

# Isolasi dan identifikasi asam Linolenat dari biji selasih (*Ocimum Basilicum*) dengan menggunakan metode Soxhlet

Nufia Rohmatul Isnaini

Program Studi kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

e-mail: rohmatul7477@gmail.com

## Kata Kunci:

biji selasih; ekstraksi soxhlet; asam lemak; asam linolenat

## Keywords:

basil seed; soxhlet extraction; fatty acid, linolenic acid

## ABSTRAK

Abstrak Tanaman selasih (*Ocimum basilicum*) adalah salah satu jenis tanaman endemik Indonesia yang mempunyai banyak manfaat pada setiap bagiannya seperti daun, batang dan biji selasih. Biji selasih telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional seperti pengobatan dispepsia, diare, dan anti inflamasi. Biji selasih juga kaya akan berbagai nutrisi termasuk serat, protein, omega-3 fatty acids, antioksidan dan mineral. Biji selasih dapat diekstraksi menghasilkan minyak biji selasih yang kaya akan omega-3 fatty acids meliputi asam linolenat, asam oleat, asam palmitat dan asam stearat. Praktikum ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui cara isolasi, sifat fisik, dan karakterisasi dari asam linolenat dari biji selasih (*Ocimum basilicum*). Metode yang digunakan yaitu metode ekstraksi soxhlet dengan pelarut n-heksana dan hidrolisis minyak dengan katalis basa yaitu KOH. Hasil yang diperoleh dari isolasi asam  $\alpha$ -linolenat dari biji selasih (*Ocimum basilicum*) yang dilakukan dengan ekstraksi soxhlet menggunakan pelarut n-heksana dan metanol yaitu berat minyak hasil ekstraksi 10,0498 gram dengan rendemen sebesar 20,0996%. Kemudian dilakukan hidrolisis dengan KOH dan dipartisi menggunakan pelarut n-heksana yang didapatkan rendemennya sebesar 797,7054%. Kemudian dilakukan pengujian sifat fisik berupa uji densitas dan indeks bias yang masing masing diperoleh 0,969 dan 1.357. setelah itu dilakukan identifikasi menggunakan spektrofotometer GC-MS.

## ABSTRACT

The basil plant (*Ocimum basilicum*) is one type of Indonesian endemic plant that has many benefits in every part of it such as leaves, stems and basil seeds. Basil seeds have been used as traditional medicine such as dyspepsia treatment, diarrhea, and anti-inflammatory. Basil seeds are also rich in various nutrients including fiber, protein, omega-3 fatty acids, antioxidants and minerals. Basil seeds can be extracted to produce basil seed oil which is rich in omega-3 fatty acids including linolenic acid, oleic acid, palmitic acid and stearic acid. This practicum was conducted to determine the isolation, physical properties, and characterization of linolenic acid from basil seeds (*Ocimum basilicum*). The methods used were soxhlet extraction method with n-hexane solvent and oil hydrolysis with base catalyst, KOH. The results obtained from the isolation of  $\alpha$ -linolenic acid from basil seeds (*Ocimum basilicum*) carried out by soxhlet extraction using n-hexane and methanol solvents are the weight of the extracted oil 10.0498 grams with a yield of 20.0996%. Then hydrolysis with KOH and partitioned using n-hexane solvent obtained a yield of 797.7054%. Then physical properties testing was carried out in the form of density and refractive index tests which were obtained 0.969 and 1.357, respectively. after that identification was carried out using GC-MS spectrophotometers.

## Pendahuluan

Tanaman selasih (*Ocimum basilicum*) adalah salah satu jenis tanaman endemik Indonesia yang mempunyai banyak manfaat tidak hanya sebagai tanaman farmasi



This is an open access article under the CC BY-NC-SA license.

