pelaksanaan riset serta menyusun publikasi

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Bekatul merupakan produk sampingan yang dihasilkan dari proses penggilingan padi. Beras memiliki komponen fitokimia yang dapat dimanfaatkan, salah satunya yaitu gamma oryzanol (Jun et al., 2012). Kandungan gamma oryzanol pada beras putih yaitu berkisar antara 263 hingga 543 $\mu\text{g/g}$, sedangkan pada beras merah dan hitam, yaitu sebesar 422 hingga 484 $\mu\text{g/g}$ dan 486 hingga 616 $\mu\text{g/g}$ (Kim et al, 2015). Bekatul, lapisan terluar dari beras memiliki kandungan gamma oryzanol yang lebih tinggi dibanding kandungan gamma oryzanol pada beras. Kadar gamma oryzanol pada bekatul beras putih dan merah yaitu 1,55 hingga 3,13 mg/g dan 3,59 hingga 3,69 mg/g. Sedangkan pada bekatul beras hitam memiliki kandungan gamma oryzanol yang lebih tinggi, yaitu sebesar 3,95 hingga 7,72 mg. Studi yang dilakukan Miyazawa et al. (2003) mengemukakan bahwa bekatul beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) memiliki aktivitas penghambatan tirosinase sebesar 80,5% pada konsentrasi 0,4 mg/mL. Dewasa ini, bekatul telah populer dengan adanya potensi komposisi aktif alami yang dimilikinya. Gamma oryzanol memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, yang ditunjukkan oleh aktivitas penangkal radikal bebas.

2. Permasalahan

Dewasa ini terjadi peningkatan minat dan pemanfaatan bahan alam sebagai bahan aktif dari suatu sediaan obat atau kosmetik serta pangan fungsional. Hasil penelitian ini mampu menentukan kadar gamma oryzanol yang terdapat pada ekstrak bekatul beras di Indonesia untuk dilakukan pengembangan berupa produk sediaan obat atau kosmetik berbahan alami.

3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar gamma oryzanol dari ekstrak etanol bekatul beras yang tumbuh di Indonesia.

4. Manfaat Penelitian

a. Manfaat teoritis

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan kadar gamma oryzanol pada bekatul beras di Indonesia

b. Manfaat praktis

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini dapat dikembangkan menjadi suatu produk berbahan dasar bekatul sebagai produk obat dan kosmetik berbahan alam serta nutrasetika.

5. Hasil yang Diharapkan

Hasil penelitian ini mampu menentukan kadar gamma oryzanol pada bekatul beras di Indonesia untuk dikembangkan menjadi suatu produk berbahan dasar bekatul sebagai produk obat dan kosmetik berbahan alam serta nutrasetika.

No	Jenis Luaran				Indikator Capaian		
	Kategori	Sub Kategori	Wajib	Tambahan	TS ¹⁾	TS+1	TS+2
1	Artikel ilmiah di dimuat di jurnal ²⁾	Internasional					
		Nasional terakreditasi	√		√		
		Nasional tidak terakreditasi					
2	Artikel ilmiah di dimuat di prosiding ³⁾	Internasional					
		Nasional					
3	<i>Invited speaker</i> dalam temu ilmiah ⁴⁾	Internasional		√ (oral presentation)		√	
		Nasional					
4	Hak Kekayaan Intelektual (HKI) ⁶⁾	Paten					
		Paten sederhana					
		Hak cipta		√ (draft)		√	
		Merek dagang					
		Rahasia dagang					
		Desain produk industry					
		Indikasi geografis					
		Perlindungan varietas tanaman					
Perlindungan topografi sirkuit terpadu							
5	Tehnologi tepat guna ⁷⁾						
6	Model/Purwarupa/Desain/ Karya seni/ Rekayasa sosial ⁸⁾						
7	Buku ajar (ISBN)						
8	Tingkat kesiapan teknologi (TKT) ¹⁰⁾				1-2	3	

BAB II

RENSTRA DAN PETA JALAN PENELITIAN PERGURUAN TINGGI

Tema sentral: Industri, inovasi dan infrastruktur serta Konsumsi dan produksi yang bertanggungjawab (industry, innovation and infrastructure and responsible consumption and production). Multidisiplin dan Lintas Sektoral: pengembangan obat herbal menjadi obat alternatif yang rasional untuk infeksi (bakteri, virus, atau jamur), kanker, dan penyakit sindroma metabolic; serta peningkatan kualitas hidup melalui kajian di bidang kesehatan masyarakat, epidemiologi, ekonomi, pengembangan model-model intervensi, dan outcome research lainnya.

Roadmap penelitian Program Studi bidang Kesehatan: Pengembangan Fitofarmaka Berbasis Sumber Daya Lokal. Material Maju untuk Kesehatan: Eksplorasi pengembangan obat dan nutraceutical dari bahan alam dan produk pangan hasil rekayasa genetik berbagai upaya dan penerapan pengobatan.



BAB III

TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI

1. Tinjauan Pustaka

Taksonomi dari beras (*Oryza sativa*) adalah sebagai berikut

Dunia: Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Monocotyledoneae

Bangsa : Poales (Glumiflorae)

Suku : Poaceae (Graminea)

Marga : *Oryza*

Jenis : *Oryza sativa*

Beras memiliki komponen fitokimia yang dapat dimanfaatkan, salah satunya yaitu gamma oryzanol (Jun et al., 2012). Bekatul adalah bagian kulit dari beras yang masih belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Bekatul mengandung serat dan mineral, lemak, protein, gamma oryzanol, serta beberapa senyawa bioaktif seperti vitamin E quercetin, dan antosianin, yang umumnya ditemukan pada bekatul beras berpigmen. Gamma oryzanol adalah senyawa kimia, sebagian besar terdiri dari campesteryl ferulate, campestanil ferulat, stigmastanil ferulat, dan steril ferulat. Gamma oryzanol mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat, dibuktikan dengan adanya aktivitas pemulungan radikal bebas. Potensi lainnya yaitu berbagai sifat terapeutik yang ditunjukkan oleh gamma oryzanol termasuk anti-karsinogenik, anti-inflamasi, antidiabetes, anti-penuaan, efek neuroprotektif dan hepatoprotektif, sebagian besar dapat dikaitkan dengan potensinya serta kapasitas antioksidan. Dalam studi praklinis, gamma-oryzanol menunjukkan hasil yang signifikan terhadap penurunan kadar trigliserida, perlindungan terhadap kerusakan ginjal, dan kelainan struktural dan fungsional pada jantung. Dengan mempertimbangkan aktivitas biologisnya yang luas, penelitian ini bermanfaat untuk menentukan gamma kandungan oryzanol dalam bekatul beras di Indonesia.

