

## **Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Beras Hitam dan Tepung Beras Hitam (*Oryza sativa L.indica*)**

**Ratri Diah Muktisari<sup>1</sup> dan Fadjar Kurnia Hartati<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Industri, Fakultas Pertanian, Universitas Trunojoyo Madura, Jl Raya Telang, Kec. Kamal, Bangkalan, Madura, Jawa Timur 69162

<sup>2</sup>Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Univ. Dr. Soetomo, Jl. Semolowaru 84 Surabaya, Jawa Timur 60118

Email : [ratri.utm@gmail.com](mailto:ratri.utm@gmail.com)

### **ABSTRAK**

Beras hitam dan tepung beras hitam merupakan produk pangan yang sangat bermanfaat bagi tubuh, karena didalamnya mengandung antioksidan . Kandungan antioksidan yang terdapat di dalam beras hitam dan tepung beras hitam dianalisa dengan cara menguji aktivitas antioksidannya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perubahan aktivitas antioksidan beras hitam dan tepung beras hitam. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental dengan 2 sampel (beras hitam dan tepung beras hitam). Analisa data menggunakan uji t independen. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada beras hitam dan tepung beras hitam, sehingga dapat disimpulkan bahwa proses pengeringan pada pembuatan tepung beras hitam menurunkan aktivitas antioksidan pada produk beras hitam.

**Kata kunci:** *beras hitam, tepungnya, aktivitas antioksidan*

### **ABSTRACT**

*Black rice and black rice flour is a food product which is very beneficial for the body, because it contains antioxidants. Antioxidant contained in black rice and black rice flour analyzed by examining the antioxidant activity. The purpose of this study is to determine changes to the antioxidant activity of black rice and black rice flour. The research method is using experimental with 2 samples (black rice and black rice flour). In the Data analysis is using independent t test. The results indicate that there are the differences between the antioxidant activity of black rice and black rice flour. It can be concluded that the drying process in the manufacture of black rice flour lowered antioxidant activity in black rice products.*

**Key words:** *black rice, black rice flour, antioxidant activity*

### **PENDAHULUAN**

Beras hitam, memiliki nama yang berbeda-beda tergantung di mana beras hitam tersebut berada, misal dikenal dengan nama “beras wulung (Solo), cempo ireng/ beras jlitheng (Sleman), beras melik (Bantul) dll. Dalam sejarah, mengonsumsi beras hitam adalah tabu bagi rakyat biasa sehingga disebut *forbidden rice*. Beras hitam mengandung senyawa bioaktif kelompok antosianin, flavon/flavonoid, karoten dan oryzanol (Caro *et al*, 2013). Senyawa-senyawa bioaktif tersebut terbukti bermanfaat untuk kesehatan seperti

antikolesterol (Hartati, 2016<sup>a</sup>), anti-inflamasi secara *in vivo* (Hartati, 2016<sup>b</sup>) dan *in vitro* (Hartati *et al*, 2017<sup>a</sup>).

Beras hitam bisa diolah menjadi berbagai macam produk olahan, bukan hanya dalam bentuk nasi akan tetapi bisa dalam bentuk bubur atau dalam bentuk agar. Sebagian besar masyarakat enggan mengkonsumsi beras hitam dalam bentuk nasi dikarenakan warnanya yang sangat hitam dan proses penanakannya yang agak lama sekitar 2 jam (Anonim <sup>a</sup>, 2012).

Beras hitam diolah menjadi beberapa olahan setelah terlebih dahulu ditepungkan. Proses penepungan diawali dengan pengeringan, sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan karena aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh beberapa factor seperti suhu, pH, oksigen dan cahaya (Masrurroh, 2004). Pengeringan untuk serealialia menggunakan suhu udara paling baik adalah berkisar antara 30<sup>0</sup> C- 35<sup>0</sup> C. Apabila suhu lebih tinggi dari rentang tersebut, maka akan mematikan dan merusak enzim dalam benih. Tetapi untuk benih serealialia dengan kadar air antara 10%-18%, dapat digunakan suhu pengeringan yang lebih tinggi, walaupun tetap tidak boleh melampaui suhu maksimal (selama permukaan benih masih diliputi oleh uap air) (Kuswanto, 2003). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh proses penepungan beras hitam terhadap aktivitas antioksidannya.

## **METODE PENELITIAN**

Bahan yang digunakan untuk penelitian meliputi bahan yang akan dianalisa (sampel) dan bahan kimia untuk analisa. Bahan yang akan dianalisa adalah beras hitam dan tepung beras hitam. Adapun bahan kimia untuk analisa merk *Sigma* p.a antara lain kloroform, etil asetat, methanol, kertas saring whatman no. 42, aquadest, 1,1- *diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) p.a (Merck), *butylated hydroxytoluene* (BHT) p.a. (Merck) sebagai antioksidan pembanding.