Copyright © 2023 by Author. Published by Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

tetapi juga digunakan sebagai bahan pangan. Tanaman selasih memiliki beberapa bagian seperti daun, batang, dan biji. Biji selasih telah diketahui dimanfaatkan sebagai obat tradisional seperti pengobatan dispepsia, diare, dan anti inflamasi (Adawiyah et al., 2022). Biji selasih mengandung berbagai senyawa aktif termasuk polifenol, flavonoid, asam amino, dan minyak esensial. Selain itu, biji selasih juga kaya akan antioksidan seperti asam fenolat yang membantu untuk melawan radikal bebas dalam tubuh. Biji selasih juga kaya akan berbagai nutrisi termasuk serat, protein, omega-3 fatty acids, antioksidan dan mineral. Biji selasih dapat diekstraksi menghasilkan minyak biji selasih yang kaya akan omega-3 fatty acids meliputi asam linolenat, asam oleat, asam palmitat dan asam stearat (Susanti et al., 2014).

Asam linolenat dikenal juga sebagai C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> merupakan asam lemak omega-6 tak jenuh ganda atau polyunsaturated fatty acids (PUFA). Secara resmi oleh IUPAC dinamakan sebagai asam 9Z, 12Z-oktadekadienoat. Asam linolenat adalah asam lemak esensial yang penting karena menjadi prekursor bagi pembentukan DGLA (Dihomo Gamma-Linolenic Acid), GLA (Gamma Linolenic Acid), dan AA (Arachidonic Acid) yang ketiganya termasuk dalam kelompok omega-6. Keberadaan omega-6 sering kali saling melengkapi dengan omega-3. Beberapa manfaat omega-3 dapat terwujud atau ditingkatkan dengan adanya omega-6 (Della et al., 2022). Asam linolenat memiliki efek dapat menurunkan kadar kolesterol jahat atau LDL (Low Density Lipoprotein) dan berpotensi mencegah berbagai penyakit mulai dari gangguan neurologis, inflamasi, depresi, hingga penyakit kardiovaskular yang dapat mengarah pada penyakit jantung koroner (Farvid et al., 2014). Asam α-linolenat dapat diekstraksi dari minyak yang memiliki kandungan tinggi asam linolenat salah satu contohnya yaitu minyak biji semangka (*Citrullus lanatus L*) dan minyak biji buah merah (*Pandanus conoideus lamk*). Minyak yang diperoleh ini dapat diekstraksi menggunakan metode Soxhlet.

Metode soxhlet adalah teknik ekstraksi yang umum digunakan untuk memisahkan senyawa organik dari bahan padat. Metode soxhlet bekerja berdasarkan prinsip ekstraksi kontinu dengan pelarut yang mudah menguap. Pelarut yang umum digunakan adalah pelarut heksana atau etanol (Mora, 2022). Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak suatu sampel akan mempengaruhi kandungan senyawa yang tersaring dalam ekstrak. Metode soxhlet sangat efektif untuk ekstraksi minyak dari biji selasih karena memungkinkan penggunaan pelarut yang cocok untuk melarutkan minyak dari bahan padat dengan efisien. Pemilihan pelarut pada proses ekstraksi sangat diperlukan dengan prinsip like dissolve like dimana senyawa polar akan lebih mudah larut dalam pelarut polar dan senyawa non polar akan mudah larut pada pelarut non polar. Pada proses ekstraksi minyak biji selasih digunakan pelarut nonpolar seperti n-heksana karena minyak merupakan senyawa nonpolar. Selain itu, proses sirkulasi pelarut secara berulang memungkinkan ekstraksi yang menyeluruh dari biji selasih menghasilkan ekstrak minyak yang berkualitas tinggi (Desmiaty et al., 2019). Setelah diperoleh minyak hasil ekstraksi, dilakukan proses hidrolisis untuk memperoleh asam lemak dari minyak biji selasih. Hidrolisis minyak dan lemak adalah proses dimana KOH etanol bereaksi dengan minyak untuk membentuk gliserol dan asam lemak (FA) (Salimon et al., 2011). Asam lemak yang dihasilkan pada hidrolisis minyak adalah asam lemak yang bersifat jenuh sehingga diperlukan pemisahan asam lemak hingga mendapatkan asam lemak yang diinginkan (Zulkifli & Estiasih, 2014).