2. Tinjauan Teori

Penelitian yang dilakukan di Jepang terhadap gamma oryzanol pada beras berpigmen yang diekstraksi dengan kombinasi heksana : etanol (4:3, v/v) menghasilkan 43,3 - 54,2 mg/100g berat kering. Kandungan gamma oryzanol pada beras putih yaitu berkisar antara 263 hingga 543 $\mu\text{g/g}$, sedangkan pada beras merah dan hitam, yaitu sebesar 422 hingga 484 $\mu\text{g/g}$ dan 486 hingga 616 $\mu\text{g/g}$ (Kim et al, 2015). Bekatul, lapisan terluar dari beras memiliki kandungan gamma oryzanol yang lebih tinggi dibanding kandungan gamma oryzanol pada beras. Kadar gamma oryzanol pada bekatul beras putih dan merah yaitu 1,55 hingga 3,13 mg/g dan 3,59 hingga 3,69 mg/g. Sedangkan pada bekatul beras hitam memiliki kandungan gamma oryzanol yang lebih tinggi, yaitu sebesar 3,95 hingga 7,72 mg. Studi yang dilakukan Miyazawa et al. (2003) mengemukakan bahwa bekatul beras hitam (*Oryza sativa* L. indica) memiliki aktivitas penghambatan tirosinase sebesar 80,5% pada konsentrasi 0,4 mg/mL. Ekstrak etanol bekatul beras hitam Indonesia (*Oryza sativa* L. indica) mengandung 118,572 mg/g gamma oryzanol.

BAB IV

METODE PENELITIAN

1. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan analisis kuantitatif.

2. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di bulan Mei tahun 2022 hingga Februari 2024 di Fakultas Farmasi Universitas Indonesia

3. Sampel (Alat dan Bahan)

Sampel bekatul padi diperoleh dari CV Vigur Organik, Malang, Jawa Timur. Gamma-oryzanol standar dibeli dari Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, Missouri, Amerika Serikat. Pelarut tingkat kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT/HPLC) (metanol, asetonitril, dan isopropanol) diperoleh dari Merck KGaA, Darmstadt, Jerman.

4. Metode

Bekatul diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan cara maserasi 1:4 (w:v) selama 3 hari. Setelah ekstraksi, ekstrak diuapkan dengan penangas air 80 derajat selama 6 jam hingga diperoleh campuran berlendir. Selanjutnya dilakukan pengukuran kuantitatif kadar gamma oryzanol menggunakan HPLC

5. Teknik Analisis Data Kuantitatif

20 μ L standar dan sampel disuntikkan ke dalam sistem HPLC (Shimadzu Corp., Kyoto, Jepang), dilengkapi dengan Inertsil ODS-3 5 μ m dalam kolom HPLC 250x4.6 mm (GL Sciences, California, Amerika Serikat). Campuran metanol:asetonitril:isopropanol (50%:40%:10%) digunakan sebagai fase gerak dalam kondisi isokratik. Panjang gelombang detektor ultraviolet (UV) diatur ke 327 nm dan laju aliran diatur ke 1 mL/menit.

6. Hipotesis

Sampel ekstrak etanolik bekatul beras (*Oryza sativa*) menunjukkan empat puncak utama yang sesuai dengan standar gamma oryzanol sehingga kadar gamma oryzanol dapat ditentukan.

BAB V

HASIL PENELITIAN

A. Deskripsi Data

1. Gambaran Umum Tentang Sampel Penelitian

Bekatul diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan cara maserasi 1:4 (w:v) selama 3 hari. Setelah ekstraksi, ekstrak diuapkan dengan penangas air 80 derajat selama 6 jam hingga diperoleh campuran berlendir. Selanjutnya dilakukan pengukuran kuantitatif kadar gamma oryzanol menggunakan HPLC. Analisis kuantitatif dilakukan menggunakan analisis HPLC dengan campuran metanol: asetonitril: isopropanol (50%:40%:10%) sebagai fase gerak dan Inertsil ODS-3 5 μm sebagai fase diam. Panjang gelombang detektor UV diatur pada 327 nm, dengan laju aliran 1 mL/min². Standar gamma oryzanol dan ekstrak etanol 96% bekatul beras diinjeksikan ke dalam sistem HPLC.

2. Data Hasil Pengukuran

a. Hasil Pengukuran

Sampel ekstrak etanolik bekatul beras (*Oryza sativa*) menunjukkan empat puncak utama yang sesuai dengan standar gamma oryzanol serta mengandung 105.981 ppm gamma oryzanol.

B. Hasil Pengukuran Uji Prasyarat Data

Pembuatan kurva kalibrasi standar gamma oryzanol. Hasil sampel menunjukkan empat puncak utama yang sesuai dengan standar gamma oryzanol.

C. Pengujian Hipotesis

Sampel ekstrak etanolik bekatul beras (*Oryza sativa*) mengandung 105.981 ppm gamma oryzanol.

BAB VI

PEMBAHASAN

A. Pembahasan Hasil Penelitian

a. Interpretasi Karakteristik Sampel

Luas ekstrak bekatul 600 ppm pada kromatogramnya adalah 1.433.116. Berdasarkan luas kurva kalibrasi, ekstrak bekatul yang diteliti mengandung 105,981 mg/g gamma oryzanol. Ekstrak bekatul dari India, mengandung $62,010 \pm 0,12$ ppm gamma oryzanol, menggunakan n-heksana sebagai pelarut. Namun stabilitas gamma oryzanol yang diekstraksi menggunakan heksana lebih rendah dibandingkan yang diekstraksi menggunakan pelarut polar seperti isopropanol dan etanol, karena lebih tahan terhadap perubahan suhu. Hal ini disebabkan karena sifat heksana yang lebih mudah menguap dibandingkan dengan etanol, sehingga ekstrak heksana memiliki nilai asam yang lebih rendah, yang merupakan indikator kualitas minyaknya. Imsanguan dkk. (2008) melaporkan bahwa etanol adalah pelarut yang lebih baik untuk mengekstraksi gamma oryzanol dibandingkan heksana. Gamma oryzanol adalah sekelompok asam ferulic terdiri dari 10 senyawa: Δ 7-stigmastenyl ferulat, stigmasteril ferulat, sikloartenil ferulat, 24-metilen sikloartanil ferulat, Δ 7-campestenil ferulat, campesteril ferulat, Δ 7-sitostenil ferulat, sitosteril ferulate, campestanil ferulate, dan sitostanyl ferulate. Empat senyawa utama gamma oryzanol adalah 24-Methylene sikloartanil ferulat, sikloartenil ferulat, campesteril ferulat, dan β -sitosteril ferulat. Komponen gamma oryzanol dengan aktivitas antioksidan tertinggi adalah 24-metilen sikloartenil ferulat. Ekstrak etanol sampel bekatul pada penelitian ini menghasilkan kromatogram dengan empat puncak dalam pola yang mirip dengan itu larutan standar gamma oryzanol. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel mengandung gamma oryzanol. Kromatogram HPLC bekatul ekstrak menunjukkan identifikasi empat konstituen utama gamma oryzanol. Puncak-puncak teridentifikasi adalah: [1] sikloartenil ferulat (21,78%), [2]