Alat yang digunakan untuk penelitian meliputi alat untuk preparasi sampel dan alat untuk analisa. Alat yang digunakan untuk preparasi sampel antara lain baskom plastik, timbangan kue, *cabinet dryer*, baki aluminium, waring blender, pengayak 2 mesh. Alat yang digunakan untuk analisa antara lain timbangan analitik, pipet volume, corong kaca, tabung reaksi, rak tabung reaksi, termometer, Spektrofotometer UV-VIS, kuvet, beaker glass, *orbital shaker*, *rotary vacuum evaporator*.

Uji aktivitas antioksidan beras hitam dan tepung beras hitam dilakukan dengan metode DPPH (Hanani *et al.*, 2005). Ekstrak kasar beras hitam dan tepung beras hitam

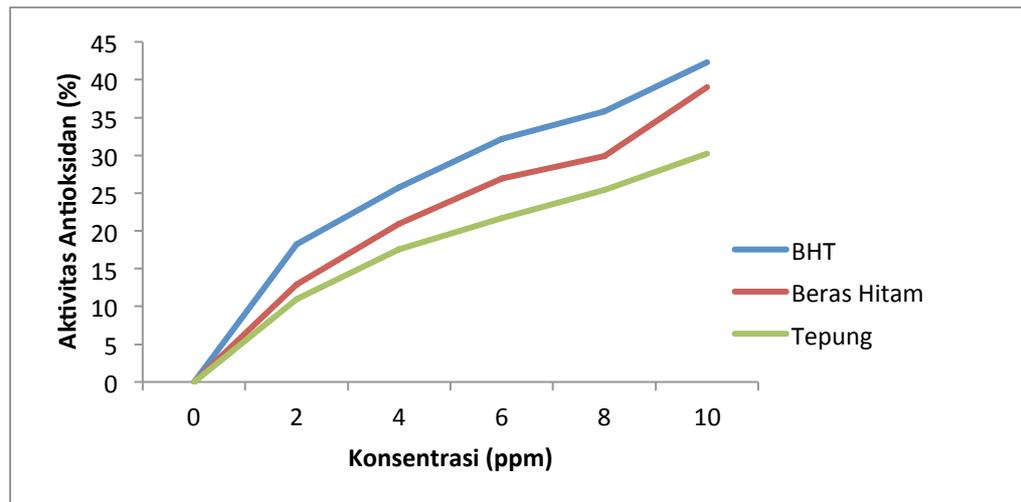
dilarutkan dalam metanol p.a. hingga diperoleh konsentrasi 0, 100, 200, 400, 600 dan 800 ppm. Kontrol menggunakan Antioksidan sintetik BHT (0, 2, 4, 6 dan 8 ppm). Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan kristal DPPH dalam pelarut metanol p.a. dengan konsentrasi 1 mM. Proses pembuatan larutan DPPH 1 mM dilakukan dalam suhu rendah dan terlindung dari cahaya matahari. Larutan ekstrak dan larutan antioksidan BHT masing- masing diambil 4,50 ml dan direaksikan dengan 500 µl larutan DPPH 1 mM dalam tabung reaksi yang berbeda. Reaksi berlangsung pada suhu 37°C selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi larutan blanko diukur untuk melakukan perhitungan persen inhibisi. Larutan blanko dibuat dengan mereaksikan 4,50 ml pelarut metanol dengan 500 µl larutan DPPH 1 mM dalam tabung reaksi. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen inhibisi, yang dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub> (*inhibitor concentration* 50%) dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel (ekstrak ataupun BHT) yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50%.

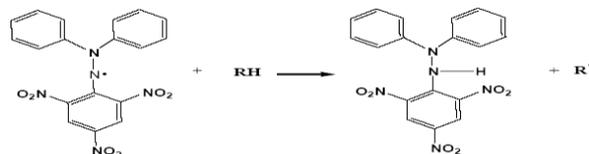
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam (Suhartono, 2002). Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen. Adanya kekhawatiran akan kemungkinan efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang sangat dibutuhkan (Rohdiana, 2001; Sunarni, 2005). Hasil pengamatan perubahan aktivitas antioksidan pada beras hitam dan tepung beras hitam, dapat dilihat pada Gambar 1 berikut



Gambar 1. Perbedaan aktivitas antioksidan antara standart/BHT, beras hitam dan tepung beras hitam

Uji antioksidan pada ekstrak beras hitam dan tepung beras hitam dilakukan dengan menggunakan metode uji DPPH (*di phenyl picryl hydrazyl*). Uji aktivitas antioksidan DPPH berdasarkan reaksi penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan melalui mekanisme donasi atom hydrogen sehingga akan dihasilkan DPPH-H (bentuk non radikal) dan menyebabkan terjadinya penurunan intensitas warna ungu dari DPPH (Windono dkk, 2004).