## Pembahasan

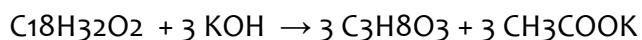
### Isolasi Asam $\alpha$ -Linolenat dari Biji Selasih (*Ocimum basilicum*)

Isolasi Asam  $\alpha$ -Linolenat dari Biji Selasih (*Ocimum basilicum*) dilakukan dengan beberapa tahapan yaitu preparasi, ekstraksi dengan metode soxhlet, dan hidrolisis. Tahapan awal yaitu preparasi biji selasih (*Ocimum basilicum*) yang diawali dengan menimbang biji selasih sebanyak 100 gram, kemudian dihaluskan biji selasih menggunakan blender yang berfungsi untuk menghaluskan biji selasih dan memperluas permukaan sampel sehingga ketika dilakukan ekstraksi senyawa yang ada dalam sampel akan terkestrak secara maksimal (Rahimah et al., 2015). Setelah itu dipindahkan ke dalam plastik klip. Hasil yang diperoleh dari preparasi biji selasih yaitu serbuk biji selasih berwarna hitam.

Tahapan kedua, yaitu ekstraksi. Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa tertentu yang terdapat pada suatu bahan dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus sesuai dengan karakterisasi senyawa yang diinginkan metode yang diduga efektif dalam mengekstraksi senyawa bioaktif soxhlet. Prinsip dari soxhlet adalah penyaringan yang dapat menarik senyawa organik dalam bahan alam secara berulang-ulang (Anam & Agustini, 2014). Langkah awal yang dilakukan yaitu, ditimbang serbuk biji selasih sebanyak 50 gram kemudian dimasukkan ke dalam kertas saring yang telah dibentuk tabung yang berfungsi untuk menahan sampel dan mencegah emulsi antara sampel dengan pelarut n-heksana (Fasya, 2011). Pelarut yang digunakan pada ekstraksi minyak biji selasih adalah pelarut n-heksana, karena rendemen yang dihasilkan dari penggunaan pelarut n-heksana relatif tinggi pada proses ekstraksi (Idris et al., 2020). Setelah itu, dilakukan ekstraksi sebanyak 4 kali sirkulasi hingga pelarut meredam sampel terlihat jernih yang berfungsi untuk meningkatkan kemurnian minyak dan memaksimalkan hasil ekstraksi (Della et al., 2022). Pemilihan 4 kali sirkulasi karena pada hasil sirkulasi keempat telah diperoleh pelarut yang bening. Pelarut yang bening menandakan bahwa minyak pada biji selasih telah terekstrak seluruhnya sehingga diperoleh ekstrak minyak biji selasih berwarna kekuningan. Selanjutnya hasil ekstrak yang diperoleh, dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan pengurangan tekanan yang berfungsi untuk memekatkan minyak hasil ekstraksi (Della et al., 2022). Lalu dipindahkan ekstrak pekat ke dalam botol vial dan di aliri gas N<sub>2</sub> yang berfungsi untuk menjaga kualitas minyak dan menghilangkan sisa pelarut yang masih terkandung dalam sampel hasil ekstraksi (Della et al., 2022). Kemudian ditutup dan disimpan pada suhu dingin. Hasil yang diperoleh dari ekstraksi biji selasih (*Ocimum basilicum*) yaitu berat minyak biji selasih sebesar 10,0498 gram dan rendemen sebesar 20,0996%.

Tahapan ketiga, yaitu hidrolisis minyak hasil ekstraksi. Hidrolisis minyak merupakan reaksi kimia dimana minyak atau lemak akan dipecah menjadi asam lemak dan gliserol melalui reaksi air. Pada proses ini sering melibatkan katalisator seperti asam atau basa untuk mempercepat reaksi. Prinsip dari hidrolisis minyak dan lemak yaitu KOH akan bereaksi dengan minyak untuk membentuk gliserol dan asam lemak (FA) (Duengo, 2011). Langkah awal yang dilakukan adalah menimbang minyak biji selasih sebanyak 10.0498 gram. Kemudian di masukan ke dalam labu alas bulat leher tiga yang di rangkai