24-metilen sikloartanil ferulat (46,06%), [3] campesteryl ferulate (21,52%), dan [4] sitosteril ferulat (10,62%).

b. Interpretasi Nilai

Gamma oryzanol yang diekstraksi dengan etanol sebagai pelarut pada penelitian ini menunjukkan hasil yang lebih tinggi, yaitu sebesar 105.981 ppm, dibandingkan dengan penelitian sebelumnya. Pelarut secara signifikan dapat mempengaruhi hasil ekstraksi gamma oryzanol dari bekatul. Semakin tinggi jumlah gamma oryzanol pada bekatul, secara hipotetis, semakin tinggi pula kekuatan aktivitas biologisnya.

B. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini masih sebatas pada penetapan kadar gamma oryzanol pada bekatul beras yang tumbuh di Indonesia. Perlu penelitian lebih lanjut secara praklinik dan klinik untuk menunjukkan manfaat kandungan gamma oryzanol pada bekatul sebagai bahan aktif dari produk obat atau kosmetik.

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Sebagai kesimpulan, ekstrak etanol bekatul beras (*Oryza sativa*) mengandung 10,59% gamma oryzanol.

B. SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut secara praklinik dan klinik untuk menunjukkan manfaat kandungan gamma oryzanol pada bekatul sebagai bahan aktif dari produk obat atau kosmetik

BAB VIII

BIAYA DAN JADWAL PENELITIAN

A. Anggaran Biaya

Konferensi Rp.200.000,00

Publikasi Rp.800.000,00

A. Jadwal Penelitian

No	Jenis Kegiatan	Bulan ke-											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	Determinasi tanaman	■			■	■	■	■	■	■			
2	Ekstraksi	■	■		■	■	■	■	■				
3	Pembuatan kurva kalibrasi			■	■	■	■	■	■				
4	Pengukuran kadar			■	■	■	■	■	■				
5	Penentuan Kadar			■	■	■	■	■	■				
6	Analisis data			■	■	■	■	■	■				
7	Pembuatan laporan			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
8	Konferensi								■	■	■	■	■
9	Publikasi								■	■	■	■	■

DAFTAR PUSTAKA

- Calpe, C. Rice International Commodity Profile. Food and Agriculture Organization of the United Nations Markets and Trade Division. 2016.
- Ito, V.C., Lacerda, L.G. Black rice (*Oryza sativa* L.): A review of its historical aspects, chemical composition, nutritional and functional properties, and applications and processing technologies. *Food Chemistry*. 2019;301.
- Jun, H.I., Shin, J.W., Song, G.S., Kim, YS. Isolation and Identification of Phenolic Antioxidants in Black Rice Bran. *Food Chemistry*. 2015;80(2).
- Shammugasamy, B., Ramakrishnan, Y., Manan, F. et al. Rapid Reversed- Phase Chromatographic Method for Determination of Eight Vitamin E Isomers and γ -Oryzanols in Rice Bran and Rice Bran Oil. *Food Anal. Methods*. 2015;8:649–55.
- Ghasemzadeh, A., Karbalaii, M.T., Jaafar, H.Z.E. et al. Phytochemical constituents, antioxidant activity, and antiproliferative properties of black, red, and brown rice bran. *Chemistry Central Journal*. 2018;12: 17.
- Tsuzuki, W., Komba, S. & Kotake-Nara, E. Diversity in γ -oryzanol profiles of Japanese black-purple rice varieties. *J Food Sci Technol*. 2019; 56: 2778–86.
- Ghatak, S.B., Panchal, S.J. Gamma oryzanol: a multi purpose steryl ferulate. *Current Nutrition & Food Science*. 2011; 7:10-20.
- Francisqueti, F.V., Minatel, I.O., Ferron, A.J.T., Bazan, S.G.Z., Silva, V.D.S., Garcia, J.L., De Campos, D.H.S., Ferreira, A.L., Moreto, F., Cicogna, A.C. et al. Effect of Gamma-Oryzanol as Therapeutic Agent to Prevent Cardiorenal Metabolic Syndrome in Animals Submitted to High Sugar-Fat Diet. *Nutrients*. 2017;9:1299.
- Tsuzuki, W., Komba, S., Kotake-Nara, E. Diversity in γ -oryzanol profiles of Japanese black-purple rice varieties. *J Food Sci Technol*. 2019;56: 2778–86.
- Vardhani, A., Jufri, M., Purwaningsih, E. Potency of γ -oryzanol-rich black rice bran (*Oryza Sativa* L. *Indica*) extract for tyrosinase inhibition. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2020;12(5):90-93.
- Bessa LCBA, Ferreira MC, Rodrigues CEC, Batista EAC, Meirelles AJA. Simulation and process design of continuous countercurrent ethanolic extraction of rice bran oil. *J Food Eng*. 2017 DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2017.01.019.
- Ruen-ngam, D., Thawai, C., Nokkoul, R., Sukonthamut, S. Gamma-oryzanol

- extraction from upland rice bran. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 2014;4(4).
13. Trinovita, E., Saputri, F.C., Munim, A. Potential gastroprotective activity of rice bran (*Oryza sativa* L.) extracted by ionic liquid-microwave-assisted extraction against ethanol-induced acute gastric ulcers in rat model. *Sci. Pharm.* 2018;86, 35.
 14. Kumar, P., Yadav, D., Kumar, P. et al. Comparative study on conventional, ultrasonication and microwave assisted extraction of γ -oryzanol from rice bran. *J Food Sci Technol*. 2016; 53:2047–253.
 15. Garofalo, S.F., Tommasi, T., Fino, D. A short review of green extraction technologies for rice bran oil. *Biomass Conv Bioref*. 2021;11:569–87.
 16. Srisaipet, A., Nuddagul, M. Influence of temperature on gamma-oryzanol stability of edible rice bran oil during heating. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 2014;5(4):303-6.
 17. Imsanguan, P., Roaysubtawee, A., Borirak, R., Pongamphai, S., Douglas, S., Douglas, P.L. Extraction of α -tocopherol and γ -oryzanol from rice bran. *Food Sci Technol*. 2008;41:1417–24.
 18. Lerma-García, M. J., Herrero-Martínez, J. M., Simó-Alfonso, E. F., Mendonça, C. R. B., Ramis-Ramos, G. Composition, industrial processing and applications of rice bran γ -oryzanol. *Food Chemistry*. 2009;115:389–404.
 19. Xu, Z., Hua, N., Godber, J.S. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,20-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride. *J. Agric. Food Chem*, 2001;49:2077–81.
 20. Huang, Y.P., Lai, H.M. Bioactive compounds and antioxidative activity of colored rice bran. *J. Food Drug Anal*. 2016; 24:564-74.

Lampiran 1. Surat Pernyataan Ketua Pelaksana

**Surat Pernyataan Ketua Pelaksana
Penelitian**

Yang bertadatangan di bawah ini:

Nama : dr. Afifah Kusuma Vardhani, M.Si, M.Pd.Ked

NIDN/NIK : 0304038804/223080968

Fakultas/ Prodi : Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan / Farmasi

Jabatan fungsional : Tenaga Pengajar

Dengan ini saya menyatakan bahwa proposal program penelitian yang diajukan dengan judul:

“Penetapan Kadar Gamma Oryzanol dari Ekstrak Etanol Bekatul Beras (*Oryza sativa*) di Indonesia”


Yang saya usulkan dalam skema penelitian dasar internal Universitas Esa Unggul tahun 2024 bersifat original dan belum pernah dibiayai oleh lembaga/ sumber dana lain.

Bilamana diketahui dikemudian hari adanya indikasi ketidakjujuran/ itikad kurang baik sebagaimana dimaksud di atas, maka kegiatan ini dibatalkan dan saya bersedia mengembalikan dana yang telah diterima kepada pihak Universitas Esa Unggul melalui LPPM.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dengan sebenar-benarnya.

Jakarta, 13 Mei 2024

Yang menyatakan,




dr. Afifah Kusuma Vardhani, M.Si, M.Pd.Ked

Lampiran 2. Biodata Pengusul dan Anggota

Biodata Pengusul

CURRICULUM VITAE

Data Pribadi	
Nama Lengkap	Afifah Kusuma Vardhani
Nama Lengkap dengan Gelar	dr. Afifah Kusuma Vardhani, M. Si, M.Pd.Ked
Tempat, Tanggal Lahir	Yogyakarta, 4 Maret 1988
Jenis Kelamin	Perempuan
Status	Menikah
Agama	Islam
Kewarganegaraan	WNI
No.HP	085229280880
Email	afifah.kusuma@esaunggul.ac.id



Riwayat Pendidikan Formal	
1994-2000	SD Muhammadiyah Wirobrajan III Yogyakarta
2000-2003	SLTP Negeri 5 Yogyakarta
2003-2006	SMA Negeri 1 Yogyakarta
2006-2007	Fakultas ISIPOL, Universitas Negeri Sebelas Maret, Jurusan Ilmu Komunikasi
2007-2011	Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Pendidikan Dokter (S. Ked) Judul Tugas Akhir: Efek Pemberian Ekstrak Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>) terhadap Kadar Kolesterol Tikus Wistar (<i>Rattus novergicus</i>) yang Diberi Diet Tinggi Lemak
2011-2014	Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Program Profesi Dokter (dr.)
2018-2020	Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Magister Herbal (M. Si) Judul Tugas Akhir: Uji Manfaat <i>in vivo</i> Losion Pencerah Kulit Mengandung Ekstrak Bekatul Beras Hitam (<i>Oryza sativa L. indica</i>)
2021-2023	Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Magister Pendidikan Kedokteran (M.Pd.Ked) Judul Tugas Akhir: Analisis Kebutuhan Area Kompetensi Literasi Teknologi Informasi dan Komunikasi pada Lulusan Dokter di Indonesia

Riwayat Pendidikan Informal	
2010	Elective Posting Universitas Islam Antarbangsa Malaysia (IIUM)
2015	Hiperkes K3
2018	IELTS Preparation TBI Depok, IELTS test IDP Pondok Indah Score 6,5

2019	Good Clinical Practice (Cara Uji Klinis yang Baik) IASMED
2019	Asian Chemical Biology Initiative
2021	Basic Aesthetic Teaching Class Cosmobeaute

Konferensi Internasional	
2019	International Conference on Applied Science and Health, Mahidol University, Bangkok, Thailand – Oral Presenter
2019	International Conference on Advance of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Universitas Indonesia, Bali, Indonesia – Poster Presenter
2021	The 13th Jakarta Meeting on Medical Education (JAKMED), Jakarta, Indonesia – Committee
2022	1st International Conference of Indonesian Medical and Health Professions Education, Yogyakarta, Indonesia – Participant
2022	The 5th International Seminar on Pharmaceutical Science and Technology (ISPST), The 3rd International Seminar and Expo on Jamu (ISEJ), and 13th Annual ISCC Meeting, Bandung, Indonesia – Oral Presenter
2022	The 1st International Conference on Medicinal Plant, Jember, Indonesia – Oral Presenter
2022	The 14th Jakarta Meeting on Medical Education (JAKMED), Jakarta, Indonesia – Oral Presenter & Committee
2023	International Conference on Public Health, Health Education, and Healthcare Services, Dubai, Uni Arab Emirates – Speaker
2024	Asia-Pacific Medical Education Conference, Colombo, Sri Lanka – Oral Presenter
2024	The 1 st International Herbal Medicine Conference, Purwokerto, Indonesia – Participant
2024	Seminar Nasional Farmasi Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia – Oral Presenter

Publikasi Penulisan Ilmiah	
2019	Proceedings of International Conference on Applied Science and Health (No. 4, 2019) Judul: <i>Caesalpinia sappan</i> L: Review Article
2020	International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Judul: Potency of γ -Oryzanol-Rich Black Rice Bran (<i>Oryza Sativa</i> L. <i>Indica</i>) Extract for Tyrosinase Inhibition
2021	Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products Judul: Efficacy of Lotion Containing Black Rice Bran (<i>Oryza sativa</i> L. <i>indica</i>) Extract as Skin Brightening Agent, a Clinical Trial
2024	Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology

	Judul: Determination of Gamma Oryzanol from Ethanolic Extract of Indonesian Rice Bran (<i>Oryza sativa</i>)
2024	Jurnal Jamu Indonesia Judul: Total Phenolic Content in Black Rice (<i>Oryza sativa L. indica</i>) Bran Ethanolic Extract from Two Different Regions in Java, Indonesia

Pengalaman Penelitian Non Tugas Akhir

2020	Uji Klinis Serum Nanopartikel Emas sebagai <i>Anti Aging</i>
2020	Uji Klinis Masker <i>Peel Off</i> Nanopartikel Emas sebagai <i>Anti Aging</i>
2021	Uji Klinis Formulasi Emulsi Minyak Biji Jintan Hitam

Pengalaman Kerja

2015 - 2016	Dokter Internship RS PKU Muhammadiyah II Yogyakarta dan Puskesmas Mlati II Sleman Yogyakarta
2016 - sekarang	Dokter Praktek Umum Klinik Sophia Medika Depok
2018 – 2020	Dokter Konsultan Medis Daycare Hasana Jagakarsa Jakarta Selatan
2020 - sekarang	Trainer dan Konsultan Medis PT. Latifa Bumi Berdaya

Pengalaman Organisasi

2010	Delegasi International Federation of Medical Students Associations (IFMSA) General Assembly, Bangkok, Thailand
2015	Anggota IDI Sleman
2016 - sekarang	Anggota IDI Depok
2019 - sekarang	Edukator Perkumpulan Dokter Pengembang Obat Tradisional dan Jamu Indonesia (PDPOTJI)
2020 - sekarang	Humas Komunitas Herbal Experts Indonesia

Pengabdian Masyarakat


2017 - sekarang	Tim Medis dan Pengobatan Gratis Perumahan Kavling UI Timur, Depok
2020	Narasumber Program Hidup Sehat Plus TVOne dengan Tema Tanaman Meniran
2020	Narasumber Program Hidup Sehat Plus TVOne dengan Tema Terapi Mual dengan Bahan Herbal
2021	Narasumber Webinar Al-Kattani Institute dengan Tema Imunomodulator Covid
2021	Narasumber Program Hidup Sehat Plus TVOne dengan Tema Pencerah Kulit Bahan Alam
2021	Narasumber Webinar Komunitas EduQuran dengan Tema Puasa dan Herbal
2021	Narasumber Program Hidup Sehat Plus TVOne dengan Tema Pelega Nafas dari Bahan Herbal
2021	Narasumber Webinar Jawharuna Institute dengan Tema Proses dan Imunomodulator Saat Pandemi
2021	Narasumber Webinar PDPOTJI dengan Tema Herbal untuk Puasa
2021	Narasumber Artikel HelloSehat dengan Tema Imunomodulator dari Rumah
2021	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema

	Kurma untuk Diabetes
2021	Narasumber Program Hidup Sehat Plus TVOne dengan Tema Kurma
2021	Narasumber Webinar Kuliah Tamu Fakultas Farmasi Jakarta Global University dengan Tema Jamu
2021	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Herbal yang Perlu Dihindari Ibu Hamil dan Menyusui
2021	Narasumber Webinar Indonesia Stokers Club dengan Tema Herbal Neuroprotektif
2021	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Jintan Hitam
2021	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Daun Pandan
2021	Narasumber Webinar Aksi Mahasiswa Fakultas Agama Islam Entaskan Pandemi
2021	Narasumber Artikel Website Jamu Digital dengan Tema Thibbun Nabawi dan Herbal Indonesia untuk Tingkatkan Imunitas
2021	Narasumber Webinar Al-Kattani Institute Pola Hidup Sehat dalam Lingkup Keluarga
2021	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Daun Pisang
2021	Moderator Webinar Pengabdian Masyarakat Fakultas Farmasi Universitas Indonesia Ramuan Herbal dan Suplemen Kesehatan untuk Isolasi Mandiri
2021	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Herbal untuk Jantung
2021	Narasumber Webinar Kuliah Tamu Prodi D3 Farmasi Universitas Bengkulu dengan Tema Peluang Obat Tradisional dan Komplementer sebagai Paradigma Baru dalam Pelayanan Kesehatan di Indonesia
2021	Narasumber Virtual Workshop PDPOTJI (Perkumpulan Dokter Pengembang Obat Tradisional dan Jamu Indonesia) Aplikasi rempah untuk Kesehatan
2021	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Manfaat Buah Zaitun untuk Kesehatan
2022	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Pengobatan Vertigo secara Alami
2022	Narasumber Seminar Kesehatan Pondok Pesantren At-Taqwa Depok dengan Tema Pencegahan dan Penanganan Pertama Menghadapi Penyakit
2022	Narasumber Webinar Komunitas YI-Lead dan Ashabulkahfi dengan Tema Omicron
2022	Narasumber Webinar KojimaTalk Manfaat Habbatussauda dalam Menjaga Kesehatan Anak dan Keluarga di Tengah Pandemi Covid-19
2022	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Manfaat Temu Ireng untuk Kesehatan
2022	Narasumber 1 st Virtual Workshop Series on Fitofarmaka in Clinical Practice PDPOTJI (Perkumpulan Dokter Pengembang Obat Tradisional dan Jamu Indonesia) - Terakreditasi IDI
2022	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Manfaat Daun Meniran

2022	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Manfaat Ashwagandha
2022	Kontributor Modul Membedah Keterampilan Belajar dalam Rangka Pengabdian Masyarakat Departemen Pendidikan Kedokteran FKUI
2022	Pemateri Etik Webinar PDPOTJI (Perkumpulan Dokter Pengembang Obat Tradisional dan Jamu Indonesia) Peran Potensial Herbal dalam Tata Laksana Cacar Monyet - Terakreditasi IDI
2022	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Cara Menghilangkan Memar dengan Bahan Alami
2022	Moderator Webinar PDPOTJI (Perkumpulan Dokter Pengembang Obat Tradisional dan Jamu Indonesia) Peran Herbal OMAI dalam Tata Laksana Dislipidemia dan Hipertensi Menyongsong Era PascaPandemi
2022	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Obat Kolesterol Alami
2022	Narasumber Webinar Transformasi Digital Kesehatan Farmasi Hijau bersama Widya Herbal Indonesia
2023	Moderator Thematic Introductory Workshop on Clinical Herbalism PDPOTJI Perkumpulan Dokter Pengembang Obat Tradisional dan Jamu Indonesia)
2023	Narasumber Basic Course: Fundamentals of Medical & Clinical Herbalism PDPOTJI (Perkumpulan Dokter Pengembang Obat Tradisional dan Jamu Indonesia)
2023	Narasumber Program Fit Phone Live FitRadio Semarang dengan Tema Buah Anggur dan Khasiatnya
2023	Moderator Kuliah Tamu Kewirausahaan dalam Bidang Kesehatan FIKES Universitas Esa Unggul
2023	Narasumber Melek Herbal untuk Laktasi Masyarakat Pembelajar
2023	Penyuluhan Keterampilan dan Pengetahuan sebagai Pendukung Kualitas Pendidikan Materi : Makanan dan Pola Hidup Bersih
2024	Moderator Edukasi Herbal dan Nutrisi yang Baik Selama Berpuasa Ramadhan
2024	Narasumber Edukasi Waktu yang Tepat Mengenalkan Puasa pada Anak
2024	Moderator Webinar Parenting Bahaya Konsumsi Gula Berlebih dan Diabetes pada Anak
2024	Moderator Seminar Current Clinical Application & Recent Development of Herbal Medicinal Product: Manfaat Habbatus Sauda & Inovasi Obat Batuk Herbal Spray
2024	Narasumber Edukasi Mengupas Manfaat Rumput Laut bagi Kesehatan