Gambar 2. Reaksi Penangkapan Radikal oleh DPPH (Molyneux, 2004)

Metode DPPH merupakan metode yang sering digunakan untuk penentuan aktivitas antioksidan dengan penggunaan radikal bebas DPPH yang stabil dan memiliki warna ungu yang ditunjukkan oleh pita absorpsi dalam pelarut metanol pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Radikal bebas DPPH bersifat peka terhadap cahaya, oksigen dan pH, tetapi bersifat stabil dalam bentuk radikal sehingga memungkinkan untuk dilakukan pengukuran antioksidan (Molyneux, 2004).

Metode uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH ini dipilih dikarenakan metode ini sederhana, mudah, cepat, peka dan hanya membutuhkan sedikit sampel untuk bahan analisa. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas DPPH. Hal ini ditandai

dengan terjadinya perubahan warna ungu menjadi kuning pucat (Molyneux, 2004). Perubahan warna terjadi pada larutan BHT yang diberi larutan DPPH 1 mM dan di inkubasi selama 30 menit pada suhu 37 ° C. Perubahan warna juga terjadi pada ekstrak bahan beras hitam dan tepung beras hitam yang diuji. Perubahan warna pada ekstrak bahan tersebut menunjukkan adanya aktivitas antioksidan pada beras hitam, dan tepung beras hitam.

Aktivitas antioksidan pada beras hitam dan tepung beras hitam ditandai dengan adanya perubahan warna ungu pekat menjadi kuning pucat dan selanjutnya dilakukan pembacaan dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm. Dari hasil pembacaan alat didapatkan nilai absorbansi kemudian dilakukan perhitungan untuk mendapatkan nilai persen inhibisi/aktivitas antioksidan. Persen inhibisi pada peredaman radikal bebas merupakan kemampuan suatu bahan dalam menghambat radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi bahan yang diuji, sedangkan IC<sub>50</sub> merupakan parameter yang sering digunakan dalam menyatakan hasil dari pengujian DPPH. Nilai IC<sub>50</sub> dapat didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC<sub>50</sub> yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin besar (Molyneux, 2004).

BHT digunakan sebagai pembanding, BHT digunakan sebagai kontrol positif dalam konsentrasi sama dengan konsentrasi larutan uji. Nilai IC<sub>50</sub> BHT sebagai pembanding dalam penelitian ini adalah sebesar 5.035 ppm. Antioksidan BHT merupakan antioksidan yang memiliki aktivitas yang sangat kuat (<50 ppm) menurut klasifikasi Blois (1958) diacu dalam Molyneux (2004).

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub> yang dihasilkan untuk beras hitam sebesar 15.248 ppm dan nilai IC<sub>50</sub> untuk tepung beras hitam 20.178 ppm. Konsentrasi ekstrak yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan ekstrak dalam merendam radikal bebas semakin besar pula atau dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan bahan tersebut semakin besar yang ditandai dengan persen inhibisinya yang semakin besar. Hasil ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Hanani, dkk. (2005) yang menyatakan bahwa persentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Nilai IC<sub>50</sub> dalam bahan dapat dilihat dalam Tabel berikut

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antiosidan Pada Beras Hitam Dan Tepung Beras Hitam

<b>Sampel</b>	<b>Aktivitas Antioksidan IC<sub>50</sub> (ppm)</b>
BHT (standart)	5,350
Beras Hitam	15,248
Tepung Beras Hitam	20,178

Nilai IC<sub>50</sub> BHT (standar) adalah 5.350 ppm, Nilai IC<sub>50</sub> untuk beras hitam sebesar 15.248 ppm dan Nilai IC<sub>50</sub> untuk tepung beras hitam sebesar 20.178 ppm . Dari hasil pengamatan tersebut ketiga bahan memiliki nilai IC<sub>50</sub> yang berbeda.

Beras hitam memiliki nilai IC<sub>50</sub> lebih kecil dibandingkan dengan tepung beras hitam. Nilai IC<sub>50</sub> yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin besar. Adanya penurunan antioksidan pada tepung beras hitam di sebabkan adanya proses pengeringan saat pengolahan beras hitam menjadi tepung beras hitam. Proses pengeringan mempengaruhi kandungan antioksidan dalam suatu bahan. Hal ini terlihat dari hasil uji antioksidan yang menunjukkan perbedaan hasil. Proses pengolahan tepung beras hitam melibatkan faktor suhu dan lama pengeringan, suhu merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan di dalam suatu bahan. Kecepatan oksidasi lemak yang dibiarkan di udara akan bertambah dengan kenaikan suhu dan akan berkurang dengan penurunan suhu. Kecepatan akumulasi peroksida selama proses aerasi minyak pada suhu 100-115°C adalah dua kali lebih besar dibandingkan pada suhu 10°C.(Anonim , 2012).