menggunakan penangas air dan kondensor yang bertujuan untuk menampung minyak dan pelarut. Lalu di tambahkan sebanyak 100 ml metanol dan larutan KOH 12% (20,15 mL KOH dilarutkan dalam 100 mL aquades) yang berfungsi untuk pelarut dan katalis. Penggunaan pelarut metanol karena metanol termasuk dalam pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa kimia yang bersifat polar seperti asam lemak tak jenuh. Kepolaran metanol memungkinkan terjadi interaksi kimia yang lebih efektif dengan asam lemak, sehingga memudahkan proses hidrolisis (Duengo, 2011). Selain itu, penggunaan KOH berlebih berfungsi untuk meningkatkan efisiensi hidrolisis dan meningkatkan hasil asam lemak bebas serta mempermudah terbentuknya reaksi penyabunan (Fitri & Fitriana, 2019). Berikut adalah reaksi yang terjadi antara asam linolenat dengan KOH:



katalis KOH yang bersifat basa agar dapat bereaksi dengan gliseril trilinolenat yang terkandung dalam trigliserida pada minyak biji selasih (Fasya et al., 2013)

Setelah itu direfluks campuran pada temperatur 60°C dengan di aduk menggunakan stirrer selama 90 menit hingga cairan tampak berwarna kuning jernih yang bertujuan untuk memurnikan minyak dan menguapkan metanol. Selanjutnya dipindahkan cairan hasil refluks ke dalam corong pisah yang berfungsi untuk memisahkan minyak dan memperoleh minyak murni. Kemudian di tambahkan 100 mL air dan 75 mL n-heksana dan dikocok hingga terbentuk dua fasa. Setelah itu didiamkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu organik dan air. Lapisan organik berada di bagian atas dan lapisan air di bagian bawah. Selanjutnya dipisahkan lapisan air dan di tambahkan asam sulfat 1M hingga didapatkan pH 1 yang berfungsi untuk memastikan bahwa seluruh garam yang terbentuk telah larut sempurna (Della et al., 2022). Di ukur pH menggunakan indikator universal. Di kocok dengan larutan dengan kuat kemudian didiamkan sampai terbentuk dua lapisan yaitu organik dan air. Lapisan organik mengandung asam lemak bebas kemudian di pisahkan dari lapisan air. kemudian di pekatkan menggunakan aliran gas N<sub>2</sub> yang berfungsi untuk menjaga kualitas minyak dan menghilangkan sisa pelarut yang masih terkandung dalam sampel hasil ekstraksi (Della et al., 2022). Hasil yang diperoleh dari hidrolisis minyak yaitu rendemen minyak biji selasih (*Ocimum basilicum*) sebesar 797,7054% dan berat minyak sebesar 80,1678 gram.

### **Uji Sifat Fisik Asam Lemak dari Minyak Biji Selasih (*Ocimum Basilicum*)**

#### **Uji Berat Jenis Asam Lemak Minyak Biji Selasih (*Ocimum basilicum*)**

Uji berat jenis asam lemak minyak biji selasih (*Ocimum basilicum*) bertujuan untuk mengetahui densitas dari asam lemak. Langkah awal yang di lakukan itu piknometer kosong di timbang lalu diisi dengan aquades hingga tanda batas. Kemudian dicatat volume dari aquades. Lalu diisi piknometer dengan asam lemak minyak biji selasih kemudian dicatat volume dari asam lemak minyak biji selasih. Berat jenis yang diperoleh sebesar 0,969.

#### **Uji Berat Indeks Bias Lemak Minyak Biji Selasih (*Ocimum basilicum*)**

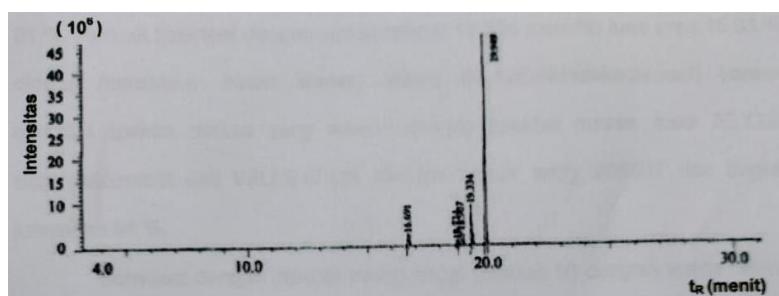
Uji indeks bias asam lemak minyak biji selasih (*Ocimum basilicum*) bertujuan untuk mengetahui indeks bias asam lemak. Langkah awal yang dilakukan yaitu asam lemak

minyak biji selasih dipipet kemudian diletakkan pada alat. Diukur indeks pada suhu ruang dengan resolusi dan nilai akurasi 0,1% dan  $\pm$  0,2%. Dilakukan pengukuran dalam rangkap tiga dan dihitung nilai rata-ratanya. Indeks bias yang diperoleh yaitu 1,357.

### **Identifikasi Asam Lemak Dari Minyak Biji Selasih (*Ocimum basilicum*) dengan Spektrofotometer GC-MS**

Analisis asam lemak dari minyak biji selasih (*Ocimum basilicum*) dilakukan menggunakan spektrofotometer GC-MS. Tujuan dari alat ini yaitu untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam produk hasil sintesis tersebut yang didukung oleh analisis berat molekul senyawa. Metode ini digunakan untuk menentukan jumlah senyawa yang terdeteksi dalam kromatogram hasil analisis produk sintesis. Sedangkan penggunaan spektroskopi massa bertujuan untuk menentukan struktur senyawa yang berhasil dipisahkan menurut puncak-puncak m/z yang diperoleh.

**Gambar 1.1** Identifikasi lemak



**Gambar 1.** Hasil identifikasi lemak menggunakan GC-MS

Pada gambar 1 menunjukkan kromatogram hasil pemisahan asam lemak dari minyak biji selasih melalui kromatografi gas. Kromatogram tersebut menunjukkan adanya 5 puncak yang menandakan adanya 5 senyawa yang terpisah dalam sampel yang dianalisis. Puncak pertama menunjukkan waktu retensi 16,691 menit dengan luas area sebesar 4,98% yang diduga asam palmitat. Pada puncak kedua menunjukkan waktu retensi 18,724 menit, dengan luas area sebesar 2,02% yang diduga asam stearat. Pada puncak ketiga menunjukkan waktu retensi 18,907 menit, dengan luas area sebesar 6,46% yang diduga asam oleat. Pada puncak keempat menunjukkan waktu retensi 19,334 menit, dengan luas area sebesar 15,83% yang diduga asam linoleat. Sedangkan pada puncak kelima memiliki waktu retensi 19,949 dengan luas area sebesar 70,72% yang diduga asam  $\alpha$ -linolenat. Setelah diidentifikasi menggunakan spektrofotometer GC, senyawa dengan presentase luas area tertinggi diidentifikasi oleh spektra massa MS untuk menentukan berat molekul dari asam  $\alpha$ -linolenat. Spektra massa MS menghasilkan puncak ion fragmen pada m/z 39, 41, 55, 67, 79, 108, 121, 135, 149, 163, 174, 191, 203, 217, 236, 249, 261, 277, dan 292. Puncak ion fragmen dengan m/z 292 menunjukkan berat molekul dari metil linolenat atau asam  $\alpha$ -linolenat.

### **Kesimpulan dan Saran**

Asam  $\alpha$ -linolenat merupakan salah satu jenis asam lemak tak jenuh yang terkandung dalam minyak biji selasih (*Ocimum basilicum*). Asam  $\alpha$ -linolenat diisolasi dari biji selasih

(*Ocimum basilicum*) menggunakan metode ekstraksi soxhlet. Hasil yang diperoleh dari ekstraksi biji selasih (*Ocimum basilicum*) yaitu minyak yang mengandung asam lemak berwarna kekuningan dengan rendemen sebesar 20,0996% dan berat minyak 10,0498 gram. Selain itu, pada isolasi asam  $\alpha$ -linolenat terdapat proses hidrolisis yang menghasilkan rendemen sebesar 797,7054% dengan berat minyak sebesar 80,1678 gram dan diperoleh densitas sebesar 0,969 serta indeks bias sebesar 1,357. lemak tersebut, termasuk sinyal khas singlet proton imina pada 11.87 ppm (1H,s). Sedangkan hasil dari analisis menggunakan GC-MS yang menunjukkan ion molekuler pada m/z 292, yang sesuai dengan berat molekuler asam  $\alpha$ -linolenat.

## Daftar Pustaka

- Adawiyah, D. R., Wefiani, F. P., & Patricia, K. (2022). Karakterisasi serat pangan, kapasitas pengikatan air dan kemampuan Emulsifikasi biji selasih dan Chia. *Jurnal Mutu Pangan: Indonesian Journal of Food Quality*, 8(2), 63–69. <https://doi.org/10.29244/jmpi.2021.8.2.63>
- Anam, C., & Agustini, T. W. (2014). Pengaruh pelarut yang berbeda pada ekstraksi *Spirulina Platensis* serbuk sebagai antioksidan dengan metode Soxhletasi. 3.
- Della, D. A., Soetjipto, H., & Aminu, N. R. (2022). Linoleic Acid Isolation from watermelon seeds oil (*Citrullus lanatus L*) with urea inclusion method. *EduChemia (Jurnal Kimia dan Pendidikan)*, 7(2), 250. <https://doi.org/10.30870/educhemia.v7i2.15128>
- Desmiaty, Y., Elya, B., Saputri, F. C., Dewi, I. I., & Hanafi, M. (2019). Pengaruh metode ekstraksi terhadap kandungan senyawa Polifenol dan aktivitas antioksidan pada *Rubus fraxinifolius*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(2), 227. <https://doi.org/10.35814/jifi.v17i2.755>
- Duengo, S. (2011). Sintesis dan karakterisasi senyawa 10,12,14-Oktadekatrienilasetat dari Asam  $\alpha$ -Linolenat (Asam 9,12,15-Oktadekatrienoat) minyak biji selasih (*Ocimum basilicum L.*).
- Farvid, M. S., Ding, M., Pan, A., Sun, Q., Chiuve, S. E., Steffen, L. M., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2014). Dietary Linoleic acid and risk of coronary heart disease: A systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *Circulation*, 130(18), 1568–1578. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.010236>
- Fasya, A. G. (2011). Sintesis Metil 10,12,14-oktadekatrienoat dari Asam 9,12,15-oktadekatrienoat (Asam  $\alpha$ -linolenat) Biji Selasih (*Ocimum basilicum*) dan Uji Bioaktivitasnya. Universitas Brawijaya.
- Fitri, A. S., & Fitriana, Y. A. N. (2019). Analisis angka asam pada minyak goreng dan Minyak Zaitun. 16(2).
- Idris, A. A., Nour, A. H., Ali, M. M., Erwa, I. Y., Omer Ishag, O. A., & Nour, A. H. (2020). Physicochemical properties and fatty acid Composition of *Ocimum basilicum L.* seed oil. *Asian Journal of Physical and Chemical Sciences*, 1–12. <https://doi.org/10.9734/ajopacs/2020/v8i130104>
- Mora, L. (2022). Kombinasi minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum Burmannii*), sereh (*Cymbopogon Citratus*) dan minyak nilam (*Pogostemon Cablin*) sebagai pengikat lilin aromaterapi.

- Rahimah, S., Hendrarti, W., & Ramlah, S. (2015). Uji aktivitas ekstrak biji selasih (*Ocimum Basilicum L.*) dengan beberapa pelarut sebagai antipiretik pada mencit (*Mus musculus*). As-Syifaa.
- Salimon, J., Abdullah, B. M., & Salih, N. (2011). Hydrolysis optimization and characterization study of preparing fatty acids from *Jatropha curcas* seed oil. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 67. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-5-67>
- Susanti, V., Kimia, J., & Ibrahim, M. M. (2014). Uji aktivitas antioksidan minyak dan asam lemak Mikroalga Chlorella sp. Terhadap radikal DPPH (1, 1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl).
- Zulkifli, M., & Estiasih, T. (2014). Sabun dari distilat asam lemak minyak sawit : Kajian pustaka. 2(4).