Biodata Anggota

Data Pribadi	
Nama Lengkap	Hidayah Sunar Perdanastuti
Nama Lengkap dengan Gelar	Apt. Hidayah Sunar Perdanastuti, S.Farm
Jenis Kelamin	Perempuan
Status	Belum Menikah
Agama	Islam
Kewarganegaraan	WNI
No.HP	+62818-0906-6332
Email	hidayahsunar@student.usm.my



Riwayat Pendidikan Formal	
1994-2000	SDN Balecatur 1 Gamping, Yogyakarta
2000-2003	SLTP Negeri 2 Yogyakarta
2003-2005	SMA Negeri 1 Yogyakarta
2005-2009	Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Program Sarjana Farmasi
2009-2011	Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Program Profesi Apoteker
2019-sekarang	School of Pharmacy, USM, Magister Program

Konferensi Internasional	
2019	International Conference on Applied Science and Health, Mahidol University, Bangkok, Thailand – Oral Presenter

Publikasi Penulisan Ilmiah	
2024	Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Judul: Determination of Gamma Oryzanol from Ethanolic Extract of Indonesian Rice Bran (<i>Oryza sativa</i>)
2024	Jurnal Jamu Indonesia Judul: Total Phenolic Content in Black Rice (<i>Oryza sativa L. indica</i>) Bran Ethanolic Extract from Two Different Regions in Java, Indonesia



Determination of Gamma Oryzanol from Ethanolic Extract of Indonesian Rice Bran (*Oryza sativa*)

Afifah K. Vardhani¹, Hidayah S. Perdanastuti²

¹Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Esa Unggul University, Jl. Arjuna Utara No.9, Duri Kupa, Kec. Kb. Jeruk, Kota Jakarta Barat, Daerah Khusus Ibukota Jakarta 11510

²School of Pharmaceutical Sciences, Universiti Sains Malaysia, Chancellory, Georgetown, Penang, 11800 Malaysia

Submitted 04 April 2023; Revised 08 June 2023; Accepted 24 June 2023; Published 01 February 2024

*Corresponding author: afifah.kusuma@esaunggul.ac.id

Abstract

Rice bran contains gamma oryzanol, a chemical compound mostly consisted of complex ester transferulate with phytosterols. Gamma oryzanol has a strong antioxidant activity, explained by the free radical scavenging activity. This study was aimed to determine gamma oryzanol from ethanolic extract of Indonesian rice bran. Quantitative analysis was conducted using HPLC analysis with mixture of methanol:acetonitrile:isopropanol (50%:40%:10%) as mobile phase and Inertsil ODS-3 5 μ m as stationary phase. The UV detector wavelength was set to 327 nm, and the flow rate was set to 1 mL/min. Gamma oryzanol standard and rice bran ethanolic extract 96% was injected into HPLC system. Ethanolic extract of rice bran (*Oryza sativa*) sample showed four major peaks as those of gamma oryzanol standard and contained 105,981 ppm of gamma oryzanol. As the conclusion, ethanolic extract of Indonesian rice bran (*Oryza sativa*) contains 10.59% gamma oryzanol.

Keywords: Gamma oryzanol, HPLC, Rice Bran

Penetapan Kadar Gamma Oryzanol dari Ekstrak Etanol Bekatul Beras (*Oryza sativa*) di Indonesia

Abstrak

Bekatul mengandung gamma oryzanol, suatu senyawa kimia yang sebagian besar terdiri dari kompleks ester transferulat dengan fitosterol. Gamma oryzanol memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, yang ditunjukkan oleh aktivitas penangkal radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar gamma oryzanol dari ekstrak etanol bekatul beras. Analisis kuantitatif dilakukan menggunakan analisis HPLC dengan campuran metanol: asetonitril: isopropanol (50%:40%:10%) sebagai fase gerak dan Inertsil ODS-3 5 μ m sebagai fase diam. Panjang gelombang detektor UV diatur pada 327 nm, dengan laju aliran 1 mL/min². Standar gamma oryzanol dan ekstrak etanol 96% bekatul beras diinjeksikan ke dalam sistem HPLC. Sampel ekstrak etanolik bekatul beras (*Oryza sativa*) menunjukkan empat puncak utama yang sesuai dengan standar gamma oryzanol serta mengandung 105.981 ppm gamma oryzanol. Sebagai kesimpulan, ekstrak etanol bekatul beras (*Oryza sativa*) mengandung 10,59% gamma oryzanol.

Kata Kunci: Gamma oryzanol, HPLC, Bekatul beras

1. Introduction

Rice is of special importance for the nutrition of large reaches of the population in Asia parts of Latin America and the Caribbean and, increasingly so, in Africa. As a result, it plays a pivotal role for the food security of over half the world population. The rice varieties grown across the world belong overwhelmingly to the *Oryza sativa* species.¹

Rice bran contains fibers and minerals, fat, protein, gamma oryzanol, as well as several bioactive compounds such as vitamin E, quercetin, and anthocyanins, which are commonly found in pigmented rice bran.^{2,3,4,5} Gamma oryzanol is a chemical compound, mostly consisted of campesteryl ferulate, campestanil ferulate, stigmastanyl ferulate, and steryl ferulate.⁶

Gamma oryzanol has a strong antioxidant activity, explained by the free radical scavenging activity. Other potential range of therapeutic properties exhibited by gamma oryzanol include anti-carcinogenic, anti-inflammatory, antidiabetic, anti-ageing, neuroprotective and hepatoprotective effects, most of which can be attributed to its potent antioxidant capacity.⁷ In preclinical study, gamma-oryzanol offers significant protection against changes in body weight, elevated triglyceride levels, kidney damage, and both structural and functional abnormalities in the heart.⁸ With its wide range of biological activities, it is beneficial to determine gamma oryzanol content in natural products.

Gamma oryzanol of various Japanese pigmented rice extracted with hexane/ethanol mixture (4:3, v/v) yielded 43.3 - 54.2 mg/100g dried weight.⁹ The ethanolic extract of Indonesian black rice bran (*Oryza sativa* L. *indica*) contained 118.572 mg/g of gamma oryzanol.¹⁰

This study aimed to determine gamma oryzanol content from the ethanolic extract of Indonesian rice bran. Ethanol has several benefits as a solvent, including low toxicity, good operational security, as well as being obtained from a bio-renewable resource.¹¹

2. Method

2.1. Tools

The tools used include High-performance liquid chromatography (HPLC).

2.2. Materials

The materials used include Rice bran sample was obtained from CV Vigur Organik, Malang, East Java. Ethanol for maceration was purchased from CV Satya Darmawan, Depok, West Java. Standard gamma oryzanol was purchased from Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, Missouri, United States of America, and grade solvents (methanol, acetonitrile, and isopropanol) were obtained from Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

2.3. Methods

2.3.1. Extraction of Rice bran

Rice bran was extracted using 96% ethanol by maceration 1:4 (w:v) during 3 days. After extraction, extract was evaporated by water bath at 80°C for 6 hours to obtain the slimy mixture.¹²

2.3.2. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) Analysis

20 µL of both standard (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, Missouri, United States of America) and rice bran ethanolic extract were injected into the HPLC system (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan), equipped with Inertsil ODS-3 5 µm in a 250x4.6 mm HPLC-column (GL Sciences, California, United States of America). A mixture of methanol:acetonitrile:isopropanol (50%:40%:10%) was used as the mobile phase under isocratic conditions. The ultraviolet (UV) detector wavelength was set to 327 nm and the flow rate was set to 1 mL/min.¹³

3. Result

Quantitative determination of gamma oryzanol was conducted using HPLC Analysis. The calibration curve of gamma oryzanol standard in the range of concentration of 20 - 120 at wavelength 327 nm was shown in Figure 1. Gamma oryzanol standard solution with a concentration of 70 ppm was analyzed to produce the chromatogram as demonstrated in Figure 2.

Figure 2 showed four peaks of gamma

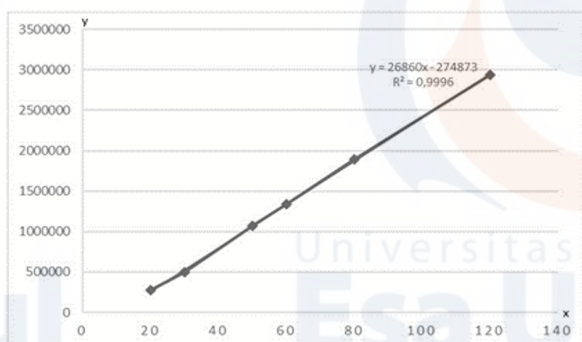


Figure 1. Calibration curve of gamma oryzanol standard

oryzanol standard solution (70 ppm), with a retention time of 14.889; 16.425; 17.635 and 19.981 (in minutes). The total width area of the standard solution injected calculated by HPLC system was 1,591,206. 70 ppm of gamma oryzanol standard solution was chosen because there was only a slight difference in width area between the standard and the ethanolic extract. Ethanolic extract of rice bran sample with the concentration of 600 ppm was analyzed and provided chromatogram shown in Figure 3 as the result. The retention time were 15.360; 16.712; 17.814 and 20.351 (in minutes). The total width area of the extract injected calculated by HPLC system was 1,433,116.

Gamma oryzanol quantification from ethanolic extract of rice bran was calculated using the calibration curve. Regression equation $y = ax + b$ with y as the total width area of extract injected.

$$1433116 = 26860x - 274873$$

$$x = 63.589$$

After (x) was determined, gamma oryzanol content was calculated using the following formula:

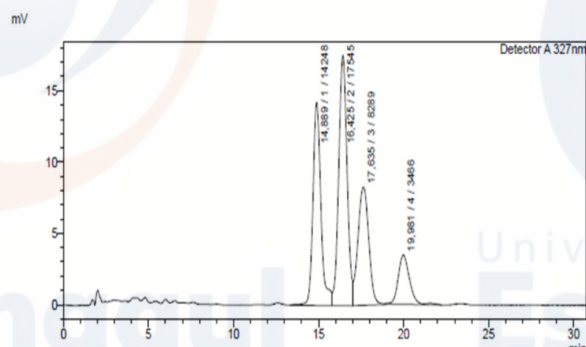


Figure 2. Chromatogram of gamma oryzanol standard solution (70 ppm)

$$\begin{aligned} \text{Content} &= (x \text{ (mcg/mL)} \times \text{sample volume} \\ &\quad \text{(mL)}) / \text{weight volume (g)} \\ &= (63.589 \text{ mcg/mL} \times 10 \text{ mL}) / 0.006 \\ &\quad \text{g} \\ &= 105,981 \text{ mcg/gram} \\ &= 105,981 \text{ ppm} \end{aligned}$$

According to the result of the calculation, gamma oryzanol content was revealed to be 105.981 ppm.

4. Discussion

The area of the 600 ppm bran extract chromatogram is 1,433,116. Based on the area of the calibration curve on Figure 1, rice bran extract contains 105.981 mg/g gamma oryzanol. A study by Kumar et al (2019)¹⁴ reported rice bran from India, containing $62,010 \pm 0,12$ ppm gamma oryzanol, using n-hexane as solvent.

However, the stability of gamma oryzanol extracted using hexane is lower than the one extracted using polar solvent, which is more resistant to temperature change such as isopropanol and ethanol.¹⁵ This is due to the more volatile nature of hexane compared to ethanol, so that the hexane extract has a lower

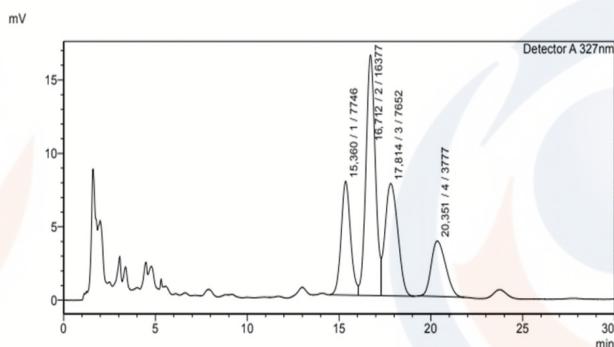


Figure 3. Chromatogram of ethanolic extract of rice bran (600 ppm)

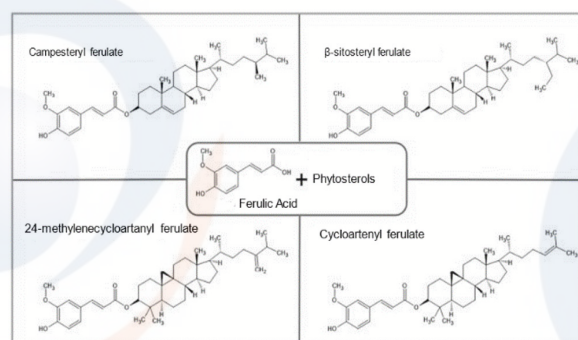


Figure 4. The Structure of the Gamma Oryzanol Components Detectable by HPLC¹⁵

acid value, an indicator of its oil quality.¹⁶ Imsanguan et al. (2008)¹⁷ reported that ethanol is a better solvent for the extraction of gamma oryzanol than hexane. Study by Kumar et al (2018)¹⁴ revealed lower amount of gamma oryzanol and is in accordance with Imsanguan (2008)¹⁷ who reported that ethanol was a better solvent for gamma oryzanol extraction compared to hexane.