Suhu proses pengeringan sangat mempengaruhi aktivitas antioksidan, hal ini yang menyebabkan adanya penurunan aktivitas antioksidan pada produk tepung beras hitam. Proses pengeringan pada pembuatan tepung beras hitam mempengaruhi kandungan aktivitas antioksidan pada beras hitam, hal ini dikarenakan pada proses pengeringan terdapat penguapan yang diakibatkan panas. Proses pengeringan yang meliputi pengaturan suhu dan waktu yang tepat dapat mempertahankan kandungan aktivitas antioksidan tepung beras hitam.

Kandungan antioksidan didalam beras hitam dan tepung beras hitam sangat bermanfaat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap penyakit, memperbaiki kerusakan sel hati (hepatitis, chirosis), mencegah gangguan fungsi ginjal, mencegah kanker/tumor, memperlambat penuaan sebagai antioksidan, membersihkan kolesterol dalam darah,

mencegah anemia dan menurut Hartati *et al* (2017<sup>b</sup>) beras hitam dapat berfungsi sebagai imunomodulator.

## KESIMPULAN

Beras hitam (*Oryza sativa L.indica*) yang diolah menjadi tepung beras memiliki aktivitas antioksidan yang berbeda. Perubahan aktivitas antioksidan disebabkan adanya proses pengeringan pada tepung beras hitam.

Beras hitam dan tepung beras hitam dapat menjadi salah satu produk pangan yang mengandung antioksidan alami yang dapat bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan persen inhibisi yang dihasilkan untuk beras hitam sebesar 39.22 % dan tepung beras hitam sebesar 30.99%.

Konsentrasi aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibition Concentration* 50). Beras hitam mempunyai nilai IC<sub>50</sub> sebesar 15.248 ppm dan nilai IC<sub>50</sub> tepung beras hitam sebesar 20.178 ppm. Aktivitas antioksidan yang terdapat dalam beras hitam dan tepung beras hitam digolongkan sangat aktif. Perubahan aktivitas antioksidan pada kedua bahan tersebut disebabkan adanya proses pengeringan pada proses pengolahan dari beras hitam menjadi tepung beras hitam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim<sup>a)</sup> (2012). Menu Beras Hitam Solusi Makanan Pengganti Beras Putih Untuk Diabetes, [Http://Aguskrisnoblog.Wordpress.Com](http://Aguskrisnoblog.Wordpress.Com)
- Anonim (2012). Tepung Beras, [Http://TepungBeras\\_ForumPositifDariDahlanforum.Htm.Com](http://TepungBeras_ForumPositifDariDahlanforum.Htm.Com)
- Darusman LK, Sajuthi D, Sutriah K, Pamungkas D.(1995). Naskah Seminar: Ekstraksi Komponen Bioaktif Sebagai Bahan Obat Dari Karang-Karangan, Bunga Karang Dan Ganggang Laut Di Perairan Pulau Pari Kepulauan Seribu. Buletin Kimia. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Greenvald, P., Kelloff, C, Burch-Whitman, C., & Kramer, B. S. (1995). Chemoprevention. *C A: A Cancer Journal For Clinicians*,45, 31-49
- Hartati, F.K. (2016<sup>a</sup>). Anti-Hypercholesterolemia Effect of Black Rice Bran in Male Wistar Rat. *Proceeding International Conference*. UWM Surabaya.
- Hartati, F.K. (2016<sup>b</sup>). Aktivitas Anti-inflamasi Ekstrak Etanol dan Air Beras Hitam (*Oryza sativa L. indica*) Pada Tikus Jantan Wistar. *Rekapangan* 10 (1).
- Hartati, F.K., Simon, B.W., Tri Dewanti, M. dan Muhaimin, R. 2017<sup>a</sup>. Anti-Inflammatory evaluation of black rice extract inhibits TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-6 cytokines produced by immunocompetent cells. *Food and Agricultural Immunology*, 28(6). <http://dx.doi.org/10.1080/09540105.2017.1332006>.

## FOODSCITECH

ISSN : 2622-1985 E-ISSN : 2622-4127

- Hartati, F.K., Simon, B.W., Tri Dewanti, M. dan Muhaimin, R. (2017<sup>b</sup>). Antioxidant Activity and Immunomodulator of Indonesia Black Rice ((*Oryza sativa* L. *indica*). Global Journal of Pharmtech Vol.8. <http://www.jgpt.co.in/index.php/jgpt/issue/view/108>
- Hanani E, Mun'im B, Sekarini R. (2005). Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callispongia* Sp Dari Kepulauan Seribu. Majalah Ilmu Kefarmasian 2(3):127-133.
- Molyneux, P. (2004). The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity