



ITS
Institut
Teknologi
Sepuluh Nopember

SKRIPSI - SK234801

**PENGARUH VARIASI VOLUME PELARUT ETANOL
TERHADAP KANDUNGAN TOTAL FENOLAT DAN
FLAVONOID SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA
EKSTRAK BERAS BERPIGMEN**

**SIFRA THRIVELIA KRISNIA AYU
NRP 5004211001**

Dosen Pembimbing I
Zjhra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si.
NIP. 19900901 201504 2 001

Dosen Pembimbing II
Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc.
NIP. 19810809 200812 1 001

Sarjana Kimia
Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Analitika Data
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
2025



ITS
Institut
Teknologi
Sepuluh Nopember

FINAL PROJECT - SK234801

**EFFECT OF ETHANOL SOLVENT VOLUME
VARIATION ON TOTAL PHENOLIC CONTENT, TOTAL
FLAVONOID CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY
IN PIGMENTED RICE EXTRACTS**

SIFRA THRIVELIA KRISNIA AYU
NRP 5004211001

Supervisor
Zjahra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si.
NIP. 19900901 201504 2 001

Co-Supervisor
Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc.
NIP. 19810809 200812 1 001

Bachelor of Chemistry
Chemistry Department
Faculty of Science and Data Analytics
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
2025



SKRIPSI - SK234801

**PENGARUH VARIASI VOLUME PELARUT ETANOL
TERHADAP KANDUNGAN TOTAL FENOLAT DAN
FLAVONOID SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA
EKSTRAK BERAS BERPIGMENT**

**SIFRA THRIVELIA KRISNIA AYU
NRP 5004211001**

**Dosen Pembimbing I
Zjhra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si.
NIP. 19900901 201504 2 001**

**Dosen Pembimbing II
Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc.
NIP. 19810809 200812 1 001**

**Sarjana Kimia
Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Analitika Data
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
2025**



FINAL PROJECT - SK234801

**EFFECT OF ETHANOL SOLVENT VOLUME
VARIATION ON TOTAL PHENOLIC CONTENT, TOTAL
FLAVONOID CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY
IN PIGMENTED RICE EXTRACTS**

SIFRA THRIVELIA KRISNIA AYU
NRP 5004211001

Supervisor
Zjhra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si.
NIP. 19900901 201504 2 001

Co-Supervisor
Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc.
NIP. 19810809 200812 1 001

Bachelor of Chemistry
Chemistry Department
Faculty of Science and Data Analytics
Institut Teknologi Sepuluh Nopember
2025

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH VARIASI VOLUME PELARUT ETANOL TERHADAP KANDUNGAN TOTAL FENOLAT DAN FLAVONOID SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK BERAS BERPIGMENT

SKRIPSI

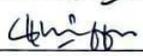
Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Sains pada
Program Studi S-1 Kimia
Departemen Kimia
Fakultas Sains dan Analitika Data
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh : SIFRA THRIVELIA KRISNIA AYU
NRP. 5004211001

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir

- | | |
|---|---------------|
| 1. Zjahra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si. | Pembimbing |
| 2. Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc. | Ko-pembimbing |
| 3. Sri Fatmawati, M.Sc., Ph.D. | Penguji |
| 4. Prof. Dra. Ratna Ediati, M.S., Ph.D. | Penguji |









APPROVAL SHEET

EFFECT OF ETHANOL SOLVENT VOLUME VARIATION ON TOTAL PHENOLIC CONTENT, TOTAL FLAVONOID CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN PIGMENTED RICE EXTRACTS

FINAL PROJECT REPORT

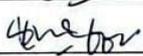
Submitted to fulfill one of the requirements
for obtaining a degree Bachelor of Science at
Undergraduate Study Program of Chemistry
Department of Chemistry
Faculty of Science and Data Analytics
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

By : SIFRA THRIVELIA KRISNIA AYU
NRP. 5004211001

Approved by Final Project Proposal Examiner Team:

- | | |
|---|------------|
| 1. Zjahra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si. | Advisor |
| 2. Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc. | Co-Advisor |
| 3. Sri Fatmawati, M.Sc., Ph.D. | Examiner |
| 4. Prof. Dra. Ratna Ediati, M.S., Ph.D. | Examiner |











PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini:

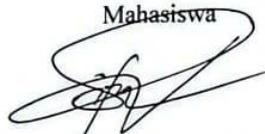
Nama mahasiswa / NRP : Sifra Thrivelia Krisnia Ayu /5004211001
Departemen : Kimia
Dosen Pembimbing I / NIP : Zjhra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si./199009012015042001
Dosen Pembimbing II / NIP : Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc./198108092008121001

dengan ini menyatakan bahwa Tugas Akhir dengan judul “Pengaruh Variasi Volume Pelarut Etanol Terhadap Kandungan Total Fenolat dan Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Beras Berpigmen” adalah hasil karya sendiri, bersifat orisinal, dan ditulis dengan mengikuti kaidah penulisan ilmiah.

Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan ketentuan yang berlaku di Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Surabaya, 23 Juli 2025

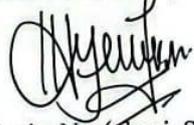
Mahasiswa



(Sifra Thrivelia Krisnia Ayu)
NRP. 5004211001

Mengetahui,

Dosen Pembimbing I



(Zjhra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si.)
NIP. 19900901 201504 2 001

Dosen Pembimbing II



(Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc.)
NIP. 19810809 200812 1 001

STATEMENT OF ORIGINALITY

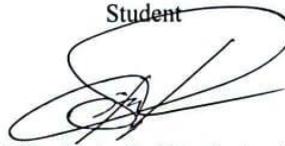
The undersigned below:

Name of student / NRP : Sifra Threlvia Krisnia Ayu / 5004211001
Department : Chemistry
Advisor I / NIP : Zjahra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si. / 199009012015042001
Advisor II / NIP : Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc. / 198108092008121001

hereby declare that the Final Project with the title of "Effect of Ethanol Solvent Concentration Variation On Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content And Antioxidant Activity In Pigmented Rice Extracts" is the result of my own work, is original, and is written by following the rules of scientific writing. If in the future there is a discrepancy with this statement, then I am willing to accept sanctions in accordance with the provisions that apply at Institut Teknologi Sepuluh Nopember.

Surabaya, 23 July 2025

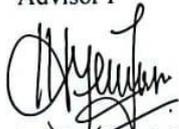
Student



(Sifra Threlvia Krisnia Ayu)
NRP. 5004211001

Acknowledged,

Advisor I



(Zjahra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si.)
NIP. 19900901 201504 2 001

Advisor II



(Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc.)
NIP. 19810809 200812 1 001

PENGARUH VARIASI VOLUME PELARUT ETANOL TERHADAP KANDUNGAN TOTAL FENOLAT DAN FLAVONOID SERTA AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK BERAS BERPIGMENT

Nama Mahasiswa / NRP. : Sifra Thrivelia Krisnia Ayu / 5004211001
Departemen : Kimia
Dosen Pembimbing : Zjakra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si.
Dosen Co-Pembimbing : Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc.

Abstrak

Padi (*Oryza sativa*) merupakan tanaman jenis biji-bijian atau serealia yang berasal dari Asia bagian timur dan India bagian utara. Berdasarkan struktur kernel padi, bagian yang menjadi produk utama yaitu bulir beras. Bulir beras (*rice grain*) mengandung beberapa senyawa bioaktif jenis antioksidan seperti asam fenolat, flavonoid, tokoferol, tokotrienol, antosianin, proantosianidin, γ -oryzanol, dan asam fitat. Pada penelitian kali ini, terdapat lima jenis beras beras berpigmen hasil persilangan varietas baru dengan kode A, B, C, D dan E. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam bulir beras, terutama senyawa fenolat dan flavonoid dapat dipisahkan melalui proses ekstraksi tanpa pemanasan (maserasi) karena senyawa bioaktif mudah terdegradasi pada suhu tinggi menggunakan pelarut etanol dengan variasi volume 20, 40, 60, 80, dan 100% v/v. Hasil pengujian kandungan total fenolat (TPC) menggunakan reagen Folin Ciocalteu (FC) dan standar asam galat pada panjang gelombang maksimum 780 nm, didapatkan data kandungan fenolat total tertinggi pada variasi A-EtOH-80, B-EtOH-100, C-EtOH-100, D-EtOH-60, dan E-EtOH-100. Hasil pengujian kandungan total flavonoid (TFC) menggunakan reagen $AlCl_3$ dan standar kuersetin pada panjang gelombang maksimum 510 nm, didapatkan data kandungan flavonoid total tertinggi pada variasi A-EtOH-100, B-EtOH-100, C-EtOH-100, D-EtOH-100, dan E-EtOH-80. Untuk pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan dua jenis metode yang berbeda yaitu DPPH dan ABTS. Pada hasil uji DPPH, hasil tertinggi didapatkan pada variasi A-EtOH-40, B-EtOH-40, C-EtOH-100, D-EtOH-60, dan E-EtOH-100. Sedangkan pada hasil uji ABTS, hasil tertinggi didapatkan pada variasi A-EtOH-40, B-EtOH-80, C-EtOH-100, D-EtOH-60, dan E-EtOH-100. Berdasarkan pengujian korelasi terhadap keempat jenis parameter pengujian, dihasilkan korelasi positif antara TPC dan TFC pada kode jenis beras A, B, C, dan E, namun beras D menunjukkan korelasi negatif. Selain itu, terdapat pula hubungan korelasi TPC dengan ABTS yang lebih dominan dibanding dengan DPPH, serta hubungan korelasi TFC dengan DPPH lebih dominan dibanding dengan ABTS yang didasarkan oleh beberapa faktor yang mempengaruhi.

Kata kunci: *Antioksidan, Beras, Etanol, Fenolat, Flavonoid*

EFFECT OF ETHANOL SOLVENT VOLUME VARIATION ON TOTAL PHENOLIC CONTENT, TOTAL FLAVONOID CONTENT, AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN PIGMENTED RICE EXTRACTS

Student Name / NRP. : Sifra Thrivelia Krisnia Ayu / 5004211001
Department : Chemistry
Advisor : Zjakra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si.
CO- Advisor : Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc.

Abstract

Rice (*Oryza sativa*) is a grain or cereal crop native to East Asia and Northern India. The primary product derived from its kernel structure is the rice grain. These rice grains contain several bioactive antioxidant compounds, including phenolic acids, flavonoids, tocopherols, tocotrienols, anthocyanins, proanthocyanidins, γ -oryzanol, and phytic acid. In this study, five types of pigmented rice from new cross-bred varieties coded A, B, C, D, and E were used. The bioactive compounds found in rice grains, especially phenolics and flavonoids, were isolated through a non-heating extraction process (maceration). This method was chosen because bioactive compounds are easily degraded at high temperature. Ethanol was employed as the solvent, with varying concentrations of 20%, 40%, 60%, 80%, and 100% v/v. Total phenolic content (TPC) testing using Folin Ciocalteu (FC) reagent and gallic acid standard at a maximum wavelength of 780 nm yielded the highest value for variations A-EtOH-80, B-EtOH-100, C-EtOH-100, D-EtOH-60, and E-EtOH-100. Total flavonoid content (TFC) testing using $AlCl_3$ reagent and quercetin standard at a maximum wavelength of 510 nm yielded the highest value for variations A-EtOH-100, B-EtOH-100, C-EtOH-100, D-EtOH-100, and E-EtOH-80. Antioxidant activity was assessed using two distinct methods, DPPH and ABTS. For the DPPH assay, the highest results were observed in variations A-EtOH-40, B-EtOH-40, C-EtOH-100, D-EtOH-60, and E-EtOH-100. Conversely, in the ABTS assay, the highest results were found in variations A-EtOH-40, B-EtOH-80, C-EtOH-100, D-EtOH-60, and E-EtOH-100. Based on the correlation testing of the four types of testing parameters, a positive correlation was found between TPC (Total Phenolic Content) and TFC (Total Flavonoid Content) in rice varieties A, B, C, and E. However, rice variety D showed a negative correlation between TPC and TFC. Furthermore, there was a more dominant correlation between TPC and ABTS compared to DPPH, while the correlation between TFC and DPPH was more dominant compared to ABTS. These findings are attributed to several influencing factors.

Keywords: *Antioxidant, Ethanol, Flavonoid, Phenolic, Rice grain*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga naskah skripsi yang berjudul “Pengaruh Variasi Volume Pelarut Etanol Terhadap Kandungan Total Fenolat dan Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Beras Berpigmen” dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Dalam penyusunan dan penyelesaian naskah skripsi ini, penulis mendapatkan doa, dukungan, semangat serta bimbingan dari berbagai berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu penulis sangat berterima kasih kepada:

1. Ibu Zjhra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing I dan Bapak Arif Fadlan, S.Si., M.Si., D.Sc. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan arahan, bimbingan, saran serta dukungan selama proses penyusunan naskah skripsi ini.
2. Bapak Wahyu Prasetyo Utomo, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku kepala Departemen Kimia FSAD ITS atas fasilitas yang telah diberikan sehingga naskah skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Bapak Prof. Adi Setyo Purnomo, M.Sc., Ph.D. selaku dosen wali yang telah memberikan arahan selama proses perkuliahan dan memberikan izin penggunaan laboratorium.
4. Bapak Dr. Triyanda Gunawan, S.Si. selaku kepala laboratorium Kimia Bahan Bakar dan Bapak Prof. Mardi Santoso, Ph.D. selaku kepala laboratorium Kimia Bahan Alam yang telah memberikan izin penggunaan laboratorium.
5. Segenap jajaran dosen dan staf tenaga kependidikan Departemen Kimia ITS atas ilmu dan bantuan yang telah diberikan selama proses pembelajaran di Departemen Kimia ITS.
6. Kedua orang tua dan seluruh anggota keluarga di rumah yang selalu memberi doa, dukungan, serta semangat yang tiada henti.
7. Teman-teman anggota Laboratorium Kimia Bahan Bakar yang selalu memberikan support dan dukungan selama proses penyusunan naskah skripsi ini.
8. Teman-teman Kimia angkatan 2021 (Chemauffer) atas dukungan, doa, dan bantuan selama belajar di Departemen Kimia ITS.
9. Semua pihak yang ikut membantu dalam penyusunan dan penyelesaian tugas akhir ini yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa naskah skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis terbuka terhadap kritik dan saran yang bersifat membangun terhadap naskah skripsi ini. Semoga tulisan ini dapat menjadi inspirasi dan bermanfaat bagi semua pembaca terutama yang berkaitan dengan bidang Kimia Bahan Makanan.

Surabaya, 23 Juli 2025

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	5
APPROVAL SHEET	6
PERNYATAAN ORISINALITAS	7
STATEMENT OF ORIGINALITY	8
KATA PENGANTAR	11
DAFTAR ISI	12
DAFTAR GAMBAR	14
DAFTAR TABEL	15
BAB I PENDAHULUAN	16
1.1 Latar Belakang	16
1.2 Rumuan Permasalahan	18
1.3 Batasan Masalah	18
1.4 Tujuan	18
1.5 Manfaat	18
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	20
2.1 Penelitian Terdahulu	21
2.2 Dasar Teori	21
2.2.1 Beras	21
2.2.2 Ekstraksi	23
2.2.3 Senyawa Fenolat	24
2.2.4 Senyawa Flavonoid	28
2.2.5 Aktivitas Antioksidan	31
2.2.6 Spektrofotometer UV-Vis	34
2.2.7 Analisis Statistik	35
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	38
3.1 Metode yang Digunakan	38
3.2 Bahan dan Peralatan yang Digunakan	38
3.2.1 Alat	38
3.2.2 Bahan	38
3.3 Urutan Pelaksanaan Penelitian	38
3.3.1 Preparasi dan Ekstraksi Beras Berpigmen	39
3.3.2 Pengukuran Kandungan Fenolat	39
3.3.3 Pengukuran Kandungan Flavonoid	39
3.3.4 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	39
3.3.5 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS	39
3.3.6 Analisis Statistik	40
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	41
4.1 Ekstraksi Beras	41
4.2 Kandungan Total Fenolat (TPC) dan Total Flavonoid (TFC) Ekstrak Beras	42
4.3 Aktivitas dan Kandungan Antioksidan Ekstrak Beras	50
4.4 Data Hasil Uji Korelasi	57
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	63
5.1 Kesimpulan	63
5.2 Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	64

LAMPIRAN	69
BIODATA PENULIS	94

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Skema Kernel Beras	22
Gambar 2.2 Struktur Kimia: a) amilosa dan b) amilopektin	22
Gambar 2.3 Struktur Kimia: a) Antosianin; b) Proantosianidin.....	23
Gambar 2.4 Ringkasan Reaksi pada Pengujian Kandungan Fenolat Total	28
Gambar 2.5 Struktur Kompleks Pembentuk Reagen Folin-Ciocalteau (F-C).....	28
Gambar 2. 6 Struktur Dasar Flavonoid	29
Gambar 2.7 Beberapa Contoh Senyawa Flavonoid	30
Gambar 2.8 (a) Flavonoid-O-Glikosida; (b) Flavonoid-C-Glikosida.....	30
Gambar 2. 9 Gugus Flavonoid yang Berkaitan dengan Aktivitas Biologis	31
Gambar 2.10 Ringkasan Reaksi pada Pengujian Kandungan Flavonoid Total.....	32
Gambar 2. 11 Struktur Senyawa DPPH (2,2'-difenil-pikrilhidrazil).....	34
Gambar 2. 12 Struktur Senyawa ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat)	35
Gambar 2. 13 Skema Spektrofotometer UV-Vis.....	36
Gambar 4.1 Perbandingan Sampel.....	42
Gambar 4.2 Bubuk Beras	42
Gambar 4.3 Hasil Larutan Ekstrak Maserasi Beras Berpigmen.....	43
Gambar 4.4 Struktur Asam Galat ($C_7H_6O_5$)	44
Gambar 4.5 Mekanisme Reaksi pada Pengujian Kandungan Fenolat Total	45
Gambar 4.6 Struktur Senyawa Kuersetin ($C_{15}H_{10}O_7$).....	46
Gambar 4.7 Mekanisme Reaksi Senyawa pada Pengujian Kandungan Flavonoid Total.....	48
Gambar 4.8 Perbedaan Mekanisme Reaksi Antioksidan HAT dan ET.....	53
Gambar 4.9 Mekanisme Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	54
Gambar 4.10 Mekanisme Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS	56

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Jenis Variasi Ekstrak Beras.....	38
Tabel 4.1 Hasil Pengujian Total Fenolat Ekstrak Beras Menggunakan Pelarut Etanol.....	45
Tabel 4.2 Hasil Pengujian Total Flavonoid Ekstrak Beras Menggunakan Pelarut Etanol.....	48
Tabel 4.3 Perbandingan Data Hasil Pengujian Kandungan Total Fenolat dan Flavonoid.....	49
Tabel 4.4 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Beras.....	54
Tabel 4.5 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode ABTS Ekstrak Beras.....	56
Tabel 4.6 Perbandingan Data Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dan ABTS.....	57
Tabel 4. 7 Perbedaan Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan DPPH dan ABTS.....	58
Tabel 4.8 Kategori Koefisien Korelasi Metode Statistik.....	59
Tabel 4.9 Hasil Data Uji Korelasi Penelitian Terhadap TPC, TFC, DPPH, dan ABTS.....	60
Tabel 4.10 Hasil Data Uji Korelasi Penelitian Antara Pengujian TPC dan TFC.....	60
Tabel 4.11 Hasil Data Uji Korelasi Penelitian Antara Pengujian TPC dan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dan ABTS.....	61
Tabel 4.12 Hasil Data Uji Korelasi Penelitian Antara Pengujian TFC dan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dan ABTS.....	61

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi atau beras tergolong famili rumput-rumputan atau tumbuhan berbunga yaitu *Poaceae* yang banyak ditemukan di belahan bumi bagian Asia dan Afrika Barat tropis serta subtropis. Beras dimanfaatkan sebagai sumber karbohidrat utama bagi masyarakat Indonesia, selain umbi-umbian dan sagu (Purnama dkk., 2024). Selain makronutrien berupa karbohidrat, beras diketahui juga memiliki kandungan vitamin (tiamin atau vitamin B1, niasin atau vitamin B3, dan vitamin C), mineral (seng, fosfor, kalsium, magnesium, dan besi), serat, lemak, protein, dan berbagai senyawa bioaktif seperti antioksidan, fitosterol, asam fitat, lignan, dan asam γ -aminobutirat (GABA) (Hernawan dan Meylani, 2016). Banyaknya kandungan nutrisi dan jenis yang beragam membuat beras banyak diminati. Masyarakat Indonesia mengenal beragam jenis beras populer, seperti beras putih, beras merah, beras coklat, beras hitam, beras basmati, beras ketan, beras pera, dan beras pandan wangi (Azis, 2015). Berdasarkan keberadaan pigmen alami pada lapisan aleuron atau bekatulnya, beras diklasifikasikan menjadi beras berpigmen dan beras non-pigmen. Beras berpigmen memiliki warna merah, ungu, atau hitam yang disebabkan oleh keberadaan pigmen alami berupa senyawa fenolat, seperti antosianin dan proantosianidin. Adapun beras non-pigmen berwarna putih karena proses penggilingan yang menghilangkan lapisan bekatul dan aleuron yang kaya pigmen, dimana hanya tersisa endosperma yang sebagian besar terdiri atas pati dan berwarna putih, sehingga kandungan antosianinnya sangat rendah atau bahkan tidak ada.

Pemerintah Indonesia melalui lembaga penelitian seperti Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian (Balitbangtan) sejak tahun 1943 rutin meningkatkan pengembangan varietas unggul baru (VUB) padi untuk mendukung swasembada pangan (Swastika dkk., 2021). VUB diharapkan memiliki produktivitas tinggi, tahan terhadap hama, adaptif, serta mampu menghasilkan kualitas gabah hingga nasi yang baik sesuai dengan preferensi konsumen. Berdasarkan data oleh Badan Pusat Statistik (BPS) bidang Pertanian, Kehutanan, dan Perikanan menyebutkan bahwa produksi padi pada tahun 2024 mengalami peningkatan yang mencapai angka 53 juta ton dengan luas lahan panen 10 juta hektar. Adanya peningkatan potensi hasil varietas unggul baru (VUB) yang selaras dengan peningkatan produktivitas padi (ton/hektar) dimanfaatkan guna mendukung upaya pemerintah dalam mencapai ketahanan pangan nasional. Sumber karbohidrat dan tulang punggung pangan global oleh masyarakat Indonesia hingga kini masih cenderung lebih terfokus pada beras non-pigmen atau beras putih. Namun, Seiring dengan peningkatan kesadaran masyarakat akan kesehatan, beras berpigmen semakin diminati karena bukan hanya sekedar sumber energi tetapi juga kandungan senyawa bioaktifnya, terutama pada fenolat dan flavonoid yang mengandung antioksidan kuat dimana senyawa tersebut berperan vital dalam menangkal radikal bebas yang menjadi stres oksidatif dalam tubuh makhluk hidup serta mampu mengurangi risiko penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit jantung, dan diabetes. Selain itu, Pigmen alami yang terdapat dalam beras berpigmen seperti senyawa antosianin dan proantosianidin tidak hanya memberi warna secara fisik, tetapi juga merupakan indikator potensi kesehatan yang signifikan. Penelitian terdahulu telah menunjukkan bahwa ekstrak beras berpigmen memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding beras non-pigmen. Hal itu menjadikan beras berpigmen menjadi kandidat kuat sebagai pangan fungsional. Keberagaman varietas beras berpigmen mempengaruhi kandungan makronutrien maupun senyawa bioaktif yang terdapat di dalam beras tersebut. Varietas beras berpigmen baru merupakan hasil pemuliaan dengan tujuan karakteristik tertentu yang kemungkinan besar memiliki profil senyawa fenolat, flavonoid, dan antioksidan yang berbeda dari varietas yang pernah diteliti sebelumnya. Pada tahun 2022, Chen dkk. menyebutkan

kapasitas bioaktif dan antioksidan pada beras hitam signifikan lebih tinggi dibanding beras merah dan beras putih. Sementara itu, menurut Arifin dkk. (2023) beras merah memiliki kapasitas antioksidan lebih tinggi dibanding beras hitam dan beras putih. Hal tersebut membuktikan bahwa tiap varietas baru pada beras berpigmen memerlukan pengujian spesifik mengenai senyawa fenolat, flavonoid, serta aktivitas antioksidannya. Dengan pengujian spesifik, potensi nutrisi dan fungsional dari varietas baru dapat dimaksimalkan sesuai tujuan pemuliannya. Pengujian komposisi dan aktivitas antioksidan pada varietas beras berpigmen baru juga dapat membuka peluang bagi pengembangan produk pangan inovatif dan bernilai tambah dari varietas beras berpigmen baru, berkontribusi mendukung pertanian lokal dan meningkatkan kesehatan masyarakat.