Gamma oryzanol is a group of ferulic acid consisting of 10 compounds: Δ 7-stigmasteryl ferulate, stigmasteryl ferulate, cycloartenyl ferulate, 24-methylene cycloartanyl ferulate, Δ 7-campestenyl ferulate, campesteryl ferulate, Δ 7-sitostenyl ferulate, sitosteryl ferulate, campestanil ferulate, and sitostanyl ferulate.⁹ Referred to Lerma-Garcia et al (2009)¹⁸ study, the four major compounds of gamma oryzanol are 24-Methylene cycloartanyl ferulate, cycloartenyl ferulate, campesteryl ferulate, and β -sitosteryl ferulate. The component of gamma oryzanol with the highest antioxidant activity is 24-methylene cycloartenyl ferulate.¹⁹

Ethanol extract of rice bran sample in this study produced a chromatogram with four peaks in a pattern similar to those of gamma oryzanol standard solution. It indicated that the sample contained gamma oryzanol. HPLC chromatogram of rice bran extract indicated the identification of four main constituents of gamma oryzanol.⁹ Based on Figure 3, the peaks identified were: [1] cycloartenyl ferulate (21.78%), [2] 24-methylene cycloartanyl ferulate (46.06%), [3] campesteryl ferulate (21.52%), and [4] sitosteryl ferulate (10.62%). The structure of the gamma oryzanol components detectable by HPLC was shown in figure 4.¹⁵

Gamma oryzanol in rice bran is a collection of ferulic acid which is a phenolic compound.^{12,13} Gamma oryzanol extracted with ethanol as solvent demonstrated a higher amount of gamma oryzanol as a result, 105,981 ppm, compared to the previous studies. Solvent may significantly affect the extractability of gamma oryzanol from rice bran.⁹ According to Huang and Lai (2016), gamma oryzanol content in each variety of rice will be different.²⁰ It opens the probability

that different varieties give different levels of biological activities. With a higher amount of gamma oryzanol on its rice bran, hypothetically it also has a higher strength of biological activities.

5. Conclusion

Ethanol extract of rice bran from Malang, East Java, Indonesia, contains 10.59 % of gamma oryzanol. It needs further studies to measure the biological activities of gamma oryzanol inside each variety of rice bran.

Referensi

1. Calpe, C. Rice International Commodity Profile. Food and Agriculture Organization of the United Nations Markets and Trade Division. 2016.
2. Ito, V.C., Lacerda, L.G. Black rice (*Oryza sativa* L.): A review of its historical aspects, chemical composition, nutritional and functional properties, and applications and processing technologies. *Food Chemistry*. 2019;301.
3. Jun, H.I., Shin, J.W., Song, G.S., Kim, Y.S. Isolation and Identification of Phenolic Antioxidants in Black Rice Bran. *Food Chemistry*. 2015;80(2).
4. Shammugasamy, B., Ramakrishnan, Y., Manan, F. et al. Rapid Reversed-Phase Chromatographic Method for Determination of Eight Vitamin E Isomers and γ -Oryzanols in Rice Bran and Rice Bran Oil. *Food Anal. Methods*. 2015;8:649–55.
5. Ghasemzadeh, A., Karbalaii, M.T., Jaafar, H.Z.E. et al. Phytochemical constituents, antioxidant activity, and antiproliferative properties of black, red, and brown rice bran. *Chemistry Central Journal*. 2018;12: 17.
6. Tsuzuki, W., Komba, S. & Kotake-Nara, E. Diversity in γ -oryzanol profiles of Japanese black-purple rice varieties. *J Food Sci Technol*. 2019; 56: 2778–86.
7. Ghatak, S.B., Panchal, S.J. Gamma oryzanol: a multi purpose steryl ferulate. *Current Nutrition & Food Science*. 2011; 7:10-20.
8. Francisqueti, F.V., Minatel, I.O., Ferron,

- A.J.T., Bazan, S.G.Z., Silva, V.D.S., Garcia, J.L., De Campos, D.H.S., Ferreira, A.L., Moreto, F., Cicogna, A.C. et al. Effect of Gamma-Oryzanol as Therapeutic Agent to Prevent Cardiorenal Metabolic Syndrome in Animals Submitted to High Sugar-Fat Diet. *Nutrients*. 2017;9:1299.
9. Tsuzuki, W., Komba, S., Kotake-Nara, E. Diversity in γ -oryzanol profiles of Japanese black-purple rice varieties. *J Food Sci Technol*. 2019;56: 2778–86.
10. Vardhani, A., Jufri, M., Purwaningsih, E. Potency of γ -oryzanol-rich black rice bran (*Oryza Sativa L. Indica*) extract for tyrosinase inhibition. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2020;12(5):90-93.
11. Bessa LCBA, Ferreira MC, Rodrigues CEC, Batista EAC, Meirelles AJA. Simulation and process design of continuous countercurrent ethanolic extraction of rice bran oil. *J Food Eng*. 2017 DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2017.01.019.
12. Ruen-ngam, D., Thawai, C., Nokkoul, R., Sukonthamut, S. Gamma-oryzanol extraction from upland rice bran. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*. 2014;4(4).
13. Trinovita, E., Saputri, F.C., Munim, A. Potential gastroprotective activity of rice bran (*Oryza sativa L.*) extracted by ionic liquid-microwave-assisted extraction against ethanol-induced acute gastric ulcers in rat model. *Sci. Pharm*. 2018;86, 35.
14. Kumar, P., Yadav, D., Kumar, P. et al. Comparative study on conventional, ultrasonication and microwave assisted extraction of γ -oryzanol from rice bran. *J Food Sci Technol*. 2016; 53:2047–253.
15. Garofalo, S.F., Tommasi, T., Fino, D. A short review of green extraction technologies for rice bran oil. *Biomass Conv Bioref*. 2021;11:569–87.
16. Srisaipet, A., Nuddagul, M. Influence of temperature on gamma-oryzanol stability of edible rice bran oil during heating. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 2014;5(4):303-6.
17. Imsanguan, P., Roaysubtawee, A., Borirak, R., Pongamphai, S., Douglas, S., Douglas, P.L. Extraction of α -tocopherol and γ -oryzanol from rice bran. *Food Sci Technol*. 2008;41:1417–24.
18. Lerma-García, M. J., Herrero-Martínez, J. M., Simó-Alfonso, E. F., Mendonça, C. R. B., Ramis-Ramos, G. Composition, industrial processing and applications of rice bran γ -oryzanol. *Food Chemistry*. 2009;115:389–404.
19. Xu, Z., Hua, N., Godber, J.S. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,20-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride. *J. Agric. Food Chem*, 2001;49:2077–81.
20. Huang, Y.P., Lai, H.M. Bioactive compounds and antioxidative activity of colored rice bran. *J. Food Drug Anal*. 2016; 24:564-74.