Kelompok senyawa fenolat dalam beras menjadi komponen bioaktif dengan persentase terbesar yang berpengaruh pada aktivitas antioksidan alami beras. Fenolat yang terdistribusi pada tumbuhan berpotensi melawan spesies oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species/ROS*) ataupun spesies nitrogen reaktif (*Reactive Nitrogen Species/RNS*) dengan menghambat inisiasi, memecah reaksi berantai, dan menekan pembentukan radikal bebas (Salim dkk., 2020). Berdasarkan kerangka dasarnya, fenolat terbagi menjadi beberapa macam salah satunya adalah flavonoid dengan struktur C6-C3-C6 (Lattanzio, 2013). Flavonoid merupakan senyawa kelompok fenolat terbanyak pada tumbuhan yang berperan sebagai antioksidan alami. Senyawa antioksidan atau senyawa bioaktif pada bulir beras dapat dipisahkan melalui ekstraksi. Ekstraksi merupakan metode pemisahan yang memerlukan pemilihan pelarut untuk memperoleh hasil ekstrak secara optimum. Pemilihan pelarut didasarkan pada jenis kepolaran senyawa bioaktif yang terdapat pada sampel bulir beras agar dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Echenique dkk. (2024) metode ekstraksi beras menggunakan pemanasan, seperti soxhlet dapat mempengaruhi presentase kadar senyawa pada sampel beras. Maka dari itu, sampel beras diperkirakan menghasilkan *yield* optimal apabila dilakukan ekstraksi metode dingin. Salah satu metode ekstraksi dingin yang umum digunakan adalah maserasi. Menurut Badaring dkk. (2020) maserasi merupakan suatu metode dengan cara memasukkan serbuk sampel (*simplisia*) dan pelarut ke dalam wadah inert pada suhu kamar. Pelarut yang seringkali digunakan dalam ekstraksi maserasi bulir beras diantaranya adalah air, pelarut organik (etanol, metanol, n-heksana, aseton, petroleum eter (PE)), dan larutan alkali (NaOH dan Na₂CO₃) (Cai dkk., 2023). Penelitian sebelumnya telah dilakukan ekstraksi maserasi beras berpigmen menggunakan pelarut etanol (*polar*), dimana diketahui senyawa yang terkandung dalam beras didominasi oleh senyawa yang bersifat polar, sehingga pemilihan etanol sebagai pelarut adalah tepat dengan persentase *yield* sebesar 99,03 ± 0,68% (Echenique dkk., 2024). Mengoptimalkan proses ekstraksi bertujuan mendapatkan kandungan senyawa bioaktif tertinggi dan aktivitas antioksidan dengan kadar terbaik. Apabila proses ekstraksi tidak terjadi pada volume pelarut optimal, dimungkinkan terjadi risiko pemborosan potensi pada varietas beras berpigmen.

Untuk mengetahui kadar fenolat total dilakukan pengujian *Total Phenolic Content* (TPC). Metode pengujian TPC yang seringkali digunakan adalah menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dalam suasana basa, serta asam galat sebagai senyawa standar dan Na₂CO₃ (natrium karbonat). Sedangkan untuk kadar flavonoid total ditentukan melalui pengujian *Total Flavonoid Content* (TFC) menggunakan metode kolorimetri yakni dengan penambahan AlCl₃ sebagai reagen, kuersetin sebagai senyawa standar, NaNO₂, NaOH, dan etanol (Iling dan Iman, 2023). Keduanya berkaitan dengan aktivitas antioksidan, yang dapat dianalisis menggunakan metode seperti DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) dan ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat) yang didasarkan pada perbedaan mekanisme reaksinya (Arifin dkk., 2019). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ye dkk. (2016) mengenai pengujian aktivitas antioksidan pada *indica* dan *japonica brown rice* menggunakan pengujian

TPC, TFC, dan ABTS menghasilkan data TPC dan TFC pada kedua varietas berbeda secara signifikan, serta data antioksidan ABTS lebih mengacu pada TPC dibanding TFC. Hal tersebut berarti bahwa aktivitas antioksidan dominan disebabkan oleh senyawa fenolat non flavonoid. Pada penelitian yang dilakukan oleh Kusumawati dkk. (2022) dilakukan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, namun metode ini hanya dapat mengukur antioksidan yang larut pada pelarut organik, sehingga diperlukan adanya pembanding metode untuk mengetahui korelasi hubungan antara keempat jenis pengujian.

Berdasarkan uraian diatas, pada penelitian kali ini dilakukan pengujian kandungan senyawa bioaktif, khususnya total fenolat (TPC) menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan senyawa standar asam galat, serta penentuan total flavonoid (TFC) menggunakan metode kolorimetri $AlCl_3$ dan senyawa standar kuersetin. Dilakukan pula pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan mekanisme reaksi *hydrogen atom transfer* (HAT) dan metode ABTS dengan mekanisme reaksi *electron transfer* (ET) pada ekstrak beras berpigmen menggunakan metode maserasi pelarut etanol dengan variasi volume 20, 40, 60, 80, 100% v/v. Melalui penelitian kali ini, diharapkan tidak hanya sekedar replikasi melainkan juga eksplorasi senyawa bioaktif yang vital terhadap potensi unik varietas beras berpigmen baru, mengisi celah pengetahuan, dan membuka peluang baru bagi pangan fungsional di Indonesia dengan hasil data penelitian yang konsisten, linier, dan komprehensif.

1.2 Rumusan Permasalahan

Permasalahan pada penelitian ini adalah bagaimana cara untuk mendapatkan ekstrak dari bulir beras berpigmen secara optimum melalui metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol dengan beberapa variasi volume pelarut dan bagaimana pengaruh variasi volume pelarut terhadap kandungan senyawa bioaktif (fenolat dan flavonoid) serta aktivitas antioksidannya.

1.3 Batasan Permasalahan

Bagian padi yang digunakan adalah bulir beras. Dalam penelitian kali ini, terdapat lima jenis bulir beras berpigmen hasil persilangan varietas baru dengan kode A, B, C, D, dan E. Bulir beras berpigmen yang telah dikeringkan selanjutnya di ekstraksi maserasi menggunakan lima variasi volume pelarut yaitu etanol 20, 40, 60, 80, 100% v/v masing-masing selama 12 jam. Pengujian bioaktivitas pada kandungan total fenolat (TPC), total flavonoid (TFC), serta aktivitas antioksidan (DPPH dan ABTS) memiliki tujuan untuk mengetahui variasi volume pelarut yang paling optimum pada ekstraksi bulir beras berpigmen. Penyimpanan larutan hasil ekstraksi dilakukan pada suhu *chiller* dengan rentang $\pm 2-10^\circ C$. Selanjutnya, dilakukan pengujian kandungan bioaktivitas seperti kandungan total fenolat (TPC), kandungan flavonoid (TFC), dan aktivitas antioksidan (DPPH dan ABTS).

1.4 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui cara untuk mendapatkan ekstrak dari bulir beras berpigmen secara optimum melalui metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol dengan beberapa variasi volume (20, 40, 60, 80, 100% v/v) dan pengaruh variasi volume pelarut terhadap kandungan senyawa bioaktif (fenolat dan flavonoid) serta aktivitas antioksidannya melalui metode DPPH dan ABTS.

1.5 Manfaat

a. Bagi Peneliti

Mengetahui perbedaan kandungan kelompok senyawa metabolit sekunder, pengaruhnya terhadap jenis bioaktivitas, serta perannya dalam aktivitas antioksidan

pada varietas bulir beras baru. Selain itu, dapat diketahui volume pelarut yang optimum terhadap metode ekstraksi maserasi.

b. Bagi Masyarakat

Meningkatkan pengetahuan mengenai varietas bulir beras baru, yang terbagi menjadi beras berpigmen seperti beras merah, hitam, dan ungu, serta beras non pigmen yaitu beras putih yang dilengkapi informasi kandungan bioaktivitas dan aktivitas antioksidan yang dimilikinya, sehingga dapat meningkatkan mutu yang bermanfaat baik untuk kesehatan masyarakat.

c. Bagi Mahasiswa

Meningkatkan dorongan kepada mahasiswa untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa metabolit sekunder, ragam bioaktivitas, dan aktivitas antioksidan dengan berbagai jenis metode pengujian beserta reagensinya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penelitian Terdahulu

Riset yang dilakukan kali ini akan mengacu pada penelitian-penelitian sebelumnya, yang meliputi jenis beras berpigmen, variasi jenis pelarut, kandungan senyawa fenolat dan flavonoid, beserta kandungan antioksidan di dalamnya. Penelitian terdahulu digunakan sebagai rujukan dan pembanding bagi riset yang hendak dilakukan selanjutnya. Beberapa penelitian-penelitian rujukan pada riset ini dirangkum pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Hasil Penelitian Terdahulu

Nama Peneliti dan Tahun Penelitian	Judul Penelitian	Hasil Penelitian	Kelemahan Penelitian
Chen dkk., 2022	<i>Investigation of Flavonoid Components and Their Associated Antioxidant Capacity in Different Pigmented Rice Varieties</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Kapasitas antioksidan pada beras hitam dan merah lebih tinggi dibandingkan beras putih secara signifikan karena adanya kandungan flavonoid berupa katekin dan kuersetin. - Digunakan analisis UPLC (<i>Ultra High Performance Liquid Chromatography</i>) untuk memahami kapasitas antioksidan secara lebih terperinci dibanding HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>). - Hasil pengujian TPC (<i>Total Phenolic Acid</i>) secara berturut-turut ialah beras putih (55,24 -56,52 mg/100 g), beras merah (145,14 – 269,28 mg/100 g), serta beras hitam (166,47 – 647,14 mg/100 g). - Hasil pengujian TFC (<i>Total Flavonoid Acid</i>) secara berturut-turut ialah beras putih (<50 mg/100 g), beras merah (94,68 – 131,24 mg/100 g), serta beras hitam (112,89 – 325,75 mg/100 g). - Uji ORAC beras putih merupakan yang terendah yaitu 55,50 – 53,68 $\mu\text{mol Trolox/g}$, beras merah (80,60 – 113,45 $\mu\text{mol Trolox/g}$), dan 	<ul style="list-style-type: none"> - Belum terdapat keterangan mengenai jenis senyawa fungsional yang berpengaruh terhadap total kapasitas antioksidan yang diproduksi. - Terdapat ketidak konsistenan antara analisis antar perbedaan jenis metode pengujian.

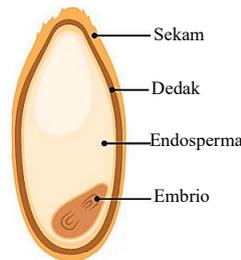
Lanjutan Tabel 2.1

		beras hitam (80,29 – 101,43 $\mu\text{mol Trolox/g}$).	
Illing dan Iman, 2023	Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Rumput Knop (<i>Hyptis Capitata Jacq</i>) Dengan metode spektrofotometri UV-Vis.	<ul style="list-style-type: none"> - Metode ekstraksi maserasi dilakukan selama 48 jam atau 2 hari. - Digunakan metode kolorimetri pada pengujian kadar total flavonoid dengan penambahan reagen AlCl_3, NaNO_2, NaOH, dan etanol. - Diperoleh kadar flavonoid pada simplisia sebesar 35,09 mg/L atau setara dengan 0,003509%. 	<ul style="list-style-type: none"> - Durasi ekstraksi maserasi yang dilakukan terlalu lama, sehingga bobot kadar dari senyawa cenderung menurun.
Echenique dkk., 2024	<i>Pressurized liquid extraction with ethanol in an intermittent process for rice bran oil: Evaluation of process variables on the content of β-sitosterol and phenolic compounds, antioxidant capacity, acetylcholinesterase inhibitory activity, and oil quality</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Penggunaan pelarut etanol (polar) mampu melarutkan senyawa polar yang terdapat dalam dedak padi, dibandingkan dengan petroleum eter (PLE) yang bersifat non-polar. - Hasil <i>yield</i> optimum ekstrak diperoleh sebesar $99,03 \pm 0,68\%$ dengan nilai IC_{50} 427 $\mu\text{g/mL}$. 	<ul style="list-style-type: none"> - Adanya metode ekstraksi soxhlet yang menggunakan pemanasan dapat mempengaruhi kadar senyawa pada sampel.
Kusumawati dkk., 2022	Aktivitas Antioksidan Makaroni Beras Hitam dan Kacang-Kacangan Berpigmen Metode <i>Cold Extrusion</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Kadar fenolat, flavonoid, dan aktivitas antioksidan dalam suatu sampel saling berkaitan dan memiliki hubungan sinergis. - Antosianin bersifat larut air dan sensitif terhadap suhu tinggi sehingga memungkinkan untuk berubah menjadi <i>chalcone</i> yang tidak berwarna. - Hasil analisa antioksidan DPPH menurun akibat proses perebusan dan sinergi dengan kadar fenolat. 	<ul style="list-style-type: none"> - Kelemahan metode DPPH yaitu hanya dapat mengukur antioksidan yang larut pada pelarut organik, kemampuannya sangat terbatas untuk pelarut air sehingga diperlukan pembanding metode.

2.2 Dasar Teori

2.2.1 Beras

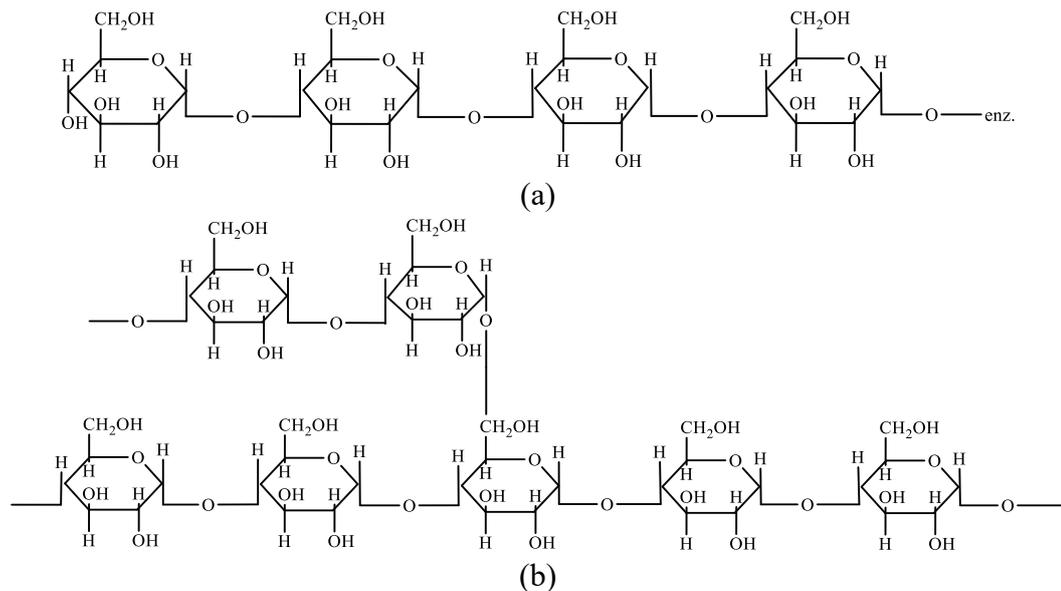
Beras (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu kelompok sereal yang telah dikonsumsi hingga lebih dari seperdua penduduk dunia. Konsumsi beras atau nasi dapat memenuhi 20% kebutuhan kalori bagi konsumennya (Fitriyah dkk., 2022). Tak hanya itu, sumber energi dengan kandungan karbohidrat tinggi menjadi keunggulan beras sehingga masyarakat Indonesia dan beberapa negara lain menjadikannya sebagai bahan pangan pokok (Chen dkk., 2024). Struktur beras terdiri atas sekam (*husk*), dedak (*bran*), endosperma, dan embrio seperti digambarkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur Skema Kernel Beras

Hingga kini, telah terdapat beberapa varietas beras diantaranya beras berpigmen dan beras non-pigmen. Beras berpigmen di Indonesia terdiri atas beragam warna seperti beras putih (*Oryza sativa* L.), beras hitam (*Oryza sativa* L. *indica*), serta beras merah (*Oryza nivara*) (Sari dkk., 2020). Menurut Fitriyah (2022), disebutkan terdapat pula jenis beras berpigmen yang berwarna ungu. Menurut Goufo dan Trindade (2013) menyatakan bahwa beras mengandung senyawa bioaktif antioksidan berupa asam fenolat, flavonoid, tokoferol, tokotrienol, antosianin, proantosianidin, γ -oryzanol, dan asam fitat.

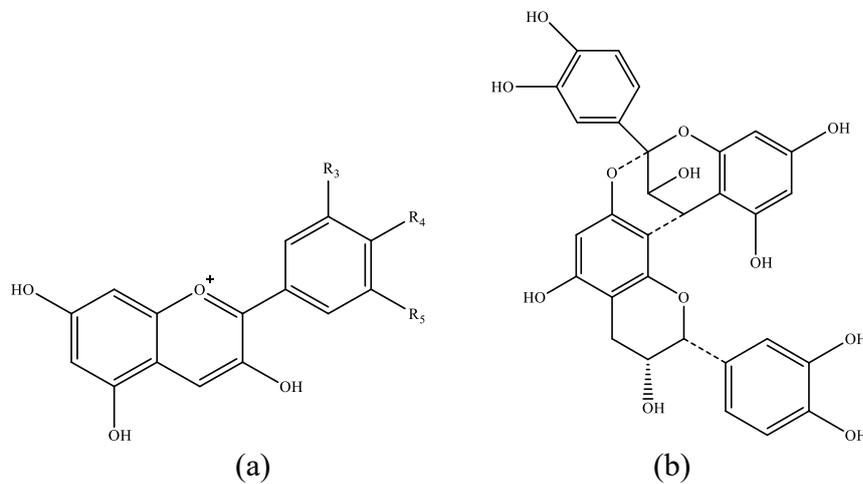
Beras non-pigmen mengandung 85-95% pati, 2-2,5% pentosan, dan 0,6-1,1% gula. Kandungan pati pada beras non-pigmen terdiri atas dua komponen utama yakni amilosa dan amilopektin dalam rangkaian unit glukosa yang saling berkaitan (Sari dkk., 2020).



Gambar 2.2 Struktur Kimia: a) amilosa dan b) amilopektin

Amilosa merupakan suatu polisakarida dengan rantai linier seperti pada Gambar 2.2 (a) yang dibuktikan dengan adanya hidrolisis enzim β -amilase yang merubah amilosa menjadi maltosa secara kuantitatif. Kandungan amilosa memiliki korelasi positif yang berkaitan dengan aroma, penyerapan air, pengembangan volume beras selama pematangan, tetapi berkorelasi negatif untuk nilai *taste panel* kelekatan (*cohesiveness*), kelunakan (*tenderness*), warna, serta kilap. Sedangkan amilopektin merupakan hasil polimerisasi glukosa anhidrat melalui ikatan α -1,4 dan ikatan cabang α -1,6 seperti pada Gambar 2.2 (b). Keduanya memberi pengaruh pada sifat fungsional pati yang dihasilkan. Semakin panjang rantai amilopektin dan kandungan amilosa, maka akan berdampak pada inter atau intra-interaksi antara molekul pati dengan komponen protein dan lemak (Sari dkk., 2020).

Beras berpigmen atau berwarna didominasi oleh kandungan senyawa fenolat berupa antosianin dan proantosianidin. Keduanya merupakan senyawa bioaktif yang berkaitan dengan pigmen serta aktivitas antioksidan pada beras (Widyawati dkk., 2014). Struktur antosianin dan proantosianidin dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Struktur Kimia: a) Antosianin; b) Proantosianidin

Antosianin merupakan senyawa turunan dari antosianidin yang merupakan salah satu jenis senyawa flavonoid. Senyawa tersebut menjadi penyebab adanya warna pada tanaman termasuk beras. Antosianin terbentuk dari penggabungan antosianidin dengan satu atau lebih glikosida melalui ikatan glikosidik (Simanjuntak dkk., 2014). Terdapat beberapa jenis antosianin yang umum terkandung dalam beras, diantaranya sianidin, pelargonidin, malvidin, petunidin, delphinidin dan peonidin. Perbedaan warna beras berkaitan dengan jenis dan kandungan antosianin yang berbeda pula. Apabila kandungan antosianin berkurang, maka warna pigmen beras pun akan berkurang. Pada Tabel 2.2 dituliskan komposisi berbagai jenis antosianin pada masing-masing tipe beras berpigmen (Chen dkk., 2024).

Tabel 2.2 Komposisi Antosianin pada Beras Berpigmen

Tipe Beras	Varietas	Komposisi Antosianin
Beras Hitam	Taiwan, China	Sianidin-3-glukosida Sianidin-3-glukosida Sianidin 3-rutinosida
	Shandong, China	Sianidin-3-O-glukosida Peonidin-3-O-glukosida Malvidin-3-O-glukosida

Lanjutan Tabel 2.2

Tipe Beras	Varietas	Komposisi Antosianin
		Delfinidin-3-glukosida
Beras Ungu	Manipur, India Chiang Mai, Thailand	Sianidin-3-O-glukosida Peonin-3-D-glukosida Peonidin-3-O-glukosida
	Yunnan Province, China	Sianidin-3,5-diglukosida Sianidin-3-glukosida Sianidin-3-rutinosida Peonidin-3-glukosida
Beras Merah	Zhejiang, China Premium	Sianidin-3-O-glukosida
	University of Hiroshima, Japan	Malvidin
	Weifang, China Camargue	Peonidin
	Region of France	Sianidin 3-O-glukosida Sianidin 3-O-(6"-O-p-kumaril) glukosida
	Canada	Sianidin-3-glukosida Peonidin-3-glukosida Sianidin diglukosida
Beras Merah Ungu	Jiangxi Province, China	Sianidin-3-arabinosida Petunidin-3-galaktida Sianidin-3-galaktida Delfinidin-3- arabinosida Delfinidin-3-xilosida Sianidin Sianidin-3-glukosa Peonidin-3-galaktida Peonidin-3-glukosa Delfinidin Delfinidin-3,5-diglukosida Malvidin Peonidin Petunidin Malvidin-3-galaktosida Malvidin-3-glukosida Delfinidin-3- samubiose

(Chen dkk., 2024).

Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Chen (2022), disebutkan pada beras hitam terdapat beberapa kandungan diantaranya seperti sianidin-3-glukosa (Cy-3-G), peonidin-3-glukosa (Pe-3-G), kuersetin, dihidromirisetin (DHM), naringin, dan taksifolin. Lalu pada beras merah mengandung katekin dan epikatekin, serta untuk beras putih (non-pigmen) yaitu kuersetin, tifolin, dan asam ferulat. Senyawa bioaktif menyebabkan beras berpigmen memiliki potensi aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding beras non-pigmen. Pigmen yang dihasilkan oleh beras dipengaruhi oleh senyawa bioaktif yang dikandungnya dan diketahui memiliki dampak bagi kesehatan, diantaranya dapat mengurangi stres oksidatif, mencegah kanker, kardiovaskular, komplikasi diabetes, dan lainnya (Arifin dkk., 2019).

2.2.2 Ekstraksi

Dalam ilmu kimia, ekstraksi merupakan proses pemisahan padatan atau cairan yang dilarutkan menggunakan suatu pelarut. Prinsip ekstraksi terfokus pada perbedaan kelarutan pada masing-masing senyawa kimia (Surani, 2023). Keberhasilan ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti waktu ekstraksi, kepolaran sampel, dan jenis pelarut. Terdapat beberapa teknik ekstraksi yang dapat digunakan diantaranya esktraksi maserasi, refluks, soxhletasi, distilasi, sonikasi, dan lain-lain. (Saadah dkk., 2017). Teknik ekstraksi dikategorikan menjadi cara dingin dan cara panas. Ekstraksi dengan pelarut cara dingin merupakan metode yang tidak mempertimbangkan faktor suhu pada prosesnya, contohnya seperti maserasi dan perkolasi. Sedangkan untuk ekstraksi dengan pelarut cara panas menitikberatkan suhu serta titik didih masing-masing senyawa pada prosesnya, contohnya seperti distilasi, refluks, dan soxhlet (Surani, 2023).

Dalam pembuatan ekstrak sampel perlu dilakukan upaya optimasi agar didapatkan kandungan aktif dengan kadar optimal. Optimasi didukung dengan pemilihan pelarut yang tepat berdasarkan kelarutan dan polaritas sampel (Susanty dan Bachmid, 2016). Selain itu, perlu dianalisis lebih lanjut terkait volume yang tepat, selektivitas terhadap sampel, tidak beracun, mudah diuapkan, dan biaya yang relatif terjangkau (Yunita dan Khodijah, 2020). Rendemen ekstrak (%) yang dihasilkan dari proses ekstraksi menjadi salah satu parameter mutu ekstrak, semakin tinggi persentase rendemen yang dihasilkan, maka ekstrak yang diperoleh semakin banyak (Wijaya dkk., 2018). Perbedaan polaritas, bentuk, karakteristik, sifat, dan tingkat difusi senyawa dalam pelarut juga berkaitan terhadap kemampuan untuk menarik senyawa tertentu pada sampel (Wicaksono dkk., 2021). Selain berpengaruh pada rendemen ekstrak, pemilihan pelarut juga dapat berimbas pada panjang gelombang (λ) dan absorbansi dalam kurva regresi suatu standar (Yunita dan Khodijah, 2020).

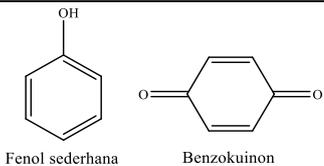
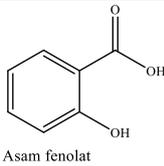
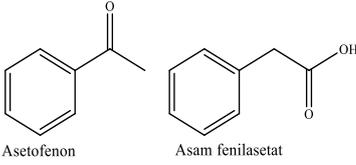
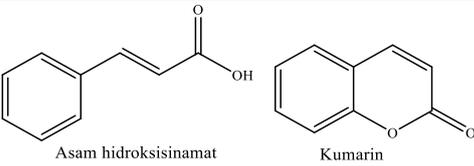
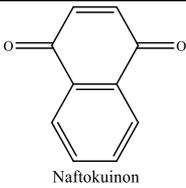
Berdasarkan polaritasnya, pelarut organik terbagi menjadi tiga jenis, yaitu pelarut polar, semi polar, dan non-polar. Pelarut polar diartikan sebagai pelarut yang berikatan polar diantara atom-atom pembentuknya serta dicirikan dengan perbedaan nilai elektronegativitas pada unsur yang berikatan terpaut perbedaan $> 0,4$. Contoh pelarut polar adalah metanol, etanol, air, dan asam asetat. Pelarut semi polar memiliki kedua sifat pelarut polar maupun non-polar, misalnya seperti aseton, kloroform, dan etil asetat. Jenis ini dicirikan memiliki titik didih yang relatif rendah. Pelarut non-polar memiliki nilai elektronegativitas antar unsur yang berikatan $< 0,4$, misalnya seperti heksana dan eter.

Etanol merupakan salah satu jenis pelarut polar yang tak jarang digunakan dalam keperluan ekstrak riset kimia. Kelebihan penggunaan pelarut etanol diantaranya mampu dimanfaatkan sebagai pelarut bahan makanan ataupun bahan alam misalnya senyawa alkaloida basa, minyak, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavanoid, steroid, dan klorofil. Etanol pun mudah diperoleh, relatif ekonomis, cairan penyaring efektif terhadap pengotor, netral, bersifat antibakteri terutama pada volume etanol $> 20\%$, absorbansi yang dihasilkan cenderung baik, apabila diperlukan pemekatan pada pelarut lebih efisien (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015). Berdasarkan riset yang dilakukan oleh Yunita dan Khodijah (2020), digunakan pelarut etanol 60%, 70%, 80% dan 96% untuk ekstraksi kuersetin, yang mana diketahui termasuk dalam golongan senyawa polar tetapi memiliki kelarutan rendah dalam air dan lebih larut pada pelarut organik. Melalui riset tersebut, diperoleh data kadar kuersetin lebih optimal pada volume etanol yang lebih tinggi karena lebih sedikit mengandung air dibanding etanol dengan volume rendah. Perbedaan volume pada pelarut etanol mempengaruhi nilai persentase rendemen yang dihasilkan, kadar fenolat, flavonoid, serta aktivitas antioksidan (Yunita dan Khodijah, 2020).

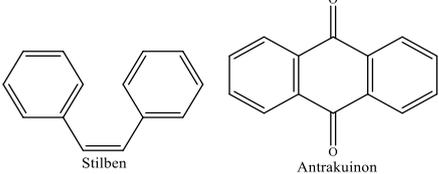
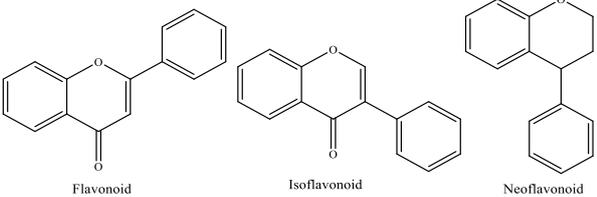
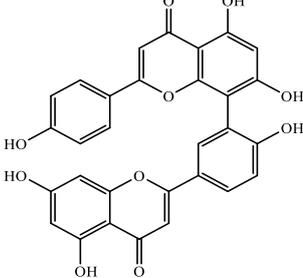
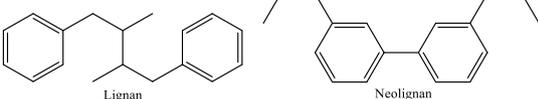
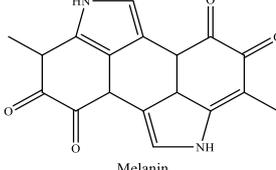
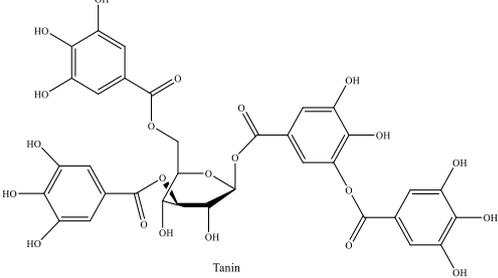
2.2.3 Senyawa Fenolat

Senyawa metabolit sekunder merupakan suatu senyawa metabolit yang non-esensial bagi pertumbuhan dan perkembangan makhluk hidup tetapi berfungsi sebagai pertahanan terhadap patogen, perlindungan, dan adaptasi terhadap lingkungan khususnya pada tumbuhan. Berdasarkan jalur biosintesisnya, metabolit sekunder dikelompokkan menjadi terpenoid, fenolat, dan alkaloid. Senyawa fenolat merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil fungsional (-OH) yang terikat pada cincin aromatik seperti pada Gambar 2.4, serta dapat pula diartikan sebagai metabolit sekunder bioaktif yang terdistribusi secara luas pada tanaman terutama disintesis melalui jalur asam shikimat, pentosa fosfat dan jalur fenilpropanoid (Silalahi, 2017). Menurut Rollando dan Monica (2018), senyawa fenolat dapat dikenali melalui keberadaannya sebagai asam fenolat bebas dan asam fenolat yang terbebas dari ester dan glikosida. Secara struktural, senyawa fenolat mencakup sejumlah senyawa yang memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil dan dapat bervariasi dari molekul sederhana hingga polimer kompleks (Singh dkk., 2015). Berdasarkan jumlah gugus fenolat hidroksil yang melekat dan elemen struktural yang menghubungkan cincin benzena, fenolat terbagi atas asam fenolat, flavonoid, tanin, dan stilben (Diniyah dan Lee, 2020). Pada Tabel 2.3 dituliskan beberapa klasifikasi fenolat yang didasarkan kerangka dasarnya.

Tabel 2.3 Klasifikasi Senyawa Fenolat

Kerangka Dasar	Senyawa	Gambar
C6	Fenol sederhana Benzokuinon	 <p>Fenol sederhana Benzokuinon</p>
C6-C1	Asam fenolat	 <p>Asam fenolat</p>
C6-C2	Asetofenon Asam fenilasetat	 <p>Asetofenon Asam fenilasetat</p>
C6-C3	Asam hidroksisinamat Kumarin	 <p>Asam hidroksisinamat Kumarin</p>
C6-C4	Naftokuinon	 <p>Naftokuinon</p>

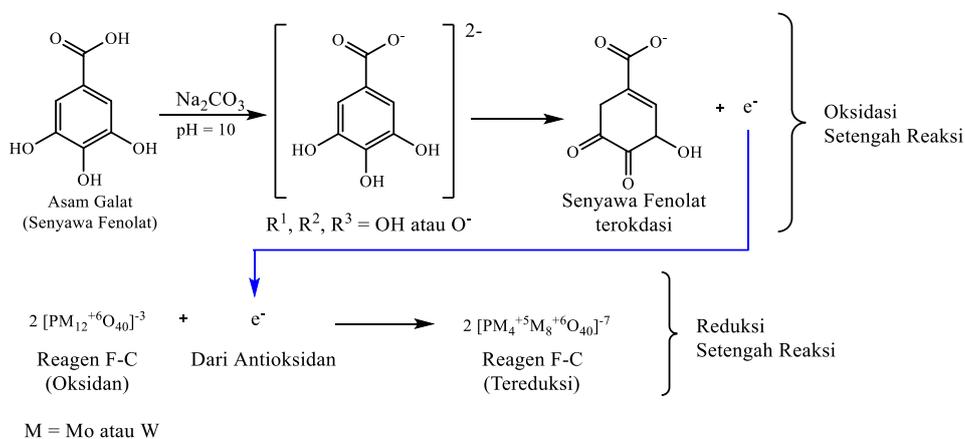
Lanjutan Tabel 2.3

Kerangka Dasar	Senyawa	Gambar
C6-C1-C6	Xanton	 <p style="text-align: center;">Xanton</p>
C6-C2-C6	Stilben Antrakuinon	 <p style="text-align: center;">Stilben Antrakuinon</p>
C6-C3-C6	Flavonoid Isoflavonoid Neoflavonoid	 <p style="text-align: center;">Flavonoid Isoflavonoid Neoflavonoid</p>
(C6-C3) _{2,3}	Biflavonoid Triflavonoid	 <p style="text-align: center;">Biflavonoid</p>
(C6-C3) _n	Lignan Neolignan	 <p style="text-align: center;">Lignan Neolignan</p>
(C6) _n	Melanin	 <p style="text-align: center;">Melanin</p>
(C6-C3-C6) _n	Tanin kental	 <p style="text-align: center;">Tanin</p>

(Lattanzio, 2013).

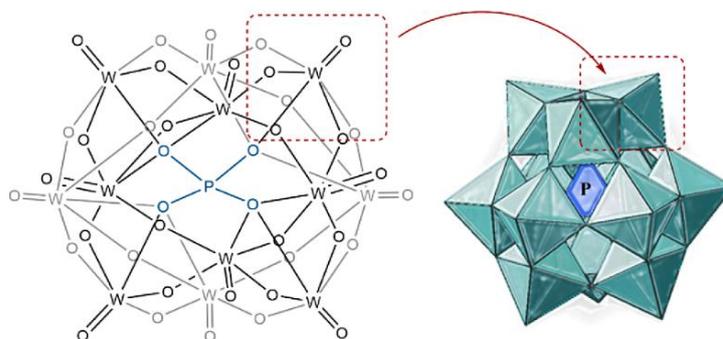
Pada Tabel 2.3 diketahui senyawa fenolat umumnya memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan gugus kromofor, sehingga dengan demikian senyawa fenolat memenuhi syarat untuk dianalisis kadar atau kandungan totalnya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pengujian kandungan fenolat total atau *Total Phenolic Content* (TPC) dilakukan menggunakan

reagen Folin-Ciocalteu dalam suasana basa, serta asam galat dan Na_2CO_3 (natrium karbonat). Pada pengujian ini, Na_2CO_3 diantaranya berfungsi diantaranya sebagai (1) sebagai netralisasi asam karena reaksi Folin-Ciocalteu memerlukan lingkungan yang lebih basa untuk berfungsi optimal, (2) untuk meningkatkan intensitas warna biru yang terbentuk selama reaksi oleh reagen Folin-Ciocalteu, (3) untuk membantu menstabilkan reaksi kimia dengan menyediakan ion karbonat yang diperlukan untuk mempertahankan pH yang sesuai, serta memastikan bahwa pengukuran TPC dapat dilakukan dengan akurat dan konsisten. Asam galat digunakan sebagai standar referensi dikarenakan asam galat memiliki tingkat kemurnian yang sangat tinggi, relatif stabil selama penyimpanan dan tidak mudah terdegradasi, memiliki tiga gugus hidroksi fenolat yang bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu, serta menghasilkan perubahan warna yang kuat dan mudah diukur. Berikut Gambaran mekanisme reaksi yang terjadi pada pengujian kandungan total fenolat digambarkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Ringkasan Reaksi pada Pengujian Kandungan Fenolat Total

Prinsip pada metode ini ialah pembentukan senyawa kromofor biru kompleks yang diukur pada panjang gelombang 765-780 nm. Reagen Folin-Ciocalteu (Reagen F-C) akan mengoksidasi gugus fenol atau fenolat-hidroksi dalam keadaan basa untuk mereduksi asam heteropoli yang merupakan campuran asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat yang terkandung dalam reagen Folin-Ciocalteu menjadi kompleks molibdenum-tungsten (Gambar 2.5). Pada reaksi pengujian kandungan fenolat total, ion molibdenum sebagai pusat struktur kompleks sebagai tempat pereduksi. Ion Mo^{6+} akan direduksi menjadi Mo^{5+} dengan cara menerima elektron yang disumbangkan dari antioksidan fenolat.



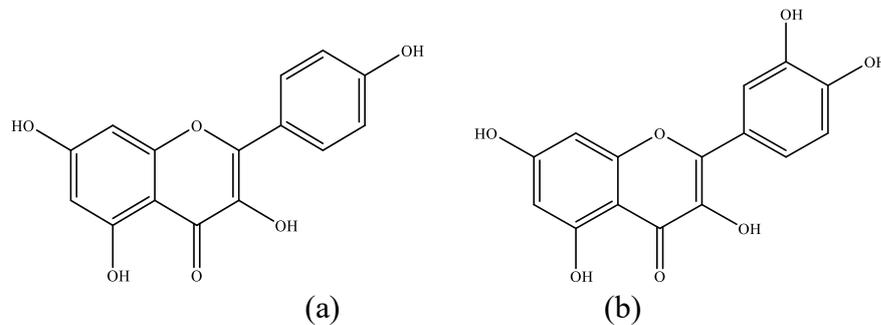
Gambar 2.5 Struktur Kompleks Pembentuk Reagen Folin-Ciocalteu (F-C)

Asam Fosfomolibdat memiliki rumus kimia $\text{H}_3[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}] \cdot x\text{H}_2\text{O}$ atau $[\text{PMo}_{12}^{+6}\text{O}_{40}]^{-3}$. Struktur ini terdiri dari satu atom fosfor (P) yang dikelilingi oleh 12 atom molibdenum (Mo)

dan sejumlah atom oksigen (O). Struktur ini membentuk kompleks poliatomik yang disebut heteropoli asam. Sedangkan, asam fosfotungstat memiliki formula kimia umum $H_3[PW_{12}O_{40}] \cdot xH_2O$ atau $[PW_{12}^{+6}O_{40}]^{-3}$ yang terdiri dari satu atom fosfor (P) yang dikelilingi oleh 12 atom tungsten (W) dan sejumlah atom oksigen (O). Struktur tersebut membentuk kompleks poliatomik heteropoli asam seperti pada Gambar 2.5. Reagen F-C digunakan untuk mengukur kadar senyawa fenolat total dalam suatu sampel. Apabila reagen F-C bereaksi dengan gugus fenol atau fenolat-hidroksi akan mengalami oksidasi yang menghasilkan perubahan warna larutan. Reaksi tersebut digunakan untuk mengukur kandungan fenolat berdasarkan intensitas perubahan warna tersebut.

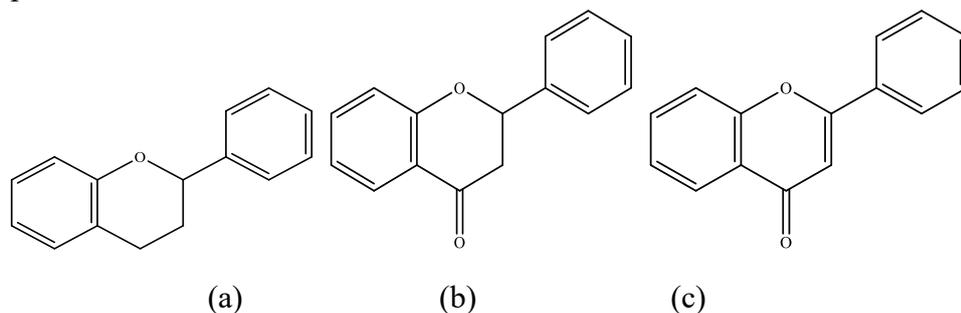
2.2.4 Senyawa Flavonoid

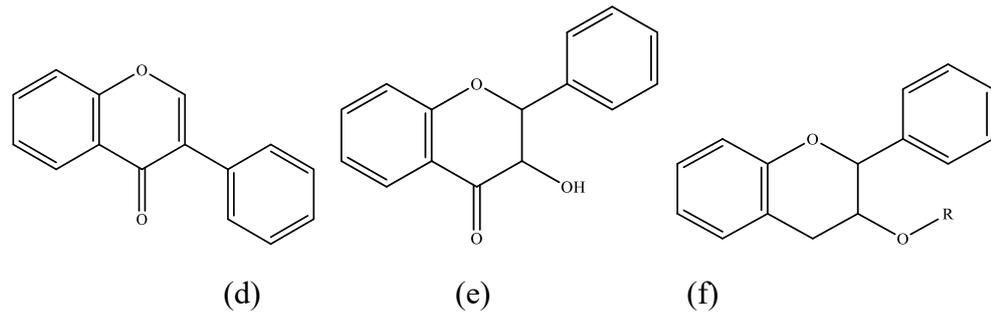
Flavonoid merupakan salah satu turunan dari senyawa metabolit sekunder fenolat (polifenol) dengan penggunaan terbanyak. Senyawa flavonoid dapat diisolasi melalui berbagai macam metode ekstraksi, seperti maserasi, refluks, soxhletasi, dan sonikasi (Dewi dkk, 2018). Umumnya flavonoid dapat larut dalam pelarut air dan etanol (polar), namun tidak larut dalam eter minyak bumi (non-polar). Beberapa contoh struktur senyawa flavonoid digambarkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Struktur Dasar Flavonoid (a) Kaempferol; (b) Kuersetin

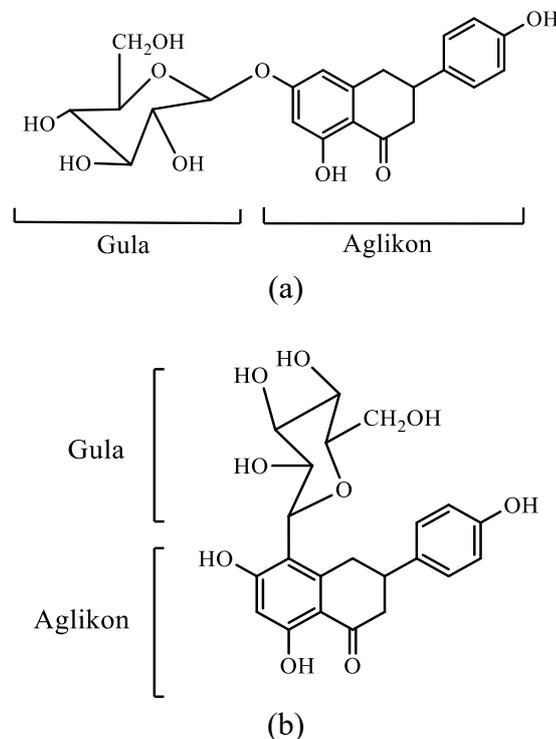
Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana terdapat dua cincin benzena (C6) terikat oleh rantai propana (C3) (Ningsih dan Advinda, 2023). Diketahui struktur flavonoid memiliki sistem aromatik terkonjugasi dan gugus kromofor, sehingga mampu memberikan serapan kuat pada spektrum UV (Lattanzio, 2013). Berdasarkan strukturnya, flavonoid diklasifikasikan menjadi flavan, flavanon, flavon, isoflavon, flavonol, antosianin, dan antosianidin. Secara keberadaan di alam, jenis flavon dan flavonol merupakan yang seringkali ditemukan hampir pada seluruh tumbuhan, jenis isoflavon dan biflavonil hanya ditemukan pada beberapa tumbuhan tertentu, sedangkan jenis kalkon dan auron jarang ditemukan pada persebaran tumbuhan (Wang dkk., 2018). Beberapa struktur senyawa flavonoid ditunjukkan pada Gambar 2.7.





Gambar 2.7 Beberapa Contoh Senyawa Flavonoid (a) Flavan; (b) Flavanon; (c) Flavon; (d) Isoflavon; (e) Flavonol; dan (f) Antosianin

Pada tumbuhan, senyawa flavonoid berkaitan dengan gula sebagai struktur glikosida dan aglikon (Wang dkk., 2018). Terdapat dua jenis glikosida flavonoid, yakni flavonoid-O-glikosida dan flavonoid-C-glikosida seperti digambarkan pada Gambar 2.8.

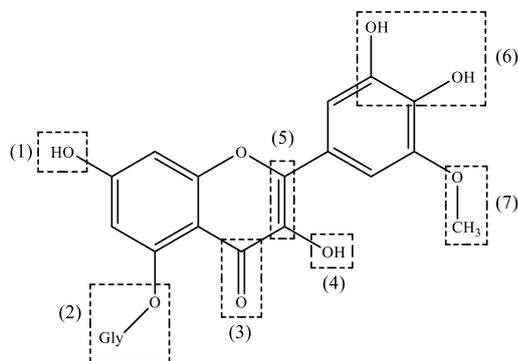


Gambar 2.8 (a) Flavonoid-O-Glikosida; (b) Flavonoid-C-Glikosida

Flavonoid-O-glikosida merupakan suatu flavonoid yang ikatan gugus -OH pada aglikon terikat dengan senyawa gula membentuk ikatan hemiasetal yang bersifat tidak tahan asam, jenis ini seringkali ditemukan di alam sehingga mudah terhidrolisis. Gula yang digunakan pada glikosida flavonoid jenis ini diantaranya seperti glukosa, galaktosa, ramnosa, xilosa, arabinosa, alosa, manosa, dan fruktosa. Jenis ini kemudian dikenal dengan antosianin. Sedangkan, Flavonoid-C-glikosida merupakan ikatan C-C pada aglikon dan gula yang bersifat tahan asam, jenis ini sangat jarang ditemukan di alam sehingga sulit di hidrolisis. Gula yang digunakan pada flavonoid jenis ini diantaranya adalah glukosa, galaktosa, xilosa, dan arabinosa (Wang dkk., 2018)

Flavonoid memiliki beragam aktivitas biologis, seperti antivirus, antiinflamasi, *cardioprotective*, *anti-diabetic*, antikanker, *anti-aging*, dan lain sebagainya. Berbagai aktivitas

biologis tersebut berkaitan langsung dengan struktur yang dimiliki oleh masing-masing senyawa flavonoid seperti diilustrasikan pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Gugus Flavonoid yang Berkaitan dengan Aktivitas Biologis, (1) -OH; (2) Glikosilasi; (3) 4-Karbonil; (4) 3-OH; (5) C2=C3; (6) Katekol; (7) O-Me

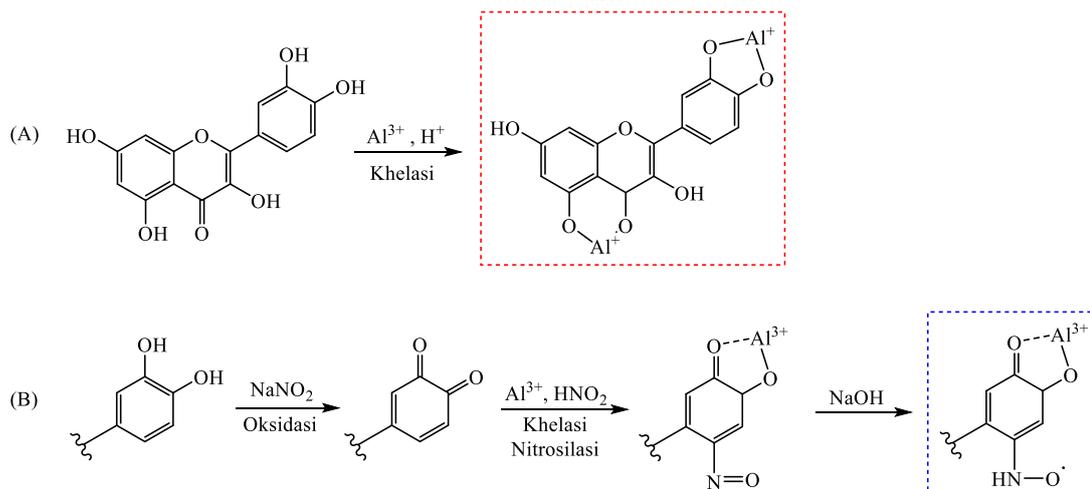
Tabel 2. 4 Hubungan Parameter Pada Flavonoid Terhadap Aktivitas Biologis

Parameter	Aktivitas					
	Anti bakteri	Anti kanker	Anti neuropati	Antiinflamasi	Anti diabetik	Antioksidan
-OH	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Glikosilasi	↓	↑	↑	↑	↑	↓
4-karbonil	↓	↑	↑	-	↓	↑
3-OH	↑	↑	↑	↑	↑	↑
C2=C3	↑	↑	↑	↑	↓	↑
Katekol	↑	↑	↑	↑	↑	↑
O-Me	↑	↓	↓	↓	↑	↓

(Wang dkk., 2018)

Berdasarkan tabel tersebut, diketahui pada flavonoid terdapat beberapa gugus fungsi yang berdampak terhadap aktivitas biologis, diantaranya ialah gugus -OH, 4-karbonil, 3-OH, C2=C3, katekol, dan O-Me. Parameter -OH sinergis terhadap semua aktivitas antibakteri, antikanker, antineuropati, antiinflamasi, antidiabetik, dan antioksidan. Sedangkan parameter 3-OH, sinergis terhadap antikanker, antineuropati, antiinflamasi, antidiabetik, namun menghambat aktivitas antibakteri dan antioksidan. Parameter 4-karbonil sinergis terhadap antikanker, anti neuropatologi, dan antioksidan, namun menghambat aktivitas antibakteri dan antidiabetik. Parameter 3-OH sinergis terhadap semua aktivitas antibakteri, antikanker, antineuropati, antiinflamasi, antidiabetik, dan antioksidan. Parameter C2=C3 sinergis terhadap keseluruhan aktivitas biologis, kecuali antidiabetik. Parameter gugus katekol sinergis terhadap keseluruhan aktivitas biologis, kecuali antidiabetik. Parameter O-Me sinergis terhadap aktivitas antibakteri dan antidiabetik, namun menghambat aktivitas antikanker, antineuropati, antiinflamasi, dan antioksidan (Wang dkk., 2018).

Pengujian kandungan flavonoid total atau *Total Flavonoid Content* (TFC) dilakukan menggunakan metode teori kompleks kolorimetri menggunakan reagen AlCl₃, NaNO₂, NaOH, dan etanol dengan ringkasan reaksi seperti digambarkan pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10 Ringkasan Reaksi pada Pengujian Kandungan Flavonoid Total

Senyawa AlCl_3 membentuk kompleks asam stabil dengan gugus ortohidroksil pada cincin A- atau B- dari senyawa – senyawa flavonoid yang bertujuan untuk membentuk kompleks dengan kuersetin. Sementara itu, penambahan reagen lainnya bertujuan untuk menstabilkan pembentukan kompleks antara AlCl_3 dengan kuersetin. Penambahan NaOH dan NaNO_2 ditujukan untuk membentuk kompleks sistem $\text{NaOH-AlCl}_3\text{-NaOH}$ yang mampu mendeteksi warna yang didasarkan pada keadaan basa dalam pembentukan kompleks. Gugus katekol pada cincin B dari senyawa flavonoid akan teroksidasi oleh natrium nitrit (NaNO_2) menjadi keton sehingga dihasilkan warna kuning. Jika senyawa keton sudah terbentuk, maka kepekatan warna kuning pada larutan akan meningkat, sedangkan natrium nitrit (NaNO_2) tereduksi menjadi asam nitrit. Gugus keton tersebut selanjutnya akan membentuk kompleks dengan kation (Al^{3+}) yang berasal dari AlCl_3 , lalu terjadi proses nitrolisasi oleh asam nitrit. Senyawa tersebut selanjutnya direduksi oleh NaOH yang menjadi struktur quino (Illing dan Iman, 2023).

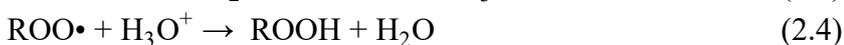
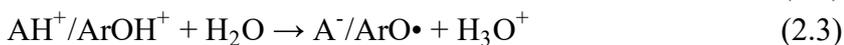
2.2.5 Aktivitas Antioksidan

Secara alamiah, makhluk hidup mengalami reaksi oksidasi yang dapat memicu terbentuknya radikal bebas aktif yang dapat merusak struktur dan fungsi sel. Reaksi oksidasi terjadi secara alami saat terdapat zat yang berikatan dengan atom oksigen sehingga menghasilkan ion radikal. Melalui adanya aktivitas antioksidan, dapat menetralkan radikal bebas aktif tersebut dengan mendonorkan elektronnya. Sistem ini sinergis dengan kekebalan tubuh dan berfungsi melindungi, menghilangkan, membersihkan, dan melawan kerusakan sel akibat oksigen reaktif, serta mengobati penyakit degeneratif. Apabila kondisi antara antioksidan dan oksigen reaktif tidak seimbang dapat menimbulkan stres oksidatif serta kerusakan sel (Haeria dkk., 2018). Stres oksidatif diartikan sebagai kumpulan molekul reaktif seperti *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS). Bentuk ROS diantaranya seperti superoksida (O_2^-), hidroksil ($\bullet\text{OH}$), peroksil ($\bullet\text{RO}_2$), hidroperoksil ($\bullet\text{HRO}_2$), sedangkan bentuk RNS diantaranya seperti nitrit oksida ($\bullet\text{NO}$) dan nitrogen dioksida ($\bullet\text{NO}_2^-$) (Arifin dkk., 2019).

Mekanisme antioksidan digolongkan menjadi *hydrogen atom transfer* (HAT) dan *electron transfer* (ET). Reaksi HAT berfungsi untuk mengukur kemampuan antioksidan menghambat radikal bebas (radikal peroksil) melalui donor atom hidrogen. HAT melibatkan reaksi kompetitif kinetik antara antioksidan dan substrat untuk membentuk radikal peroksil melalui dekomposisi senyawa azo. Reaksi yang terjadi pada *hydrogen atom transfer* (HAT) dapat dilihat pada Persamaan 2.1.



Pembentukan reaksi ariloksi ($\text{ArO}\cdot$) berasal dari reaksi antara antioksidan fenol dan peroksil radikal. Sedangkan, oksidan dan antioksidan bereaksi dengan $\text{ROO}\cdot$. Selanjutnya, aktivitas antioksidan dapat dianalisis dari kompetisi kinetik dengan mengukur degradasi warna oksidan dikarenakan adanya antioksidan. Sedangkan untuk *electron transfer* (ET) didasarkan pada reaksi redoks yang digunakan untuk menganalisis kapasitas antioksidan melalui perubahan warna dikarenakan reaksi reduksi. Mekanisme reaksi ET lebih lambat dibandingkan reaksi HAT karena dipengaruhi oleh jenis pelarut dan kondisi pH. Reaksi yang terjadi pada *electron transfer* (ET) dapat dilihat pada Persamaan 2.2 - Persamaan 2.4 (Arifin dkk., 2019).



Berdasarkan asalnya, antioksidan terbagi menjadi dua jenis yakni antioksidan alami dan sintetis. Antioksidan alami banyak ditemukan pada golongan polifenol, flavonoid, beta-karoten, vitamin C dan E (Wicaksono dkk., 2021). Sedangkan antioksidan sintetis misalnya difungsikan sebagai kontrol positif yaitu trolox yang digunakan sebagai standar dalam pengukuran antioksidan. Trolox secara fisik memiliki karakteristik berwarna putih hingga kekuningan, titik leleh 189-195°C, dan stabil dalam penyimpanan hingga 2 bulan pada suhu 2-8°C. Trolox tersebut mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding α -tokoferol, BHA, serta BHT (Haeria dkk., 2018).

Berdasarkan mekanisme reaksi HAT dan ET dikembangkan berbagai metode guna menentukan aktivitas antioksidan. Metode analisis berdasarkan pada reaksi HAT diantaranya adalah *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC), *Total Radical Trapping Antioxidant Parameter* (TRAP), *Total Antioxidant Capacity* (TAC), *Total Oxygen Scavenging Capacity* (TOSC), *Total Equivalent antioxidant Capacity* (TEAC), *Folin Ciocalteu reagent* (FCR), *2,2'-azobis (2-amidinopropane) hydrochloride* (AAPH). Sedangkan metode analisis antioksidan berdasarkan reaksi *electron transfer* (ET) diantaranya adalah *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), *Cupric Reducing Antioxidant Capacity* (CUPRAC), *Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity* (TEAC), dan *2,2-difenil-1-pikrihidrazil* (DPPH) (Arifin dkk., 2019).

Tabel 2.5 Perbedaan Teknik Pengujian Antioksidan

Teknik	Uji Kapasitas Antioksidan	Prinsip Metode	Produk Hasil / Produk Akhir
Spektrometri	ORAC	Reaksi antioksidan dengan peroksil radikal yang diinduksi oleh 2,20-azobis-2-amidino-propana (AAPH)	Hilangnya fluorescein
	HORAC	kapasitas antioksidan untuk memadamkan radikal OH yang dihasilkan oleh sistem seperti Fenton berbasis Co(II)	Hilangnya fluorescein
	TRAP	kapasitas antioksidan untuk mengais radikal turunan luminol, dihasilkan dari dekomposisi AAPH	Pendinginan kekililuminesensi
	CUPRAC	Reduksi Cu (II) menjadi Cu (I) oleh antioksidan	Kolorimetri
	FRAP	Reaksi antioksidan dengan	Kolorimetri

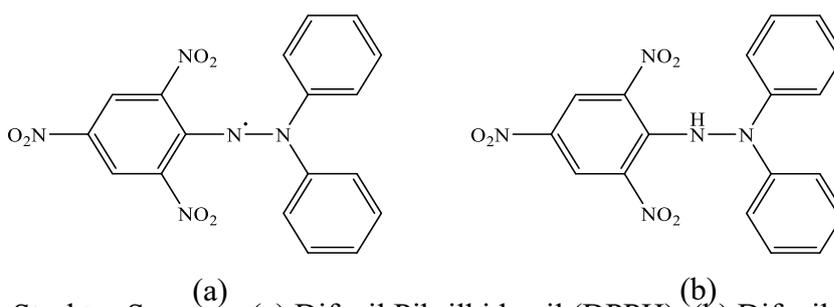
Lanjutan Tabel 2.5

		kompleks Fe(III)	
	PFRAP	Pengurangan kalium ferrisianida oleh antioksidan dan selanjutnya reaksi kalium ferisianida dengan Fe ³⁺	Kolorimetri
	ABTS	Reaksi antioksidan dengan radikal kation organik	Kolorimetri
	DPPH	Reaksi antioksidan dengan radikal kation organik	Kolorimetri

(Haeria dkk., 2018).

2.2.5.1 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan dapat dianalisis salah satunya melalui metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) yang merupakan salah satu contoh mekanisme reaksi *electron transfer* (ET) (Haeria dkk., 2018). Prinsip metode ini ialah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (difenil pikrihidrazil) menjadi senyawa non-radikal (difenil pikrihidrazin) yang di ilustrasikan pada Gambar 2.11.



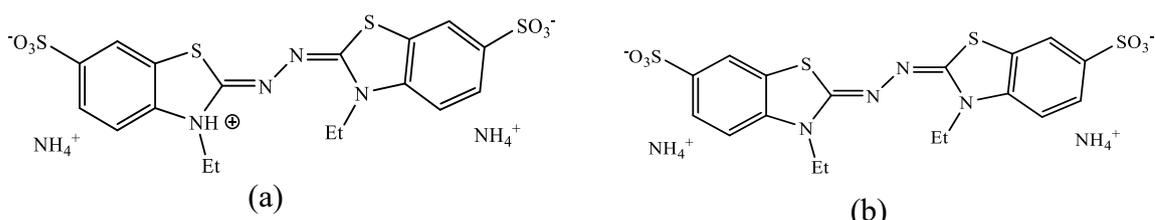
Gambar 2.11 Struktur Senyawa (a) Difenil Pikrihidrazil (DPPH); (b) Difenil Pikrihidrazin (DPPH-H)

Hal tersebut ditandai melalui adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning dikarenakan senyawa antioksidan mereduksi senyawa radikal bebas. Semakin pudar warna ungu dari larutan, makin tinggi nilai antioksidan yang dihasilkan (Kusumawati dkk., 2022). Penetapan aktivitas antioksidan metode ini menggunakan parameter IC₅₀, dimana konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menangkap radikal DPPH sebanyak 50% (Setyawan, 2018).

Metode DPPH memiliki serapan pada panjang gelombang ±510-517 nm dengan warna violet gelap. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil. Radikal bebas DPPH dapat menangkap atom hidrogen dari komponen aktif ekstrak yang dicampur kemudian bereaksi menjadi bentuk tereduksinya. Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH ditandai dengan perubahan warna setelah inkubasi. Proses inkubasi pada penelitian ini dilakukan selama 30 menit, tujuannya untuk mempercepat reaksi antara radikal DPPH dengan sampel yang bertindak sebagai antioksidan. Kemampuan antioksidan untuk melawan radikal bebas di indikasikan melalui degradasi intensitas warna larutan (Haeria dkk., 2018). Namun, metode DPPH memiliki kekurangan yaitu hanya terbatas mengukur antioksidan yang larut pada pelarut organik seperti alkohol, kemampuannya terbatas dalam mengukur antioksidan yang larut air (Kusumawati dkk., 2022).

2.2.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Dengan Metode ABTS

Metode pengukuran kapasitas antioksidan ABTS berprinsip pada degradasi warna pada kation ABTS yang bereaksi langsung pada radikal ABTS yang memiliki pusat berupa atom nitrogen (N) berwarna biru kehijauan, dimana apabila tereduksi oleh antioksidan menjadi bentuk non radikal akan berubah menjadi tidak berwarna. Metode ABTS memiliki serapan pada panjang gelombang 734 nm (Munteanu, 2021). Seperti halnya DPPH, metode ABTS juga sangat sensitif terhadap cahaya dengan pembentukan radikal ABTS ($ABTS^{\bullet-}$) membutuhkan waktu inkubasi selama 12 hingga 16 jam pada kondisi gelap (Setiawan, 2018). Senyawa antioksidan menstabilkan senyawa radikal bebas dengan cara donor radikal proton (Wicaksono dkk., 2021).



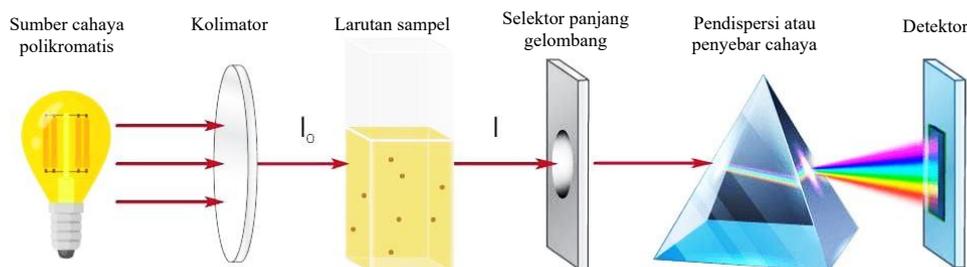
Gambar 2.12 Struktur Senyawa ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat) (a) Bentuk Radikal Kation; (b) Bentuk Netral

Pada gambar 2.12 diilustrasikan bentuk struktur senyawa ABTS dengan nama senyawa 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat). Bagian 2,2'-azino-bis menandakan adanya gugus "azino" (-N=N-) yang menghubungkan dua unit molekul yang sama. Angka 2,2' menunjukkan posisi ikatan pada masing-masing unit, serta "bis" diartikan terdapat dua unit molekul yang sama. Bagian benzotiazolin menunjukkan adanya struktur cincin yang mengandung atom belerang (S) dan nitrogen (N) yang tergabung dalam cincin benzena. Bagian 3-etil menunjukkan adanya gugus etil (CH₂CH₃) yang terikat pada atom nitrogen nomor 3. Bagian 6-sulfonat menunjukkan adanya gugus sulfonat (-SO₃⁻) yang terikat pada atom karbon nomor 6 pada cincin benzotiazolin, dimana gugus sulfonat bermuatan negatif (Munteanu, 2021).

Terdapat beberapa kelebihan metode ATBS diantaranya adalah sederhana, cepat, dan memiliki sensitivitas tinggi dibanding metode-metode pengujian antioksidan lainnya. Metode IC₅₀ digunakan (*Inhibition Concentration 50%*) sebagai parameter aktivitas antioksidan. Hal tersebut berarti bahwa semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin tinggi kemampuan penangkal radikal bebas (Wicaksono dkk., 2021).

2.2.6 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri merupakan salah satu metode analisis kualitatif maupun kuantitatif dalam ilmu kimia, yang mengkorelasi antara energi gelombang/frekuensi dengan interaksi unsur. Prinsip dasar Spektrofotometri UV-Vis adalah penyerapan cahaya oleh molekul pada panjang gelombang tertentu yang dianalisis dalam rentang spektrum UV dan *visible* (cahaya tampak). Sinar ultraviolet (UV) memiliki serapan pada panjang gelombang antara 200-400 nm. Sedangkan sinar tampak (*visible*) memiliki serapan yang lebih panjang yakni pada panjang gelombang 400-800 nm (Irawan, A., 2019). Skema kerja spektrofotometri dapat dilihat pada Gambar 2.13.



Gambar 2.13 Skema Spektrofotometer UV-Vis

Adanya serapan sinar UV-Vis mengakibatkan transisi elektronik berupa promosi elektron (eksitasi) pada *ground state* (orbital dasar) yang memiliki energi rendah menuju *excited state* (orbital tereksitasi) dengan energi lebih tinggi. Bentuk transisi elektronik pada UV-Vis diantaranya ialah $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \pi^*$, serta $\pi \rightarrow \pi^*$. Namun, transisi elektron pada daerah UV dan *visible* di dominasi oleh n dan π^* (Suhartati, 2017).

Dalam spektra elektronik, terdapat istilah gugus kromofor dan gugus auksokrom. Gugus kromofor merupakan molekul yang ditandai dengan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan mampu mengalami resonansi pada strukturnya, dimana makin panjang konjugasi maka daya serap cahaya pun semakin panjang pula. Contoh gugus kromofor adalah heksana (C_6H_{14}), aseton (CH_3COCH_3), asetilen (C_2H_2), benzene (C_6H_6), karbonil ($C=O$), karbon dioksida (CO_2), karbon monoksida (CO), dan gas nitrogen (N_2). Sedangkan gugus auksokrom merupakan molekul yang ditandai dengan adanya pasangan elektron bebas (PEB) yang menyebabkan vibrasi yang besar serta memiliki ikatan tunggal, seperti gugus hidroksi ($R-OH$), amina ($R-NH_2$, R_2-NH , $-NR_3$), halida ($R-X$), alkoksi ($R-O$) (Suhartati, 2017).

Spektrofotometer UV-Vis adalah salah satu instrumen pengukur serapan cahaya yang hanya mampu menganalisis senyawa yang memiliki gugus kromofor, kecuali apabila gugus auksokrom terikat pada gugus kromofor tersebut (Rosyida dan Achadi, 2014). Terikatnya gugus auksokrom pada kromofor menyebabkan efek batokromik atau pergeseran merah (*red shift*) yang merupakan pergeseran absorban ke daerah panjang gelombang yang lebih panjang, sebaliknya apabila pergeseran absorban ke daerah panjang gelombang yang lebih pendek akan terjadi efek hipsokromik atau pergeseran biru (*blue shift*). Intensitas puncak serapan pada spektrofotometer UV-Vis dikaitkan dengan efek hiperkromik dan hipokromik. Efek hiperkromik diartikan sebagai adanya peningkatan intensitas serapan, sedangkan efek hipokromik yaitu penurunan intensitas serapan.

Instrumen tersebut dapat digunakan terhadap sampel berupa larutan, gas, dan uap. Namun, pada umumnya sampel berupa larutan jernih. Pelarut yang digunakan pada larutan harus mampu melarutkan dengan sempurna, tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya, tidak berwarna, tidak berinteraksi dengan molekul yang dianalisis, serta memiliki tingkat kemurnian tinggi. Pelarut yang sering digunakan adalah air, etanol, metanol dan n-heksana karena pelarut ini transparan pada daerah UV. Tak hanya itu, konsentrasi sampel perlu diperhatikan untuk mendapatkan spektrum UV-Vis yang baik. Keunggulan spektrofotometer UV-Vis diantaranya biaya relatif terjangkau dan pengerjaan sederhana (Yunita dan Khodijah, 2020).

2.2.7 Analisis statistik

Data diartikan sebagai sesuatu yang diperoleh dari hasil observasi atau penelitian berupa fakta dan angka yang dapat menyusun informasi tertentu. Berdasarkan skala pengukurannya, data terbagi menjadi data kategorik seperti nominal dan ordinal, serta data numerik seperti data

interval dan rasio. Namun, data masih dikategorikan sebagai anggapan atau asumsi yang bersifat dugaan sementara. Oleh karena itu, perlu dianalisis kebenarannya melalui analisis statistik (Basuki dan Nazaruddin, 2015).

Statistika berkaitan dengan metode pengumpulan data, analisis data, dan interpretasi hasil analisa untuk mendapatkan informasi sebagai landasan untuk pengambilan keputusan dan penarikan kesimpulan. Statistik menjadi salah satu ciri penelitian kuantitatif yang berfungsi sebagai alat untuk menentukan sampel, pengujian validitas dan reliabilitas instrumen, penyajian data, serta menganalisis data. Dalam hal ini, lebih terfokus guna menjawab rumusan masalah dan pengujian hipotesis. Berdasarkan jenis data sampelnya, statistik terbagi menjadi dua yakni statistik parametrik dan non parametrik (Basuki dan Nazaruddin, 2015). Statistik parametrik digunakan untuk menganalisis data sampel besar, data berdistribusi normal yang berbentuk interval dan ratio, sedangkan non parametrik digunakan untuk menganalisis data sampel kecil, tidak harus berdistribusi normal dan data berbentuk nominal dan ordinal dikarenakan kedua data tersebut umumnya tidak tersebar secara normal (Basuki dan Nazaruddin, 2015).

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Metode yang Digunakan

Terdapat lima jenis sampel beras berpigmen hasil persilangan varietas baru dengan kode A, B, C, D, dan E. Sampel padi di kupas dan dipisahkan bagian dedak dan bulir beras. Kemudian bulir beras dihaluskan menggunakan grinder, lalu diayak menggunakan ayakan 100 mesh. Sebanyak 1 gram bulir beras diekstraksi menggunakan pengadukan dengan 50 mL pelarut etanol dengan variasi volume 20, 40, 60, 80, 100% v/v selama 12 jam pada suhu ruang. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring 0,45 μ m lalu disimpan dalam *chiller* pada suhu $\pm 2-10^{\circ}\text{C}$ sebelum dilakukan pengujian kadar air, total fenolat (TPC), total flavonoid (TFC), serta pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat)).

3.2 Bahan dan Peralatan yang Digunakan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian kali ini diantaranya adalah erlenmeyer, kaca arloji, neraca analitik, gelas beaker, gelas ukur 100 mL, spatula, corong, pipet tetes, pipet ukur 1mL dan 5mL, kuvet, *hotplate*, botol vial 10 mL dan 50mL, grinder, ayakan 100 mesh, labu ukur 10mL dan 50mL, termometer 100 $^{\circ}\text{C}$, statif, *magnetic stirrer*, *waterbath*, *freezer*, dan spektrofotometer UV-Vis.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian kali ini diantaranya adalah bulir beras (A, B, C, D, dan E), etanol (20, 40, 60, 80, 100% v/v), metanol (20% dan 100% v/v), aqua DM, asam galat, reagen folin ciocalteu, Na₂CO₃ 12%, kuersetin, NaNO₂ 5%, AlCl₃ 10%, NaOH 4%, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat)), dan K₂S₂O₈.

3.3 Urutan Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Preparasi dan Ekstraksi Beras Berpigmen

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Chen dkk. (2022), preparasi dimulai dengan memisahkan bulir beras dari kulit atau dedak padi. Kemudian dihaluskan menggunakan grinder beberapa kali hingga didapatkan ukuran partikel yang sama, lalu diayak kembali menggunakan ayakan mesh 100 mesh. Setelah itu, sampel bubuk beras di simpan pada *chiller* pada suhu $\pm 2-10^{\circ}\text{C}$. Setelah itu, dilakukan pengujian kadar air pada sampel. Sebanyak 1 gram sampel lalu dimasukkan ke dalam oven dan dikeringkan pada 105 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit dan diukur kembali perolehan massa kering (massa akhir) setelah dikeluarkan dari oven. Persentase kadar air dapat dihitung menggunakan Persamaan 3.1.

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Massa awal sampel} - \text{Massa akhir sampel}}{\text{Massa awal sampel}} \times 100\% \quad (3.1)$$

Selanjutnya, tahap ekstraksi maserasi terhadap sampel. Terdapat total 5 macam jenis beras yang dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Jenis Variasi Ekstrak Beras

Kode Beras	Variasi Pelarut	Kode Ekstrak Beras
A	EtOH 20%	A-EtOH-20

Lanjutan Tabel 3.1

Kode Beras	Variasi Pelarut	Kode Ekstrak Beras
	EtOH 40%	A-EtOH-40
	EtOH 60%	A-EtOH-60
	EtOH 80%	A-EtOH-80
	EtOH 100%	A-EtOH-100
B	EtOH 20%	B-EtOH-20
	EtOH 40%	B-EtOH-40
	EtOH 60%	B-EtOH-60
	EtOH 80%	B-EtOH-80
	EtOH 100%	B-EtOH-100
C	EtOH 20%	C-EtOH-20
	EtOH 40%	C-EtOH-40
	EtOH 60%	C-EtOH-60
	EtOH 80%	C-EtOH-80
	EtOH 100%	C-EtOH-100
D	EtOH 20%	D-EtOH-20
	EtOH 40%	D-EtOH-40
	EtOH 60%	D-EtOH-60
	EtOH 80%	D-EtOH-80
	EtOH 100%	D-EtOH-100
E	EtOH 20%	E-EtOH-20
	EtOH 40%	E-EtOH-40
	EtOH 60%	E-EtOH-60
	EtOH 80%	E-EtOH-80
	EtOH 100%	E-EtOH-100

Sampel bubuk beras diambil sebanyak 1 gram dan ditambahkan pelarut etanol masing masing variasi seperti dituliskan pada Tabel 3.1 serta diletakkan *magnetic stirrer* ke dalam erlenmeyer. Kemudian erlenmeyer diletakkan diatas penangas dengan rpm ± 300 selama 12 jam, lalu larutan hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring $0,45\mu\text{m}$ dan diambil ± 10 mL sampel hasil ekstraksi untuk dipekatkan menggunakan *waterbath* diatas *hotplate* pada suhu $50-70^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit. Selanjutnya, sampel disimpan dalam botol vial ke dalam pada suhu $\pm 2-10^{\circ}\text{C}$ hingga dilakukan pengujian.

3.3.2 Pengukuran Kandungan Fenolat

Pengujian kadar total fenolat atau *Total Phenolic Content (TPC)* berdasarkan penelitian Nugraheni dkk. (2022) dilakukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (FC) yang diawali dengan pembuatan larutan stok asam galat 500 ppm. Larutan stok diencerkan menjadi konsentrasi 100, 80, 60, 40, 20, dan 0 ppm. Larutan asam galat tersebut diukur absorbansinya pada 780 nm Hasil pengukuran digunakan sebagai kurva standar. Sampel masing – masing pada Tabel 3.1 diambil sebanyak 1 mL lalu ditambahkan dengan Na_2CO_3 12% sebanyak 4 mL dan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu. Campuran selanjutnya diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang tanpa cahaya. Kemudian di analisis hasil reaksi berupa absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis secara triplo menggunakan kuvet yang berbeda. Hasil absorbansi digunakan untuk mengetahui kadar fenolat total (TPC) pada masing-masing variasi sampel dengan menggunakan Persamaan 3.2.

$$\text{Total Fenolat} \left(\frac{\mu\text{g AGE}}{\text{g}} \right) = C \times V \times \text{FP} \times \left(\frac{1}{\text{Massa sampel kering}} \right) \quad (3.2)$$

3.3.3 Pengukuran Kandungan Flavonoid

Pengujian kadar total flavonoid atau *Total Flavonoid Content* (TFC) berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Illing dan Iman (2023) dengan metode kolorimetri menggunakan larutan standar kuersetin 100 ppm, lalu diencerkan menjadi larutan kuersetin 50, 40, 30, 20, 10, 0 ppm. Sebanyak 1 mL larutan sampel beras pada Tabel 3.1 hasil ekstraksi ditambahkan dengan 0,3 mL NaNO₂ 5% lalu diinkubasi selama 5 menit, kemudian ditambahkan 0,3 mL AlCl₃ 10% lalu diinkubasi 6 menit, kemudian ditambahkan 4 mL NaOH 4%, dan 4,4 mL etanol 60% secara bersamaan. Lalu, dilakukan inkubasi pada suhu ruang selama 12 menit, serta di analisis hasil reaksi secara triplo dengan kuvet yang berbeda menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Untuk mengetahui kadar flavonoid total pada masing-masing variasi sampel dapat dihitung menggunakan Persamaan 3.3.

$$\text{Total Flavonoid} \left(\frac{\mu\text{g QE}}{\text{g}} \right) = C \times V \times \text{FP} \times \left(\frac{1}{\text{Massa sampel kering}} \right) \quad (3.3)$$

3.3.4 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Floegel dkk. (2011) dengan modifikasi diawali dari pembuatan larutan DPPH 300 μM kemudian, diambil 5 mL larutan DPPH 300 μM dan ditambahkan larutan sampel hasil ekstraksi beras pada Tabel 3.1 sebanyak 5 mL, sehingga diperoleh total 10 mL campuran untuk selanjutnya dilakukan inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang tanpa cahaya (Wang dkk, 2012). Setelah itu, dianalisis hasil reaksi berupa absorbansi secara triplo menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Kadar antioksidan dalam sampel beras dapat diperoleh menggunakan Persamaan 3.4.

$$\text{Dekolorisasi DPPH} = \left(1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\% \quad (3.4)$$

3.3.5 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS

Pengujian antioksidan menggunakan metode ABTS berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Floegel dkk. (2011) dengan modifikasi. Larutan ABTS ditambahkan larutan K₂S₂O₈ 2,45 mM dengan perbandingan 1:10 untuk membuat larutan ABTS radikal. Kemudian di inkubasi selama 1 jam. Setelah itu, dianalisis hasil absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 0,8-0,2 pada panjang gelombang 730 nm. Apabila hasil absorbansi larutan berada diluar rentang tersebut, maka perlu ditambahkan metanol 100%. Larutan ABTS radikal sebanyak 10 mL ditambahkan dengan 1 mL larutan sampel beras pada Tabel 3.1 dan di inkubasi selama 5 menit. Setelah itu, dianalisis hasil reaksi berupa absorbansi secara triplo menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar antioksidan dalam sampel beras dapat diperoleh menggunakan Persamaan 3.5.

$$\text{Dekolorisasi ABTS} = \left(1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\% \quad (3.5)$$

3.3.6 Analisis Statistik

Prosedur analisis statistik didasarkan pada literatur terdahulu oleh Chen dkk. (2022) dengan modifikasi. Data hasil pengujian TPC, TFC, dan aktivitas antioksidan (DPPH dan ABTS) pada kelima jenis beras berpigmen dan variasi volume pelarut yang tertera pada Tabel 3.1 dilakukan uji korelasi Pearson menggunakan *software* SPSS 26.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

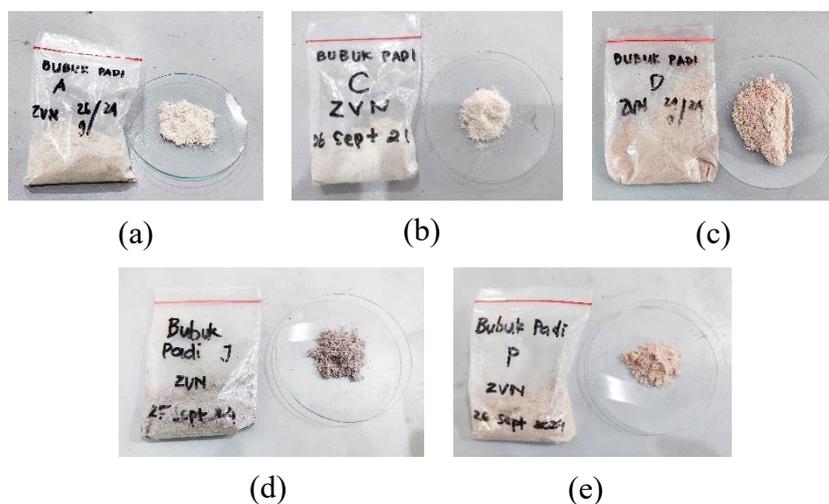
4.1 Ekstraksi Beras

Proses ekstraksi diawali dengan preparasi sampel beras berpigmen hasil persilangan varietas baru yang memiliki kode seperti pada Tabel 3.1 dengan memisahkan bulir beras dari lapisan dedak pada bagian luar padi seperti pada Gambar 4.1 (a). Setelah dipisahkan, dilanjutkan dengan penghalusan bulir beras menjadi bubuk beras menggunakan *grinder*, kemudian beras yang telah dihaluskan diayak menggunakan ayakan 100 mesh untuk mendapatkan sampel dalam bentuk bubuk halus seperti pada Gambar 4.1 (b) dengan ukuran seragam. Bentuk dan ukuran partikel pada sampel beras dapat mempengaruhi proses ekstraksi, semakin kecil ukuran partikel maka semakin besar luas permukaan sehingga dapat mempermudah kontak antara sampel dan pelarut, hal tersebut dapat mempercepat proses ekstraksi. Untuk menentukan kadar air dalam sampel bulir beras, bubuk beras dioven pada suhu 110°C selama kurang lebih 5 menit untuk mengurangi kadar air seperti pada Gambar 4.2. Menurut Maryam dkk. (2020), persentase kadar air yang baik adalah kurang dari 10%.



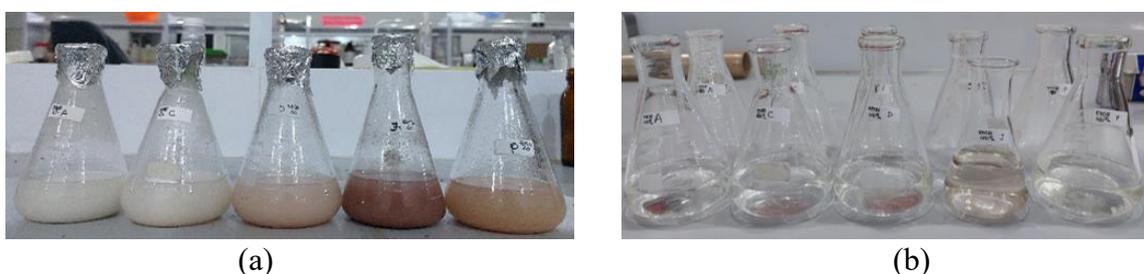
Gambar 4.1 Perbandingan Sampel (a) Masih berbentuk bulir; (b) Sudah berbentuk bubuk

Terdapat perbedaan warna pada sampel beras seperti pada Gambar 4.2 yang diperkirakan mengandung beberapa kandungan senyawa yang dapat mempengaruhi pigmen, diantaranya seperti antosianin yang menyebabkan warna merah, ungu, dan hitam pada beras, karotenoid yang menyebabkan warna kuning atau jingga, dan proantosianidin yang menyebabkan warna merah. Senyawa tersebut merupakan pigmen alami yang terdapat pada lapisan dedak (*bran*) atau sekam (*hull*) (Widyawati dkk., 2014). Adanya pigmen alami tersebut, tidak hanya mempresentasikan warna fisik pada beras berpigmen tetapi juga menjadi indikator potensi kesehatan yang signifikan.



Gambar 4.2 Bubuk Beras (a) Kode A; (b) Kode B; (c) Kode C; (d) Kode D; (e) Kode E

Bubuk beras yang diperoleh selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dengan variasi volume sesuai pada Tabel 3.1. Maserasi dipilih sebagai metode ekstraksi karena prosedur yang sederhana, tidak memerlukan alat yang rumit, serta cocok digunakan untuk sampel yang relatif mudah larut, seperti fenolat dan flavonoid (polar) yakni dengan perendaman sampel dalam pelarut dengan suhu kamar pada waktu tertentu. Metode ekstraksi dengan suhu tinggi tidak disarankan karena dapat mendegradasi bioaktif pada sampel beras seperti fenolat dan flavonoid yang mengandung antioksidan. Pelarut etanol merupakan pelarut universal yang mampu menarik senyawa aktif karena memiliki gugus -OH yang dapat melarutkan molekul polar seperti fenolat dan flavonoid, serta adanya gugus alkil CH_3CH_2- yang dapat melarutkan molekul non-polar (Iling dan Iman, 2023). Variasi volume pada pelarut etanol bertujuan untuk mengetahui pengaruh volume pelarut terhadap kandungan senyawa fenolat dan flavonoid serta aktivitas antioksidan pada sampel beras berpigmen. Setelah dilakukan proses ekstraksi maserasi, larutan ekstrak disaring menggunakan kertas saring $0,45\mu\text{m}$ untuk memisahkan antara filtrat dengan residu seperti terlihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil Larutan Ekstrak Maserasi Beras Berpigmen (a) Sebelum Penyaringan; (b) Setelah Penyaringan

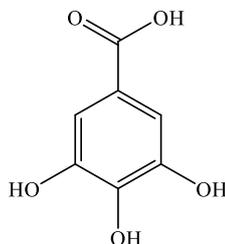
Larutan filtrat hasil ekstraksi yang telah terpisah dari residu pada keseluruhan variasi volume pelarut terlihat lebih jernih dibanding larutan sebelum penyaringan. Ekstrak selanjutnya disimpan di dalam botol vial kaca gelap berukuran 50 mL yang dilapisi aluminium foil untuk menjaga dari paparan cahaya secara langsung yang berpotensi merusak larutan dan dalam kondisi kedap udara agar dapat memperpanjang masa simpan ekstrak. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam sampel cenderung mudah mengalami degradasi atau perubahan ketika terpapar radiasi elektromagnetik, terutama sinar ultraviolet (UV) (Njinga dkk., 2020). Ekstrak beras selanjutnya digunakan untuk pengujian total fenolat, flavonoid, dan aktivitas antioksidan.

4.2 Kandungan Total Fenolat (TPC) dan Total Flavonoid (TFC) Ekstrak Beras

Ekstrak beras selanjutnya dilakukan pengujian terhadap kandungan total fenolat (*Total Phenolic Content*) dan total flavonoid (*Total Flavonoid Content*) menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis. Sebelum memulai proses pengujian ekstrak, larutan standar diuji untuk membuat kurva standar masing-masing pengujian. Kurva standar yang didapatkan terdiri dari sumbu-x menunjukkan konsentrasi dan sumbu-y menunjukkan absorbansi. Kandungan fenolat dan flavonoid ekstrak beras secara keseluruhan dihitung dengan menggunakan persamaan regresi yang diperoleh dari masing-masing kurva kalibrasi. Untuk meminimalisir kesalahan pengukuran, setiap pengujian dilakukan dengan tiga kali pengulangan (triplo) (Qamariah dan Rahmadhani, 2017).

Pengujian kandungan total fenolat (*Total Phenolic Content*) pada ekstrak beras dilakukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (F-C). Metode ini merupakan salah satu metode spektrofotometri yang didasarkan pada reaksi reduksi-oksidasi (redoks) senyawa fenolat dalam sampel dengan reagen dalam kondisi basa. Pemilihan metode ini dikarenakan

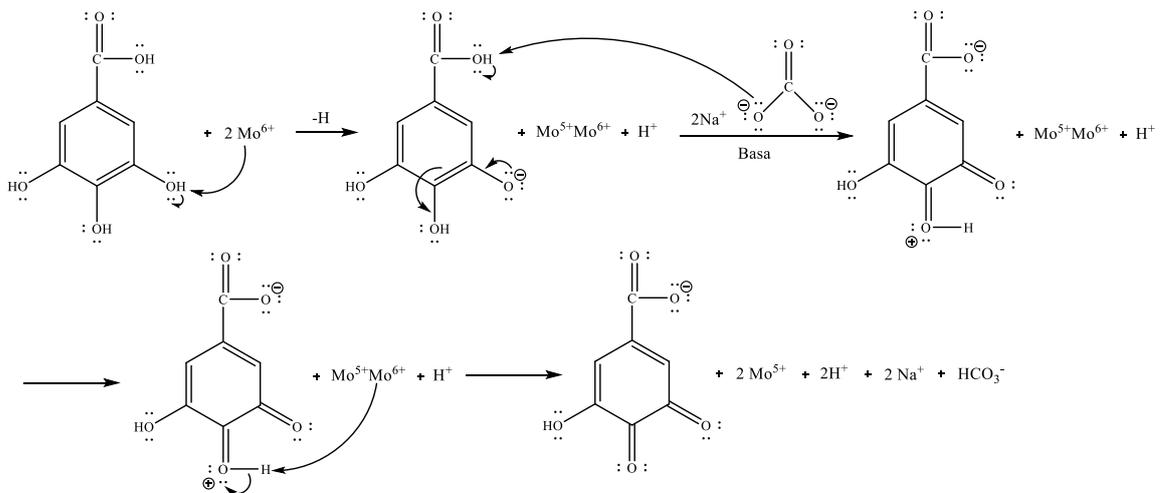
sederhana, cepat, dan biaya relatif rendah. Prosedur pengujian diawali dengan pembuatan larutan standar menggunakan asam galat. Terdapat beberapa faktor penggunaan asam galat sebagai larutan standar, diantaranya mengandung senyawa fenolat, tersedia komersial dengan kemurnian tinggi, dapat larut dalam pelarut polar (etanol) dan air dengan baik, cenderung stabil dalam penyimpanan maupun pengujian, reaktif terhadap reagen F-C, serta representatif sampel ekstrak beras berpigmen (Pérez dkk., 2023). Struktur senyawa asam galat dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Struktur Asam Galat ($C_7H_6O_5$)

Berdasarkan strukturnya, asam galat memiliki gugus karboksilat ($-COOH$) dan gugus hidroksil ($-OH$). Gugus karboksilat memberikan sifat asam, dapat membentuk garam saat bereaksi dengan basa, dan dapat membentuk ester saat bereaksi dengan alkohol. Sedangkan gugus hidroksil pada asam galat mudah teroksidasi dengan kehilangan proton dan elektron, dimana pada pengujian ini asam galat berperan sebagai reduktor yang akan mereduksi reagen F-C dan mengalami oksidasi. Selain itu keberadaan ketiga gugus hidroksil pada posisi orto (1,2) dan para (1,4) dapat meningkatkan aktivitas antioksidan karena resonansi yang lebih stabil dari radikal fenoksi yang terbentuk. Radikal fenoksi yang terbentuk dapat dikatakan stabil karena elektron tak berpasangan pada atom oksigen dapat terdelokalisasi melalui cincin benzena. Gugus hidroksil juga dapat membentuk ikatan hidrogen dengan molekul pelarut sehingga mempengaruhi kelarutannya. Dibuat larutan stok standar asam galat 500 ppm kemudian diencerkan menjadi 100, 80, 60, 40, 20, dan 0 ppm untuk membuat kurva standar. Kurva standar yang diperoleh dianalisis melalui persamaan regresi linear pada masing-masing variasi volume pelarut.

Pengujian larutan sampel ditambahkan larutan Na_2CO_3 yang berfungsi untuk membentuk garam pada gugus karboksilat ($-COOH$) asam galat, mempertahankan suasana basa yang optimal agar terjadi reaksi reduksi reagen F-C oleh gugus hidroksil ($-OH$) dari senyawa fenolat di dalam sampel lebih efisien, menghasilkan warna yang intens, dan deprotonasi membentuk ion fenolat yang reaktif terhadap reagen (Talapessy dkk., 2013). Selain itu, Na_2CO_3 diperlukan untuk menghentikan reaksi oksidasi lebih lanjut yang dapat menyebabkan hasil analisis tidak akurat. Terdapat beberapa kemungkinan apabila pengujian dilakukan tanpa penambahan Na_2CO_3 seperti pembentukan warna biru kurang signifikan, hasil pengukuran cenderung sangat rendah, serta metode tidak valid tanpa penambahan senyawa basa guna mencapai pH yang optimal. Setelah itu, Reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan pada campuran larutan, dimana reagen F-C terdiri atas asam fosfomolibdat ($H_3PMo_{12}O_{40}$ atau $H_3PO_4(MoO_3)_{12}$) dan asam fosfotungstat ($H_3PW_{12}O_{40}$ atau $H_3PO_4(WO_3)_{12}$) yang kemudian membentuk kompleks heteropolianion berwarna kuning seperti pada Gambar 2.6. Dalam pengujian ini, reagen F-C akan mengalami reduksi ion molibdat (Mo^{6+}) dan ion tungstat (W^{6+}) oleh elektron asam galat sebagai senyawa fenolat menjadi bentuk oksida dengan bilangan oksidasi lebih rendah yaitu Mo^{5+} dan W^{5+} dalam bentuk kompleks molibdenum-tungsten seperti pada Gambar 2.5 (Pérez dkk., 2023). Berikut di ilustrasikan mekanisme reaksi pada pengujian kandungan fenolat total pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Mekanisme Reaksi Senyawa Fenolat (Asam Galat) dengan Na_2CO_3 dan Reagen Folin-Ciocalteu (F-C) pada Pengujian Kandungan Fenolat Total

Reagen Folin-Ciocalteu bersifat rentan terhadap cahaya matahari, sehingga apabila terpapar cahaya matahari absorbansi yang dihasilkan cenderung menurun. Semakin gelap intensitas warna larutan, menandakan semakin tingginya kadar total fenolat dalam sampel. Warna biru kehijauan yang dihasilkan berbanding lurus dengan ion fenolat yang terbentuk (Talapessy dkk., 2013). Pengukuran absorbansi campuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 700-800 nm dan didapatkan panjang gelombang maksimum di 780 nm. Total kandungan fenolat ekstrak beras ditentukan berdasarkan persamaan garis yang telah didapatkan dari kurva standar asam galat menggunakan Persamaan 3.2. Data yang didapat dinyatakan dalam μg Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering. Total kandungan fenolat ekstrak beras tiap variasi volume pelarut dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Pengujian Total Fenolat Ekstrak Beras Menggunakan Pelarut Etanol

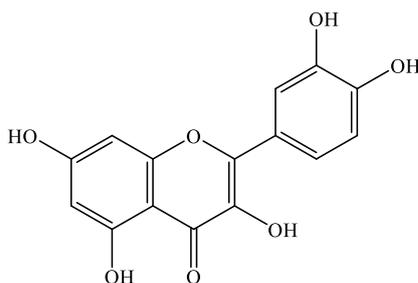
Kode Beras	Variasi Pelarut	Kode Ekstrak Beras	Kandungan Total Fenolat (μg Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering)
A	EtOH 20%	A-EtOH-20	$66,324 \pm 0,007$
	EtOH 40%	A-EtOH-40	$59,675 \pm 0,003$
	EtOH 60%	A-EtOH-60	$68,268 \pm 0,015$
	EtOH 80%	A-EtOH-80	$86,196 \pm 0,007$
	EtOH 100%	A-EtOH-100	$84,158 \pm 0,005$
B	EtOH 20%	B-EtOH-20	$50,809 \pm 0,004$
	EtOH 40%	B-EtOH-40	$45,464 \pm 0,006$
	EtOH 60%	B-EtOH-60	$69,651 \pm 0,008$
	EtOH 80%	B-EtOH-80	$87,200 \pm 0,009$
	EtOH 100%	B-EtOH-100	$87,700 \pm 0,007$
C	EtOH 20%	C-EtOH-20	$66,810 \pm 0,004$
	EtOH 40%	C-EtOH-40	$60,150 \pm 0,006$
	EtOH 60%	C-EtOH-60	$71,767 \pm 0,010$
	EtOH 80%	C-EtOH-80	$68,185 \pm 0,002$
	EtOH 100%	C-EtOH-100	$71,863 \pm 0,006$

Lanjutan Tabel 4.1

Kode Beras	Variasi Pelarut	Kode Ekstrak Beras	Kandungan Total Fenolat (μg Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering)
D	EtOH 20%	D-EtOH-20	$34,117 \pm 0,001$
	EtOH 40%	D-EtOH-40	$42,090 \pm 0,008$
	EtOH 60%	D-EtOH-60	$76,942 \pm 0,008$
	EtOH 80%	D-EtOH-80	$60,697 \pm 0,002$
	EtOH 100%	D-EtOH-100	$45,335 \pm 0,002$
E	EtOH 20%	E-EtOH-20	$67,895 \pm 0,013$
	EtOH 40%	E-EtOH-40	$59,725 \pm 0,003$
	EtOH 60%	E-EtOH-60	$68,494 \pm 0,008$
	EtOH 80%	E-EtOH-80	$67,325 \pm 0,003$
	EtOH 100%	E-EtOH-100	$88,046 \pm 0,007$

Berdasarkan Tabel 4.1 diketahui nilai Kandungan Total Fenolat dengan satuan μg Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering pada masing-masing variasi beras menggunakan pelarut etanol. Ekstrak beras dengan kode A menunjukkan total fenolat paling tinggi pada variasi volume etanol 80% (A-EtOH-80) yakni sebesar $86,196 \mu\text{g}$ Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering. Ekstrak beras dengan kode B menunjukkan total fenolat paling tinggi pada variasi volume etanol 100% (B-EtOH-100) yakni sebesar $87,700 \mu\text{g}$ Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering. Ekstrak beras dengan kode C menunjukkan total fenolat paling tinggi pada variasi volume etanol 100% (C-EtOH-100) yakni sebesar $71,863 \mu\text{g}$ Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering. Ekstrak beras dengan kode D menunjukkan total fenolat paling tinggi pada variasi volume etanol 60% (D-EtOH-60) yakni sebesar $76,942 \mu\text{g}$ Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering. Serta ekstrak beras dengan kode E menunjukkan total fenolat paling tinggi pada variasi volume etanol 100% (E-EtOH-100) yakni sebesar $88,046 \mu\text{g}$ Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering.

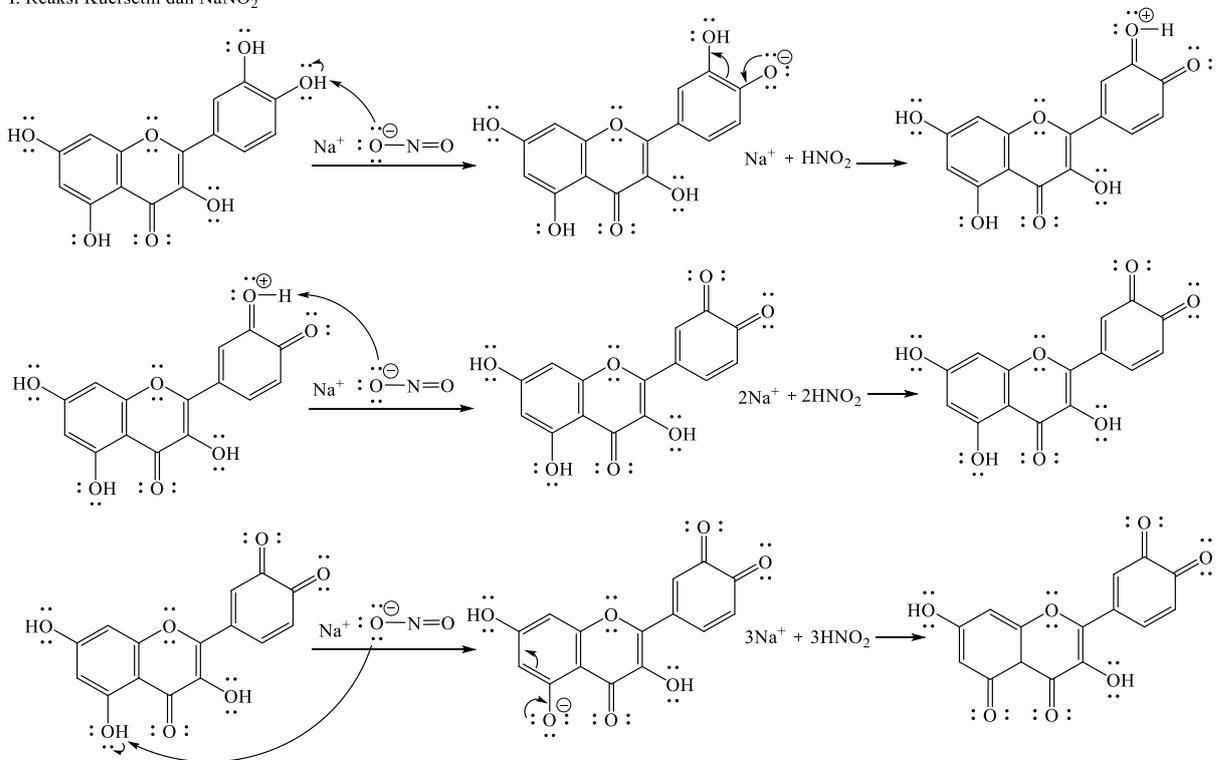
Pengujian kandungan total flavonoid (TFC) pada ekstrak beras dilakukan menggunakan metode kompleks kolorimetri dengan reagen AlCl_3 . Pemilihan metode ini dikarenakan metode kolorimetri didasarkan pada prinsip pembentukan senyawa berwarna, dimana intensitas warna digunakan dalam analisis karena berbanding lurus dengan konsentrasi total flavonoid dalam sampel. Selain itu, kolorimetri relatif sederhana apabila dibandingkan dengan teknik analisis pengujian flavonoid lain seperti kromatografi menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), GC (*Gas Chromatography*), atau spektroskopi massa, serta sensitivitas yang cukup tinggi. Metode kolorimetri dapat menggunakan beberapa reagen dalam pengujiannya seperti FeCl_3 dan AlCl_3 . Namun, FeCl_3 diketahui kurang ideal untuk kuantifikasi total flavonoid secara kolorimetri karena kurang spesifik dan mungkin kurang sensitif dibandingkan AlCl_3 (Nagori dkk., 2025). Metode ini diawali dengan pembuatan kurva standar menggunakan kuersetin. Berikut struktur senyawa kuersetin dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Gambar 4.6 Struktur Senyawa Kuersetin ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$)

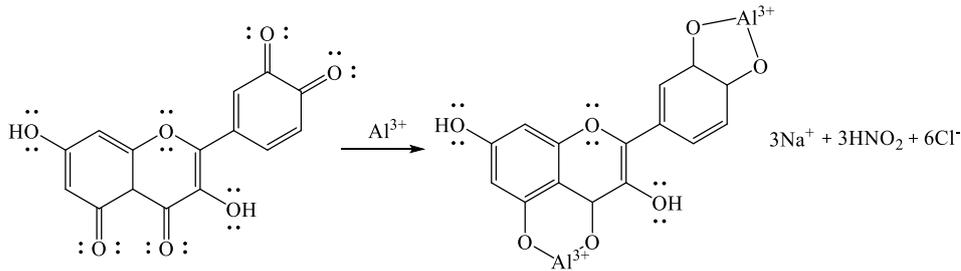
Penggunaan kuersetin sebagai kurva standar dikarenakan kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, representatif untuk senyawa flavonoid, dan mampu membentuk kompleks warna dengan reagen AlCl_3 , sehingga dapat menangkap radikal bebas dan mencegah proses oksidasi yang merupakan reaksi berantai (Nicolescu dkk, 2025). Dibuat larutan stok standar kuersetin 100 ppm kemudian diencerkan menjadi 50, 40, 30, 20, 10, dan 0 ppm untuk membuat kurva standar. Kurva standar yang diperoleh dianalisis melalui persamaan regresi linear pada masing-masing variasi volume pelarut.

Pengujian larutan sampel ditambahkan larutan NaNO_2 5% lalu dilakukan inkubasi selama 5 menit. Penambahan larutan natrium nitrit (NaNO_2) bertujuan untuk mendeaminasi senyawa pengganggu pembentukan kompleks antara flavonoid dan AlCl_3 dan meningkatkan reaktivitas flavonoid agar dapat menghasilkan warna yang lebih stabil. Kemudian ditambahkan reagen AlCl_3 10% lalu dilakukan inkubasi kembali selama 6 menit. Setelah itu, ditambahkan NaOH 4%. Penambahan larutan sodium hidroksida (NaOH) bertujuan untuk meningkatkan intensitas dan stabilitas warna senyawa kompleks yang terbentuk sehingga absorbansi lebih akurat. Selain itu, NaOH juga menyebabkan pergeseran panjang gelombang (λ) batokromik dan deprotonasi gugus fenolat pada flavonoid membentuk ion fenolat yang akan berinteraksi dengan ion aluminium kompleks yang dapat mempengaruhi spektrum serapan. Serta ditambahkan etanol 60% lalu dilakukan inkubasi selama 12 menit. Penambahan etanol bertujuan untuk melarutkan ekstrak berbagai jenis senyawa flavonoid dengan kepolaran berbeda agar dapat bereaksi dengan reagen dan sebagai medium reaksi pembentukan kompleks. Inkubasi dilakukan di ruangan gelap karena kuersetin sebagai larutan standar sensitif terhadap cahaya (Pinheiro dkk., 2012). Reaksi pada pengujian kadar total flavonoid dapat di ilustrasikan pada Gambar 4.7.

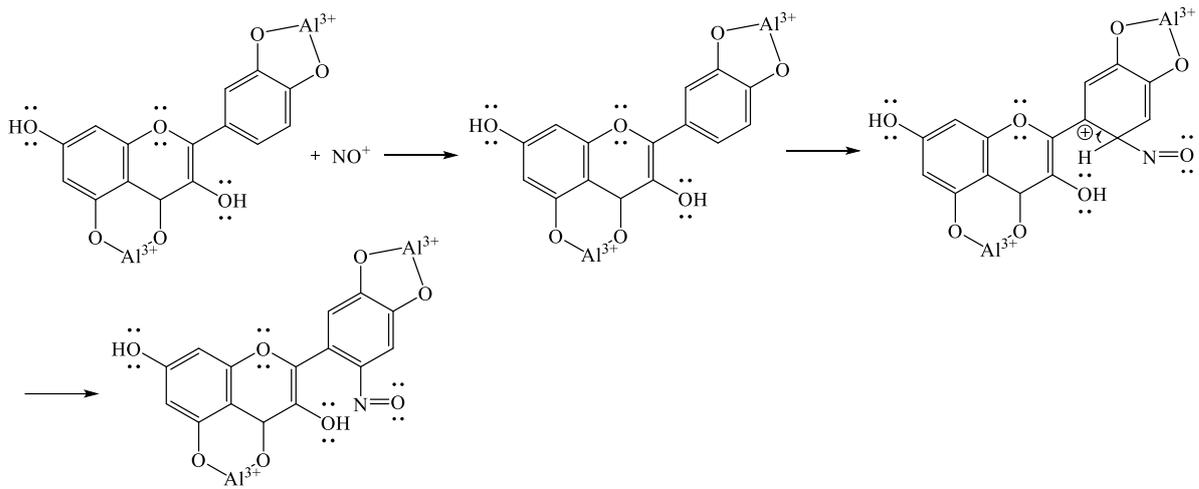
I. Reaksi Kuersetin dan NaNO_2



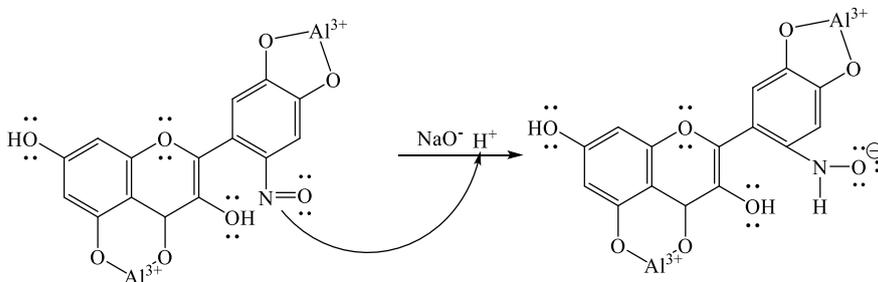
II. Reaksi Al (III) atau Al^{3+} dan kuersetin



III. Reaksi Nitrosilasi pada kuersetin



IV. Reaksi NaOH dengan gugus nitro



Gambar 4.7 Mekanisme Reaksi Senyawa Flavonoid (Kuersetin), Reagen AlCl_3 , NaNO_2 , NaOH , dan Etanol pada Pengujian Kandungan Flavonoid Total

Pengukuran absorbansi campuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-520 nm dan didapatkan panjang gelombang maksimum di 510 nm. Total kandungan fenolat ekstrak beras ditentukan berdasarkan persamaan garis yang telah didapatkan dari kurva standar kuersetin menggunakan Persamaan 3.2. Data yang didapat dinyatakan dalam μg Kuersetin Ekuivalen (QE)/g beras kering. Total kandungan flavonoid ekstrak beras tiap variasi volume pelarut dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Pengujian Total Flavonoid Ekstrak Beras Menggunakan Pelarut Etanol

Kode Beras	Variasi Pelarut	Kode Ekstrak Beras	Kandungan Total Flavonoid (μg Kuersetin Ekuivalen (QE)/g beras kering)
A	EtOH 20%	A-EtOH-20	65,225 \pm 0,006

Lanjutan Tabel 4.2

	EtOH 40%	A-EtOH-40	54,998 ± 0,002
	EtOH 60%	A-EtOH-60	59,761 ± 0,005
	EtOH 80%	A-EtOH-80	51,167 ± 0,003
	EtOH 100%	A-EtOH-100	70,382 ± 0,006
B	EtOH 20%	B-EtOH-20	50,625 ± 0,005
	EtOH 40%	B-EtOH-40	40,968 ± 0,005
	EtOH 60%	B-EtOH-60	53,125 ± 0,003
	EtOH 80%	B-EtOH-80	52,113 ± 0,006
	EtOH 100%	B-EtOH-100	61,156 ± 0,012
C	EtOH 20%	C-EtOH-20	59,052 ± 0,008
	EtOH 40%	C-EtOH-40	56,696 ± 0,007
	EtOH 60%	C-EtOH-60	53,574 ± 0,005
	EtOH 80%	C-EtOH-80	52,482 ± 0,003
	EtOH 100%	C-EtOH-100	62,985 ± 0,005
D	EtOH 20%	D-EtOH-20	30,218 ± 0,005
	EtOH 40%	D-EtOH-40	34,933 ± 0,004
	EtOH 60%	D-EtOH-60	21,024 ± 0,006
	EtOH 80%	D-EtOH-80	31,247 ± 0,004
	EtOH 100%	D-EtOH-100	38,817 ± 0,003
E	EtOH 20%	E-EtOH-20	54,017 ± 0,017
	EtOH 40%	E-EtOH-40	55,670 ± 0,004
	EtOH 60%	E-EtOH-60	62,082 ± 0,005
	EtOH 80%	E-EtOH-80	63,309 ± 0,005
	EtOH 100%	E-EtOH-100	62,404 ± 0,004

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui nilai Kandungan Total Flavonoid dengan satuan μg Kuersetin Ekuivalen (QE)/g beras kering pada masing-masing variasi beras menggunakan pelarut etanol. Ekstrak beras dengan kode A menunjukkan total fenolat paling tinggi pada variasi volume etanol 100% (A-EtOH-100) yakni sebesar 70,382 μg Kuersetin Ekuivalen (QE)/g beras kering. Ekstrak beras dengan kode B menunjukkan total fenolat paling tinggi pada variasi volume etanol 100% (B-EtOH-100) yakni sebesar 61,156 μg Kuersetin Ekuivalen (QE)/g beras kering. Ekstrak beras dengan kode C menunjukkan total fenolat paling tinggi pada variasi volume etanol 100% (C-EtOH-100) yakni sebesar 62,985 μg Kuersetin Ekuivalen (QE)/g beras kering. Ekstrak beras dengan kode D menunjukkan total fenolat paling tinggi pada variasi volume etanol 100% (D-EtOH-100) yakni sebesar 38,817 μg Kuersetin Ekuivalen (QE)/g beras kering. Serta ekstrak beras dengan kode E menunjukkan total fenolat paling tinggi pada variasi volume etanol 80% (E-EtOH-80) yakni sebesar 63,309 μg Kuersetin Ekuivalen (QE)/g beras kering.

Untuk mengetahui keterkaitan antara kandungan senyawa fenolat dan flavonoid pada masing-masing kode sampel beras, dapat dianalisis data hasil pengujian kandungan total fenolat dan flavonoid pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Perbandingan Data Hasil Pengujian Kandungan Total Fenolat dan Flavonoid

Kode Beras	Kode Ekstrak Beras	Kandungan Total Fenolat (μg Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering)	Kandungan Total Flavonoid (μg Kuersetin Ekuivalen (QE)/g beras kering)
------------	--------------------	--	--

Lanjutan Tabel 4.3

A	A-EtOH-20	66,324 ± 0,007	65,225 ± 0,006
	A-EtOH-40	59,675 ± 0,003	54,998 ± 0,002
	A-EtOH-60	68,268 ± 0,015	59,761 ± 0,005
	A-EtOH-80	86,196 ± 0,007	51,167 ± 0,003
	A-EtOH-100	84,158 ± 0,005	70,382 ± 0,006
B	B-EtOH-20	50,809 ± 0,004	50,625 ± 0,005
	B-EtOH-40	45,464 ± 0,006	40,968 ± 0,005
	B-EtOH-60	69,651 ± 0,008	53,125 ± 0,003
	B-EtOH-80	87,200 ± 0,009	52,113 ± 0,006
	B-EtOH-100	87,700 ± 0,007	61,156 ± 0,012
C	C-EtOH-20	66,810 ± 0,004	59,052 ± 0,008
	C-EtOH-40	60,150 ± 0,006	56,696 ± 0,007
	C-EtOH-60	71,767 ± 0,010	53,574 ± 0,005
	C-EtOH-80	68,185 ± 0,002	52,482 ± 0,003
	C-EtOH-100	71,863 ± 0,006	62,985 ± 0,005
D	D-EtOH-20	34,117 ± 0,001	30,218 ± 0,005
	D-EtOH-40	42,090 ± 0,008	34,933 ± 0,004
	D-EtOH-60	76,942 ± 0,008	21,024 ± 0,006
	D-EtOH-80	60,697 ± 0,002	31,247 ± 0,004
	D-EtOH-100	45,335 ± 0,002	38,817 ± 0,003
E	E-EtOH-20	67,895 ± 0,013	54,017 ± 0,017
	E-EtOH-40	59,725 ± 0,003	55,670 ± 0,004
	E-EtOH-60	68,494 ± 0,008	62,082 ± 0,005
	E-EtOH-80	67,325 ± 0,003	63,309 ± 0,005
	E-EtOH-100	88,046 ± 0,007	62,404 ± 0,004

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat dibandingkan hasil pengujian antara kandungan total fenolat dengan satuan μg Asam Galat Ekuivalen (AGE)/g beras kering dan kandungan total flavonoid dengan satuan μg Kuersetin Ekuivalen (QE)/g beras kering. Berdasarkan klasifikasi senyawa metabolit sekunder, flavonoid merupakan salah satu bagian dari jenis senyawa fenolat. Dengan demikian hasil pengujian kandungan total fenolat atau *Total Phenolic Content* (TPC) umumnya lebih tinggi dibanding kandungan total flavonoid atau *Total Flavonoid Content* (TFC). Analisis data hasil pengujian TPC dan TFC pada penelitian ini didasarkan pada jenis sampel beras, karena masing-masing sampel beras memiliki karakteristik dan kandungan, serta bioaktif senyawa yang berbeda sehingga tidak dapat disimpulkan secara general. Pada jenis beras A, menunjukkan hasil pengujian TPC tertinggi pada variasi pelarut EtOH 80% yakni dengan kode A-EtOH-80, sedangkan hasil pengujian TFC tertinggi pada variasi pelarut EtOH 100% dengan kode A-EtOH-100. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa fenolat yang dominan terkandung dalam beras A pada kode A-EtOH-80 bukan merupakan senyawa flavonoid. Pada jenis beras B, menunjukkan hasil pengujian TPC dan TFC tertinggi pada variasi pelarut yang sama yaitu EtOH 100% dengan kode B-EtOH-100. Hal tersebut menunjukkan senyawa fenolat yang terkandung dalam beras B merupakan senyawa flavonoid, dikarenakan hasil pengujian yang berbanding lurus. Pada jenis beras C, menunjukkan hasil pengujian TPC dan TFC tertinggi pada variasi pelarut yang sama yaitu EtOH 100% dengan kode C-EtOH-100. Seperti sampel beras sebelumnya, senyawa fenolat yang terkandung dalam sampel beras C merupakan senyawa flavonoid. Pada jenis beras D, menunjukkan hasil pengujian TPC tertinggi pada variasi pelarut EtOH 60% yakni dengan kode D-EtOH-60, sedangkan hasil pengujian TFC tertinggi pada variasi pelarut EtOH 100% dengan kode D-EtOH-100. Begitu pula dengan jenis

beras E, menunjukkan hasil pengujian TPC tertinggi pada variasi pelarut EtOH 100% yakni dengan kode E-EtOH-100, sedangkan hasil pengujian TFC tertinggi pada variasi pelarut EtOH 80% dengan kode E-EtOH-80. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa fenolat yang dominan terkandung dalam beras D dan E bukan merupakan senyawa flavonoid. Dimungkinkan terdapat jenis fenolat non flavonoid yang lebih dominan dibanding flavonoid, namun tidak dapat diidentifikasi melalui metode pengujian ini.

Beberapa senyawa fenolat non flavonoid yang dimungkinkan terdeteksi pada pengujian kandungan total fenolat (*Total Phenolic Content*) diantaranya seperti asam fenolat yang terdiri atas asam hidroksibenzoat dan asam hidroksisinamat, stilbena, lignan, kumarin, tanin, dan lain sebagainya (Zhang dkk., 2022). Namun, metode pengujian seringkali terkhusus pada senyawa flavonoid dikarenakan beberapa faktor, diantaranya keberlimpahannya yang luas hampir diseluruh bagian tumbuhan, adanya keberagaman struktur sub-kelas flavonoid, serta fungsi biologis penting menjadikan flavonoid menjadi fokus penelitian dan target identifikasi bagi para peneliti. Berdasarkan keragaman struktural dan jumlah kadar terbesar hingga terkecil, berikut urutan dominansi senyawa fenolat yaitu flavonoid, asam fenolat, tanin, fenol sederhana, stilbena, lignan, dan kumarin. Selain itu, dimungkinkan terdapat senyawa makronutrien yang dapat pula terdeteksi dan menyebabkan interferensi dalam pengujian ini, diantaranya seperti karbohidrat, protein, dan lemak (Ford dkk., 2010).

Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi interferensi terutama oleh makronutrien tersebut diantaranya adalah dengan ekstraksi selektif menggunakan pelarut yang lebih selektif untuk senyawa fenolat, seperti etanol, metanol, dan aseton. Lalu pemurnian sampel sebelum dilakukannya pengujian TPC, misalnya seperti ekstraksi cair-cair, SPE (*Solid Phase Extraction*), dan kromatografi kolom. Untuk mengidentifikasi lebih lanjut terkait jenis senyawa fenolat secara spesifik, dibutuhkan analisis lanjutan dengan karakterisasi masing-masing senyawa menggunakan beberapa instrumen, seperti Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT/HPLC), Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (KG-SM/GC-MS), Spektroskopi Resonansi Magnetik Nuklir (NMR), Spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR), serta Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Umumnya hasil pengujian TPC lebih besar dibanding hasil pengujian pada TFC. Namun, terdapat pula penelitian yang memiliki data hasil pengujian TPC lebih kecil dibanding TFC. Hal tersebut dapat disebabkan oleh beberapa hal diantaranya adalah kesalahan prosedural dalam uji TPC, seperti konsentrasi sampel dan pereaksi tidak tepat, waktu inkubasi terlalu singkat, suhu yang tidak dikontrol, kalibrasi spektrofotometer yang buruk, kontaminasi pada kuvet, serta reagen F-C yang terdegradasi atau kadaluwarsa. Lalu, kesalahan prosedural dan interferensi spesifik dalam uji TFC, seperti kesalahan pengenceran dan penggunaan standar yang salah. Beberapa metode seperti penggunaan reagen $AlCl_3$ pada TFC seringkali memiliki interferensi dari senyawa bukan flavonoid atau bahkan non fenolat yang tidak bereaksi dalam uji TPC. Hal tersebut menyebabkan tingginya nilai TFC dari seharusnya. Kemudian, adanya penggunaan standar kalibrasi yang tidak tepat, serta ekstraksi yang tidak optimal. Apabila jenis pelarut atau metode ekstraksi lebih efisien terhadap flavonoid dibanding fenolat non flavonoid memungkinkan terjadinya bias dalam pengukuran.

4.3 Aktivitas dan Kandungan Antioksidan Ekstrak Beras

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan dua metode, yakni metode DPPH dan ABTS. Suatu radikal bebas dapat terbentuk melalui tiga tahapan diantaranya yaitu tahap inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi, radikal terbentuk dari molekul non-radikal yang stabil melalui beberapa jenis reaksi seperti pemutusan homolitik ikatan kovalen, dimana ikatan kovalen antara dua atom pecah sedemikian rupa sehingga setiap atom menerima satu elektron dari ikatan yang terputus dan membentuk dua radikal. Selain itu, dapat pula terbentuk melalui reaksi redoks transfer elektron, serta adisi radikal menuju ikatan rangkap.

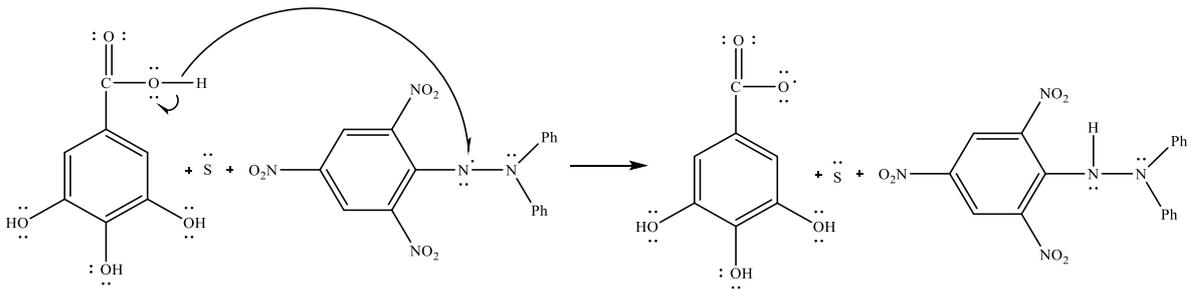
Selanjutnya adalah tahap propagasi. Pada tahap ini, radikal bereaksi dengan molekul non-radikal lainnya membentuk suatu siklus radikal melalui beberapa jenis reaksi seperti adisi radikal menuju ikatan rangkap dan abstraksi atom. Kemudian diakhiri dengan tahapan terminasi dimana radikal bebas dihilangkan dari sistem dan menandakan berakhirnya suatu reaksi berantai. Terdapat beberapa jenis reaksi yang dapat terjadi pada tahap ini seperti reaksi kombinasi dua radikal, dismutasi, dan reaksi dengan inhibitor.

Adapun jenis mekanisme antioksidan terbagi menjadi lima jenis, yaitu *radical scavenger* seperti halnya pada metode DPPH dan ABTS, *reducing power* atau daya reduksi seperti pada metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), *Lipid Peroxidation Inhibition* dengan senyawa seperti linoleat tiosianat dan beta karoten, penghambatan pengkhalatan logam dimana maksud dari pengkhalatan adalah mengikat logam berat agar tidak mengkatalisis reaksi oksidasi dengan suatu ligan yaitu antioksidan, serta mekanisme sinergis melalui penambahan antioksidan.

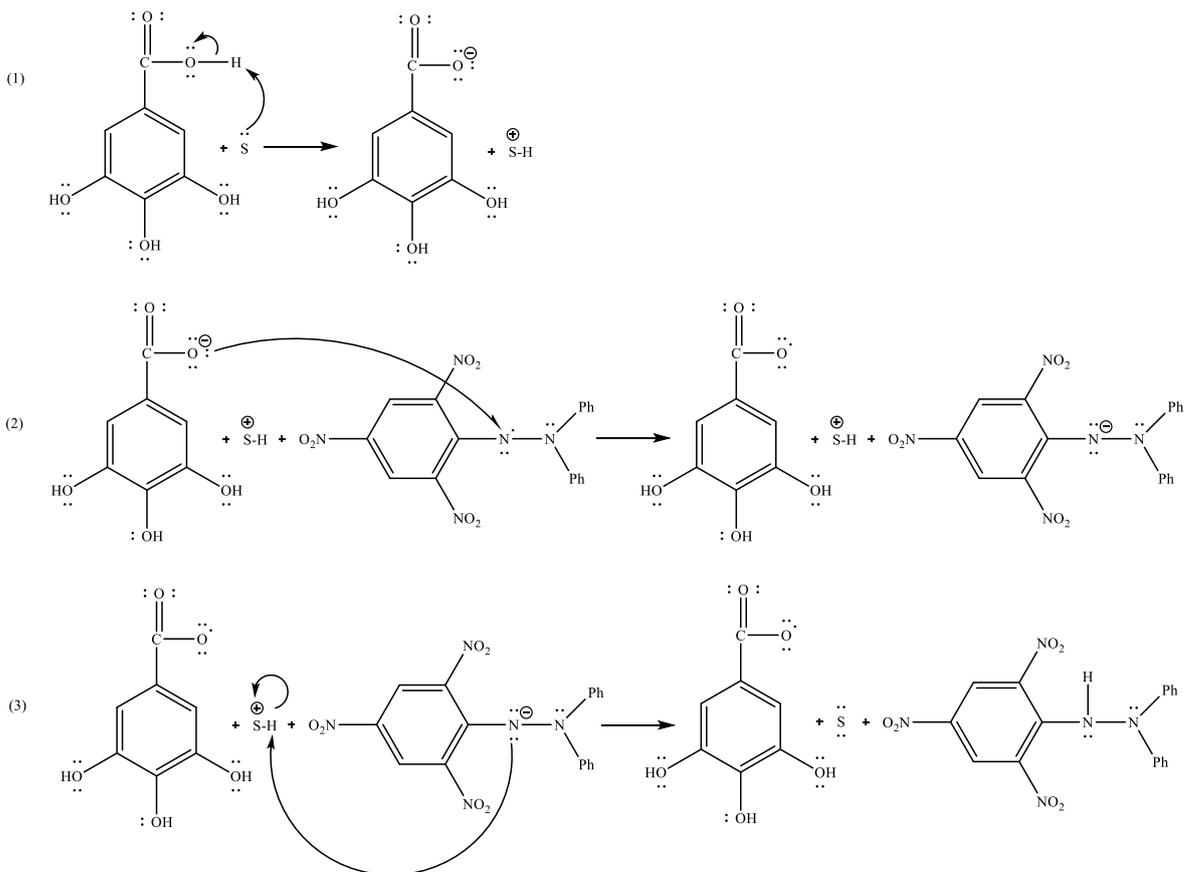
Terdapat beberapa reaksi antioksidan dalam menetralkan radikal bebas, diantaranya *hydrogen atom transfer* (HAT) dan *electron transfer* (ET). HAT melibatkan transfer atom yakni proton dan elektron dari molekul antioksidan ke radikal bebas. Terdapat beberapa karakteristik mekanisme HAT, diantaranya yaitu donor atom hidrogen, reaksi terjadi serentak, dan cenderung dominan pada pelarut non-polar atau lipofilik. Mekanisme HAT juga merupakan reaksi kompetitif kinetik antara antioksidan dan substrat untuk membentuk radikal peroksil melalui dekomposisi senyawa azo. Contoh metode pengujian aktivitas antioksidan menggunakan mekanisme HAT yaitu ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*), TRAP (*Total Radical Trapping Antioxidant*), dan DPPH. Sedangkan ET melibatkan transfer elektron tunggal dari molekul antioksidan ke radikal bebas. Terdapat beberapa karakteristik ET, diantaranya yaitu donor elektron, reaksi terjadi dalam dua langkah (*Proton-Coupled Electron Transfer*), dan cenderung dominan pada pelarut polar atau hidrofilik. Mekanisme ET didasarkan pada reaksi redoks yang digunakan untuk menganalisis kapasitas antioksidan melalui perubahan warna yang disebabkan oleh reaksi reduksi (Arifin dkk., 2019). Contoh metode pengujian aktivitas antioksidan menggunakan mekanisme ET yaitu FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*), CUPRAC (*Cupric Reducing Antioxidant Capacity*), DPPH, dan ABTS.

Untuk menentukan senyawa antioksidan cenderung mengalami mekanisme HAT atau ET, dapat dilakukan beberapa analisis seperti studi kinetika reaksi yaitu pengukuran kecepatan reaksi dan efek deuterium. Dalam hal pengukuran kecepatan reaksi, HAT lebih cepat dan tidak terlalu sensitif terhadap polaritas pelarut atau pH jika dibandingkan dengan ET. Efek deuterium merupakan penggantian atom hidrogen yang dapat didonorkan pada antioksidan dengan deuterium (isotop atom H), dimana menimbulkan efek pada mekanisme HAT yang dapat memperlambat laju reaksi, sedangkan pada ET tidak terpengaruh secara signifikan. Lalu dapat pula dilakukan analisis pelarut dan pH. Pada mekanisme HAT, aktivitas antioksidan meningkat pada penggunaan pelarut non-polar atau lipofilik, serta kurang dipengaruhi oleh pH karena hanya melibatkan transfer atom hidrogen netral. Sedangkan aktivitas antioksidan pada mekanisme ET meningkat pada penggunaan pelarut polar atau hidrofilik, serta sangat dipengaruhi oleh pH. Pada pH basa, kapasitas transfer elektron antioksidan fenolat makin meningkat karena terjadi deprotonasi gugus hidroksil (-OH) yang membuat molekul lebih mudah melepas elektron. Selain itu, dapat dilakukan analisis mengenai struktur fenolat, dimana posisi dan jumlah gugus hidroksil serta adanya gugus lain mempengaruhi mekanisme HAT ataupun ET. Adanya ikatan rangkap terkonjugasi atau cincin aromatik yang luas, cenderung mendukung delokalisasi elektron pada mekanisme ET. Berikut digambarkan perbedaan mekanisme reaksi antioksidan menggunakan HAT dan ET pada Gambar 4.8.

I. Mekanisme Reaksi HAT



II. Mekanisme Reaksi ET

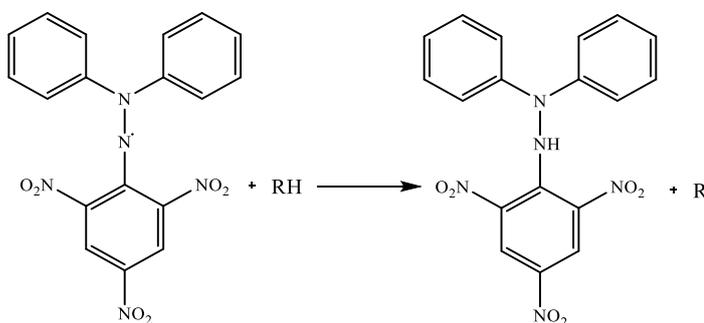


Gambar 4.8 Perbedaan Mekanisme Reaksi Antioksidan HAT dan ET

Berdasarkan penelitian terdahulu disebutkan metode tunggal tidak akurat dalam mencerminkan potensi aktivitas antioksidan dari suatu zat, sehingga perlu dilakukan pengujian menggunakan dua atau lebih metode (Kusumawati dkk., 2022). Perbedaan metode pengujian antioksidan yang digunakan dapat memberikan hasil yang lebih lengkap, akurat, dan komprehensif mengenai tingkat sensitivitas dan spesifitas antioksidan. (Chaves dkk., 2020).

Metode DPPH merupakan pengujian aktivitas antioksidan yang didasarkan reaksi yang dapat melibatkan transfer elektron (ET) atau atom hidrogen (HAT) dari antioksidan dengan radikal DPPH yang kemudian akan mereduksi radikal sehingga warna ungu dari larutan radikal DPPH akan berubah warna menjadi kuning seiring dengan terbentuknya molekul DPPH yang stabil (Garcia dkk., 2012). Terdapat beberapa kelebihan metode DPPH yaitu prosedur dan peralatan yang relatif mudah, reagen DPPH terjangkau, stabil pada suhu kamar, mampu mendeteksi aktivitas penangkapan radikal pada konsentrasi rendah, serta banyaknya literatur

referensi penelitian mengenai metode ini. Namun, terdapat pula kelemahan metode ini yaitu hanya dapat larut dalam pelarut organik seperti etanol dan metanol (Haeria dkk., 2018). DPPH memiliki kendala jika sampel bersifat polar atau hidrofilik dan tidak dapat diekstraksi dengan pelarut organik. DPPH seringkali digunakan untuk berbagai macam senyawa penyumbang hidrogen, diantaranya yaitu fenolat dan flavonoid (Shah dan Modi, 2015). Pada pengujiannya, larutan DPPH dilarutkan dalam metanol 100% lalu disimpan dalam botol kaca coklat yang telah dilapisi aluminium foil, dikarenakan sifat larutan DPPH yang sensitif terhadap cahaya. Diambil 5 mL larutan ekstrak beras lalu ditambahkan 5 mL larutan DPPH. Kemudian dilakukan inkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Inkubasi dilakukan agar reaksi campuran antara larutan ekstrak dan larutan DPPH berlangsung sempurna. Senyawa antioksidan dalam ekstrak akan menyumbangkan elektron atau hidrogen ke radikal dan mereduksinya menjadi bentuk netralnya yakni difenilpirol hidrazin (Wanna, 2019). Berikut merupakan mekanisme pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Mekanisme Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil)

Campuran larutan pengujian yang telah stabil kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 515 nm karena radikal DPPH menunjukkan penyerapan yang kuat, sehingga memungkinkan deteksi yang tepat dan sensitif terhadap radikal yang tereduksi oleh antioksidan (Tanner dkk., 2018). Selain itu, pada panjang gelombang maksimum tersebut terjadi perpindahan elektron dan hidrogen ke radikal DPPH mengakibatkan hilangnya warna ungu dan penurunan absorbansi. Penurunan absorbansi yang diukur sebagai persentase dekolorisasi sebanding dengan jumlah elektron dan atom hidrogen yang diserap menggunakan Persamaan 3.4. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak beras pada tiap variasi dengan metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode DPPH Ekstrak Beras

Kode Beras	Variasi Pelarut	Kode Ekstrak Beras	Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (% dekolorisasi ekstrak beras)
A	EtOH 20%	A-EtOH-20	29,102 ± 0,001
	EtOH 40%	A-EtOH-40	32,225 ± 0,007
	EtOH 60%	A-EtOH-60	24,302 ± 0,005
	EtOH 80%	A-EtOH-80	18,770 ± 0,005
	EtOH 100%	A-EtOH-100	6,760 ± 0,003
B	EtOH 20%	B-EtOH-20	27,242 ± 0,003
	EtOH 40%	B-EtOH-40	39,083 ± 0,021

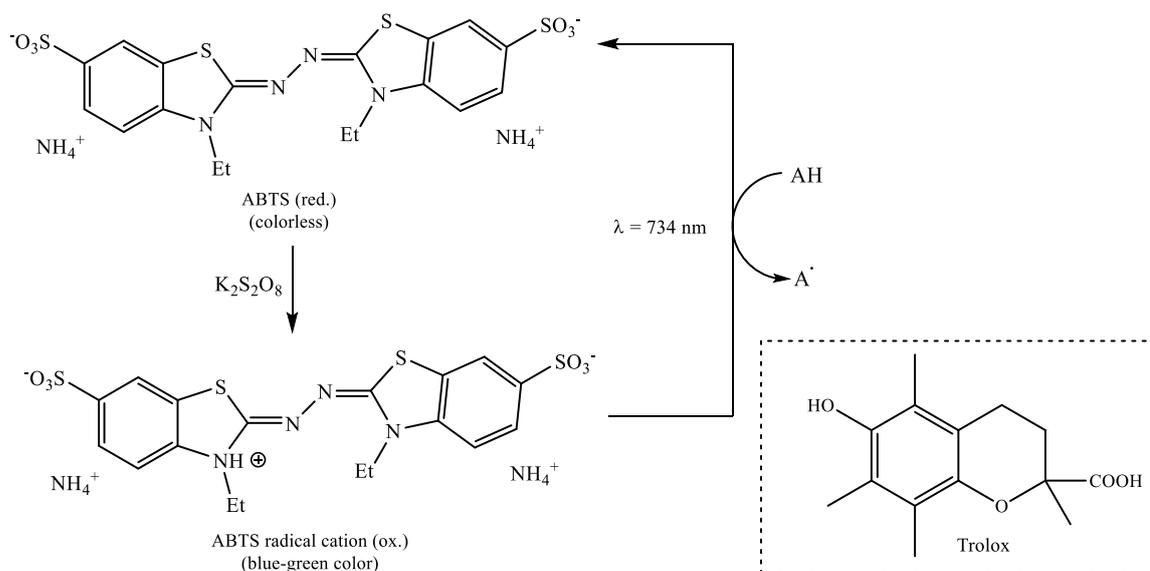
Lanjutan Tabel 4.4

Kode Beras	Variasi Pelarut	Kode Ekstrak Beras	Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (% dekolorisasi ekstrak beras)
	EtOH 60%	B-EtOH-60	24,651 ± 0,030
	EtOH 80%	B-EtOH-80	21,661 ± 0,015
	EtOH 100%	B-EtOH-100	3,571 ± 0,006
C	EtOH 20%	C-EtOH-20	49,634 ± 0,083
	EtOH 40%	C-EtOH-40	42,940 ± 0,029
	EtOH 60%	C-EtOH-60	45,282 ± 0,025
	EtOH 80%	C-EtOH-80	25,398 ± 0,036
	EtOH 100%	C-EtOH-100	62,375 ± 0,043
D	EtOH 20%	D-EtOH-20	40,664 ± 0,016
	EtOH 40%	D-EtOH-40	50,166 ± 0,041
	EtOH 60%	D-EtOH-60	61,677 ± 0,037
	EtOH 80%	D-EtOH-80	32,774 ± 0,028
	EtOH 100%	D-EtOH-100	23,504 ± 0,057
E	EtOH 20%	E-EtOH-20	48,870 ± 0,014
	EtOH 40%	E-EtOH-40	43,538 ± 0,041
	EtOH 60%	E-EtOH-60	61,976 ± 0,027
	EtOH 80%	E-EtOH-80	32,584 ± 0,056
	EtOH 100%	E-EtOH-100	64,966 ± 0,052

Berdasarkan hasil pada Tabel 4.4, hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dengan persentase dekolorisasi terbesar pada ekstrak beras A yaitu variasi volume pelarut 40% dengan kode A-EtOH-40 sebesar 32,225%. Pada ekstrak beras B yaitu variasi volume pelarut 40% dengan kode B-EtOH-40 sebesar 39,083%. Pada ekstrak beras C yaitu variasi volume pelarut 100% dengan kode C-EtOH-100 sebesar 62,375%. Pada ekstrak beras D yaitu variasi volume pelarut 60% dengan kode D-EtOH-60 sebesar 61,677%. Serta pada ekstrak beras E yaitu variasi volume pelarut 100% dengan kode E-EtOH-100 sebesar 64,966%.

Metode ABTS merupakan pengujian aktivitas antioksidan yang didasarkan pada kemampuan antioksidan dalam menstabilkan atau menetralkan radikal bebas kation ABTS. Radikal kation ABTS yang berwarna biru kehijauan dihasilkan melalui reaksi ABTS dengan zat pengoksidasi seperti kalsium persulfat ($K_2S_2O_8$). Ketika suatu senyawa antioksidan ditambahkan ke dalam larutan, antioksidan akan mendonorkan elektron atau atom hidrogen ke radikal ABTS dan mengubahnya menjadi bentuk non radikal yang tidak berwarna seperti dapat dilihat pada Gambar 4.10 (Mutiananda dan Mahbub, 2023). Terdapat beberapa keunggulan metode ABTS, diantaranya fleksibilitas untuk digunakan pada senyawa antioksidan hidrofilik atau larut air maupun lipofilik atau larut lemak, reaksi relatif cepat, umumnya sensitif untuk mendeteksi konsentrasi antioksidan rendah, serta relatif stabil pada berbagai tingkatan pH sehingga cocok untuk berbagai jenis sampel.

Pada pengujian ini, dicampurkan larutan ABTS dan larutan $K_2S_2O_8$ 2,45 mM dengan perbandingan 1:10 lalu dilakukan inkubasi selama 60 menit dalam ruangan gelap (Platzer dkk., 2021). Hasil inkubasi kemudian dianalisis hasil absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang 0,8-0,2 pada panjang gelombang 730 nm. Apabila hasil absorbansi larutan berada diluar rentang tersebut, maka perlu dilakukan pemekatan atau pengenceran. Larutan ABTS radikal sebanyak 10 mL ditambahkan dengan 1 mL larutan ekstrak beras dan diinkubasi selama 5 menit dengan mekanisme reaksi dapat diilustrasikan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Mekanisme Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin- 6-asam sulfonat)

. Setelah itu, larutan diukur absorbansinya secara triplo menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak beras pada tiap variasi dengan metode ABTS dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode ABTS Ekstrak Beras

Kode Beras	Variasi Pelarut	Kode Ekstrak Beras	Aktivitas Antioksidan Metode ABTS (% dekolorisasi ekstrak beras)
A	EtOH 20%	A-EtOH-20	18,100 ± 0,010
	EtOH 40%	A-EtOH-40	28,833 ± 0,011
	EtOH 60%	A-EtOH-60	28,151 ± 0,006
	EtOH 80%	A-EtOH-80	24,063 ± 0,010
	EtOH 100%	A-EtOH-100	19,207 ± 0,011
B	EtOH 20%	B-EtOH-20	23,168 ± 0,008
	EtOH 40%	B-EtOH-40	29,599 ± 0,006
	EtOH 60%	B-EtOH-60	26,788 ± 0,004
	EtOH 80%	B-EtOH-80	29,897 ± 0,007
	EtOH 100%	B-EtOH-100	22,913 ± 0,004
C	EtOH 20%	C-EtOH-20	17,972 ± 0,001
	EtOH 40%	C-EtOH-40	21,507 ± 0,025
	EtOH 60%	C-EtOH-60	25,000 ± 0,012
	EtOH 80%	C-EtOH-80	29,131 ± 0,003
	EtOH 100%	C-EtOH-100	29,982 ± 0,007
D	EtOH 20%	D-EtOH-20	20,613 ± 0,020
	EtOH 40%	D-EtOH-40	32,836 ± 0,025
	EtOH 60%	D-EtOH-60	34,071 ± 0,013
	EtOH 80%	D-EtOH-80	24,701 ± 0,039
	EtOH 100%	D-EtOH-100	13,074 ± 0,044

Kode Beras	Variasi Pelarut	Kode Ekstrak Beras	Aktivitas Antioksidan Metode ABTS (% dekolorisasi ekstrak beras)
E	EtOH 20%	E-EtOH-20	14,735 ± 0,050
	EtOH 40%	E-EtOH-40	17,504 ± 0,007
	EtOH 60%	E-EtOH-60	28,151 ± 0,039
	EtOH 80%	E-EtOH-80	23,111 ± 0,020
	EtOH 100%	E-EtOH-100	31,558 ± 0,012

Berdasarkan hasil pada Tabel 4.5 untuk pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS dengan persentase dekolorisasi terbesar pada ekstrak beras A yaitu variasi volume pelarut 40% dengan kode A-EtOH-40 sebesar 28,833%. Pada ekstrak beras B yaitu variasi volume pelarut 80% dengan kode B-EtOH-80 sebesar 29,897%. Pada ekstrak beras C yaitu variasi volume pelarut 100% dengan kode C-EtOH-100 sebesar 29,982%. Pada ekstrak beras D yaitu variasi volume pelarut 60% dengan kode D-EtOH-60 sebesar 34,071%. Serta pada ekstrak beras E yaitu variasi volume pelarut 100% dengan kode E-EtOH-100 sebesar 31,558%. Untuk mengetahui keterkaitan dan perbandingan antara metode pengujian DPPH dan ABTS pada masing-masing kode sampel beras, dapat dianalisis data hasil pengujian aktivitas antioksidan pada kedua jenis metode pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Perbandingan Data Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dan ABTS Ekstrak Beras

Kode Beras	Kode Ekstrak Beras	Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (% dekolorisasi ekstrak beras)	Aktivitas Antioksidan Metode ABTS (% dekolorisasi ekstrak beras)
A	A-EtOH-20	29,102 ± 0,001	18,100 ± 0,010
	A-EtOH-40	32,225 ± 0,007	28,833 ± 0,011
	A-EtOH-60	24,302 ± 0,005	28,151 ± 0,006
	A-EtOH-80	18,770 ± 0,005	24,063 ± 0,010
	A-EtOH-100	6,760 ± 0,003	19,207 ± 0,011
B	B-EtOH-20	27,242 ± 0,003	23,168 ± 0,008
	B-EtOH-40	39,083 ± 0,021	29,599 ± 0,006
	B-EtOH-60	24,651 ± 0,030	26,788 ± 0,004
	B-EtOH-80	21,661 ± 0,015	29,897 ± 0,007
	B-EtOH-100	3,571 ± 0,006	22,913 ± 0,004
C	C-EtOH-20	49,634 ± 0,083	17,972 ± 0,001
	C-EtOH-40	42,940 ± 0,029	21,507 ± 0,025
	C-EtOH-60	45,282 ± 0,025	25,000 ± 0,012
	C-EtOH-80	25,398 ± 0,036	29,131 ± 0,003
	C-EtOH-100	62,375 ± 0,043	29,982 ± 0,007
D	D-EtOH-20	40,664 ± 0,016	20,613 ± 0,020
	D-EtOH-40	50,166 ± 0,041	32,836 ± 0,025
	D-EtOH-60	61,677 ± 0,037	34,071 ± 0,013
	D-EtOH-80	32,774 ± 0,028	24,701 ± 0,039
	D-EtOH-100	23,504 ± 0,057	13,074 ± 0,044
E	E-EtOH-20	48,870 ± 0,014	14,735 ± 0,050

Kode Beras	Kode Ekstrak Beras	Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (% dekolorisasi ekstrak beras)	Aktivitas Antioksidan Metode ABTS (% dekolorisasi ekstrak beras)
	E-EtOH-40	43,538 ± 0,041	17,504 ± 0,007
	E-EtOH-60	61,976 ± 0,027	28,151 ± 0,039
	E-EtOH-80	32,584 ± 0,056	23,111 ± 0,020
	E-EtOH-100	64,966 ± 0,052	31,558 ± 0,012

Pada Tabel 4.6 dapat terlihat perbandingan hasil pengujian aktivitas antioksidan pada kedua metode yaitu DPPH dan ABTS. Terdapat beberapa perbedaan yang mendasari pengujian diantara kedua jenis metode yang dapat dilihat pada Tabel 4.7.

Tabel 4. 7 Perbedaan Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan DPPH dan ABTS

Aspek Pembeda	Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan	
	DPPH	ABTS
Prinsip Mekanisme Kerja	Senyawa antioksidan menstabilkan radikal DPPH dengan mendonorkan atom hidrogen (Gambar 2.9)	Senyawa antioksidan menetralkan radikal kation ABTS dengan mendonorkan elektron (Gambar 2.10)
Panjang Gelombang Pengukuran	± 510 – 517 nm	± 730 – 734 nm
Kelarutan Pelarut	Hanya larut dalam pelarut organik polar, seperti metanol, etanol. Namun tidak larut dalam pelarut air	Mampu larut dalam pelarut organik maupun air
Jenis Antioksidan yang Terdeteksi	Cenderung bekerja lebih baik terhadap antioksidan dengan mekanisme donor atom hidrogen (HAT)	Mampu mendeteksi antioksidan dengan mekanisme HAT (lipofilik) ataupun ET (hidrofilik)
Stabilitas Reagen	Radikal DPPH sensitif terhadap cahaya dan penyimpanan dilakukan pada kondisi gelap	Radikal ABTS cukup stabil dalam penyimpanan selama beberapa hari
Interpretasi Hasil Pengujian	Dinyatakan dalam IC50 yaitu konsentrasi yang menghambat 50% radikal DPPH, atau dengan persentase inhibisi	Dinyatakan dalam <i>Trolox Equivalent Antioxidant Capacity</i> (TEAC) atau dengan presentase inhibisi

Berdasarkan perbandingan data hasil pengujian metode DPPH dan ABTS yang tertera pada Tabel 4.6, terlihat bahwa hampir seluruh jenis ekstrak beras memiliki data pengujian DPPH dan ABTS terbesar pada variasi volume pelarut yang sama. Pada ekstrak beras A, dihasilkan persentase dekolorisasi terbesar dari kedua metode pengujian pada dengan pelarut EtOH 40% dengan kode A-EtOH-40. Ekstrak beras B dengan metode DPPH dihasilkan persentase dekolorisasi terbesar pada EtOH 40% dengan kode B-EtOH-40 dan metode ABTS pada EtOH 80% dengan kode B-EtOH-80. Ekstrak beras C dihasilkan persentase dekolorisasi terbesar dari kedua metode pengujian pada dengan pelarut EtOH 100% dengan kode C-EtOH-100. Ekstrak beras D dihasilkan persentase dekolorisasi terbesar dari kedua metode pengujian

pada dengan pelarut EtOH 60% dengan kode D-EtOH-60. Ekstrak beras E menghasilkan persentase dekolonisasi terbesar dari kedua metode pengujian pada dengan pelarut EtOH 100% dengan kode E-EtOH-100.

Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan dua metode yang berbeda dapat menghasilkan data yang serupa ataupun berbeda. Terdapat beberapa faktor yang menyebabkan hasil pengujian DPPH dan ABTS serupa, diantaranya apabila senyawa antioksidan di dalam sampel memiliki kemampuan yang sama dalam mendonorkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas DPPH dan ABTS tersebut. Diketahui senyawa fenolat dan flavonoid tertentu memiliki struktur kimia yang mampu bereaksi dengan radikal masing-masing metode dengan efisiensi yang sebanding, sehingga diharapkan menghasilkan data yang serupa pada kedua jenis metode pengujian. Namun, tidak menutup kemungkinan hasil pengujian aktivitas antioksidan metode DPPH dan ABTS menghasilkan data yang berbeda.

4.4 Data Hasil Uji Korelasi

Pengujian korelasi adalah salah satu aplikasi metode statistik untuk mengetahui perubahan antara variabel satu dengan variabel lain, arah hubungan suatu variabel, dan seberapa kuat hubungan antar variabel tersebut. Nilai yang dihasilkan dari pengujian korelasi disebut dengan koefisien korelasi (r) yang berkisar antara -1 dan $+1$. Apabila nilai yang dihasilkan $+1$ (korelasi positif sempurna) menunjukkan hubungan yang sangat kuat dan searah, lalu jika nilai yang dihasilkan -1 (korelasi negatif sempurna) menunjukkan hubungan yang sangat kuat dan berlawanan arah. Namun, apabila nilai yang dihasilkan adalah nol (tidak ada korelasi) menunjukkan bahwa tidak ada hubungan linear antara kedua variabel. Terdapat beberapa jenis pengujian korelasi yang seringkali digunakan untuk berbagai penelitian, diantaranya ialah korelasi Pearson (*Pearson Product Moment Correlation*), korelasi Spearman (*Spearman Rank Correlation*), dan korelasi Kendall (*Kendall's Tau Correlation*). Korelasi Pearson digunakan untuk data berskala interval atau rasio yang terdistribusi normal dan memiliki hubungan linear, metode ini bertujuan untuk mengukur hubungan linear. Korelasi Spearman digunakan untuk metode non-parametrik untuk data ordinal atau data yang tidak terdistribusi normal, serta bertujuan untuk mengukur hubungan monotonik dimana variabel cenderung bergerak ke arah yang sama namun tidak selalu dengan laju konstan. Korelasi Kendall digunakan untuk metode non-parametrik data ordinal, dan lebih kuat terhadap *outlier* dibandingkan metode korelasi Spearman (Fadilah dkk., 2024). Selain itu, terdapat pula jenis korelasi parsial dan berganda. Korelasi parsial bertujuan untuk mengukur hubungan antara dua variabel dengan mengontrol satu atau lebih variabel lain, sedangkan korelasi berganda bertujuan untuk mengukur hubungan antara satu variabel terikat dengan dua atau lebih variabel bebas secara bersamaan.

Data hasil pengujian korelasi dapat diinterpretasikan melalui interval koefisien korelasi (r). Terdapat beberapa kategori koefisien korelasi, seperti sangat lemah, lemah, sedang (*moderate*), kuat, dan sangat kuat yang dituliskan pada Tabel 4.8.

Tabel 4.8 Kategori Koefisien Korelasi Metode Statistik

Interval Koefisien	Kategori Koefisien Korelasi
0,00 – 0,19	Sangat Lemah
0,20 – 0,39	Lemah
0,40 – 0,59	Sedang (<i>moderate</i>)
0,60 – 0,79	Kuat
0,80 – 1,00	Sangat Kuat

Pada Tabel 4.9 berikut disajikan data korelasi terhadap hasil pengujian TPC, TFC, DPPH, dan ABTS untuk seluruh kode ekstrak beras penelitian sebagaimana diinterpretasikan dari Tabel 3.1.

Tabel 4.9 Hasil Data Uji Korelasi Penelitian Terhadap TPC, TFC, DPPH, dan ABTS

Sampel	TPC dan TFC	TPC dan DPPH	TPC dan ABTS	TFC dan DPPH	TFC dan ABTS
A	0,076	0,362	0,648	-0,162	-0,699
B	0,475	-0,234	-0,300	0,295	-.943*
C	0,098	-0,122	0,105	0,706	0,065
D	-0,878	0,073	0,794	0,211	-0,645
E	0,607	-0,214	0,175	0,319	-0,367

Pada Tabel 4.9 terlihat bahwa hasil data uji korelasi terhadap pengujian TPC (*Total Phenolic Content*), TFC (*Total Flavonoid Content*), DPPH, dan ABTS termasuk dalam korelatif positif (+1) dan korelasi negatif (-1) dengan kategori sangat lemah, lemah, sedang (*moderate*), dan kuat. Umumnya, hubungan antara hasil pengujian TPC dan TFC adalah berkorelasi positif, hal tersebut menandakan adanya hubungan antara kandungan fenolat dan flavonoid yang searah. Hal tersebut dikarenakan flavonoid merupakan salah satu bagian kategori senyawa fenolat. Jadi dapat disimpulkan apabila suatu ekstrak memiliki kandungan flavonoid tinggi, maka kandungan fenolatnya pun juga sinergis (Masduqi dkk., 2021).

Tabel 4.10 Hasil Data Uji Korelasi Penelitian Antara Pengujian TPC dan TFC

Sampel	Hasil Uji Korelasi TPC dan TFC	Kategori Koefisien Korelasi	
A	0,076	Positif (+1)	Sangat lemah
B	0,475	Positif (+1)	Sedang
C	0,098	Positif (+1)	Sangat Lemah
D	-0,878	Negatif (-1)	-
E	0,607	Positif (+1)	Kuat

Namun, pada Tabel 4.10 terlihat sampel ekstrak beras D menunjukkan kondisi yang kurang normal karena termasuk kategori korelasi negatif (-1), yang berarti bahwa terdapat kemungkinan adanya senyawa fenolat non flavonoid yang terdapat dalam ekstrak, sehingga menyebabkan adanya arah korelasi yang tidak sinergis atau tidak searah. Pada ekstrak beras A, B, C, dan E memiliki korelasi positif dengan berbagai interval kategori koefisien korelasi yang menandakan hubungan senyawa fenolat dan flavonoid sinergis dan searah.

Berbeda dengan hubungan fenolat (TPC) dan flavonoid (TFC), aktivitas antioksidan dalam sampel ekstrak beras yang diteliti menggunakan metode DPPH dan ABTS dapat menunjukkan korelasi positif ataupun negatif. Namun, umumnya hubungan antara TPC, TFC, dan antioksidan berkorelasi positif. Hal tersebut dikarenakan senyawa fenolat dan flavonoid memiliki sifat antioksidan, dimana fenolat dan flavonoid mampu menetralkan radikal bebas melalui mekanisme donasi atom hidrogen (HAT) ataupun transfer elektron (ET), yang memungkinkan jika semakin tinggi kandungan total senyawa-senyawa tersebut dalam suatu sampel ekstrak beras, semakin besar kemungkinan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat.

Tabel 4.11 Hasil Data Uji Korelasi Penelitian Antara Pengujian TPC dan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dan ABTS

Sampel	Hasil Uji Korelasi TPC dan DPPH	Kategori Koefisien Korelasi		Hasil Uji Korelasi TPC dan ABTS	Kategori Koefisien Korelasi	
A	0,362	+1	Lemah	0,648	+1	Kuat
B	-0,234	-1	-	-0,300	-1	-
C	-0,122	-1	-	0,105	+1	Sangat Lemah
D	0,073	+1	Sangat Lemah	0,794	+1	Kuat
E	-0,214	-1	-	0,175	+1	Sangat Lemah

Hubungan korelasi antara uji TPC dan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan ABTS yang tertera pada Tabel 4.11 menunjukkan perbedaan yang berbanding terbalik antara kedua metode tersebut terhadap TPC. Hal tersebut dapat disebabkan oleh beberapa kemungkinan, diantaranya yaitu mekanisme reaksi senyawa fenolat yang berbeda terhadap DPPH dan ABTS, struktur senyawa fenolat seperti keberadaan gugus hidroksil (-OH) yang dapat mempengaruhi reaktivitas, serta adanya interferensi senyawa non fenolat. Berdasarkan Tabel 4.11 dimungkinkan senyawa fenolat yang terdapat pada masing-masing jenis sampel lebih efektif dalam bereaksi sebagai transfer elektron (ABTS) dibanding melalui donor atom hidrogen (DPPH). ABTS dapat mengakomodasi mekanisme ET dan HAT, yang mampu mendeteksi berbagai macam senyawa fenolat, baik hidrofilik maupun lipofilik, dan tidak terlalu terpengaruh oleh ukuran molekul. Selain itu, dimungkinkan terdapat interferensi oleh senyawa pereduksi lain non fenolat yang juga dapat bereaksi dengan reagen F-C pada pengujian TPC dapat menyebabkan overestimasi data. Apabila senyawa non fenolat tersebut juga memiliki aktivitas antioksidan yang tidak terdeteksi secara spesifik dalam pengujian TPC dapat mempengaruhi korelasi diantara senyawa fenolat melalui uji TPC dan aktivitas antioksidan (Qamar dkk., 2023). Selain itu, kelarutan sampel dalam pelarut yang digunakan juga dapat mempengaruhi, karena pelarut yang digunakan pada masing-masing sampel adalah perbandingan antara etanol dan air sehingga selektivitas senyawa antioksidan yang bereaksi dominan pada metode ABTS dibanding DPPH yang hanya dapat bereaksi dengan pelarut organik. Oleh karena itu, ABTS sering memberikan gambaran yang lebih menyeluruh tentang kapasitas antioksidan yang disumbangkan oleh berbagai senyawa fenolat dalam sampel, sehingga TPC berkorelasi lebih baik dengan ABTS (Zheng dkk., 2010).

Tabel 4.12 Hasil Data Uji Korelasi Penelitian Antara Pengujian TFC dan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH dan ABTS

Sampel	Hasil Uji Korelasi TFC dan DPPH	Kategori Koefisien Korelasi		Hasil Uji Korelasi TFC dan ABTS	Kategori Koefisien Korelasi	
A	-0,162	-1	-	-0,699	-1	-
B	0,295	+1	Lemah	-.943*	-1	-
C	0,706	+1	Kuat	0,065	+1	Sangat Lemah
D	0,211	+1	Lemah	-0,645	-1	-
E	0,319	+1	Lemah	-0,367	-1	-

Seperti korelasi antara aktivitas antioksidan DPPH dan ABTS terhadap TPC, hubungan korelasi aktivitas antioksidan terhadap TFC yang tertera pada Tabel 4.12 pun berbanding terbalik antara kedua metode. Hal tersebut dimungkinkan adanya faktor yang paling mempengaruhi adanya hubungan korelasi TFC dengan DPPH yang lebih dominan

dibandingkan TFC dengan ABTS yaitu struktur senyawa flavonoid dan molekul radikal DPPH. Meskipun struktur molekul radikal DPPH memiliki ukuran molekul dan halangan sterik relatif besar, flavonoid dapat berinteraksi dan menetralkan radikal DPPH karena struktur 3D yang memungkinkan interaksi dengan efisien, didukung oleh ketersediaan gugus hidroksil strategis yang merupakan titik aktif aktivitas antioksidan. Flavonoid bereaksi dengan mekanisme donor atom hidrogen (HAT) dari gugus hidroksilnya ke radikal DPPH. Mekanisme HAT dalam hal ini lebih simpleks dibandingkan perpindahan elektron (ET) melalui metode ABTS yang lebih kompleks. Sedangkan apabila ditinjau dari sisi metode ABTS, radikal ABTS yang memiliki ukuran yang lebih kecil dan kurang sensitif terhadap halangan sterik. Hal tersebut membuat radikal ABTS mampu bereaksi dengan spektrum senyawa yang lebih luas, termasuk fenolat yang lebih besar atau kompleks, atau yang terutama bekerja melalui ET. Sehingga TPC seringkali berkorelasi lebih baik dengan ABTS dibandingkan dengan TFC (Amić dkk., 2003).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, ekstrak beras berpigmen hasil persilangan varietas baru (kode A, B, C, D, E) yang diperoleh melalui metode maserasi dengan variasi volume etanol (20%, 40%, 60%, 80%, 100%) pada suhu kamar menunjukkan perbedaan data pada kadar fenolat total (TPC), kadar flavonoid total (TFC), dan aktivitas antioksidan (metode DPPH dan ABTS) untuk setiap sampel. Untuk sampel beras berpigmen kode A hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar fenolat total (TPC) tertinggi ditemukan pada ekstrak etanol 80%, kadar flavonoid total (TFC) tertinggi pada ekstrak etanol 100%, sementara aktivitas antioksidan (baik DPPH maupun ABTS) mencapai puncaknya pada ekstrak etanol 40%. Pada kode B menunjukkan TPC dan TFC tertinggi pada etanol 100% dengan aktivitas antioksidan DPPH pada EtOH 40% dan ABTS pada etanol 80%. Pada kode C menunjukkan semua parameter (TPC, TFC, dan aktivitas antioksidan DPPH dan ABTS) mencapai nilai tertinggi pada ekstrak etanol 100%. Pada kode D menunjukkan bahwa TPC dan aktivitas antioksidan (DPPH dan ABTS) tertinggi pada etanol 60%, sedangkan TFC tertinggi pada etanol 100%. Sama halnya dengan D, kode E menunjukkan TPC dan aktivitas antioksidan (DPPH dan ABTS) tertinggi pada etanol 100%, sedangkan TFC optimal pada etanol 80%. Hasil pengujian ini sejalan dengan teori yang menyatakan bahwa kadar total fenolat (TPC) selalu lebih tinggi daripada kadar total flavonoid (TFC), sebab flavonoid adalah bagian dari kelompok senyawa fenolat. Kesesuaian ini juga terlihat dari hasil uji korelasi positif yang dominan antara keduanya. Selain itu, hubungan korelasi antara TPC dengan ABTS serta TFC dengan DPPH juga konsisten dengan teori yang ada, yang dipengaruhi oleh berbagai faktor terkait mekanisme uji antioksidan.

5.2 Saran

Penelitian yang telah dilakukan masih belum sempurna dan memiliki beberapa kekurangan. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk menganalisis stabilitas ekstrak dengan melakukan variasi kondisi penyimpanannya, baik dari segi suhu maupun cahaya. Selain itu, metode ekstraksi beras berpigmen dapat dioptimalkan dengan penambahan jenis volume etanol sebagai pelarut pada rentang yang lebih sempit, tujuannya agar didapatkan volume pelarut yang lebih spesifik terhadap senyawa yang ditargetkan. Penting juga untuk menggunakan metode pengujian aktivitas antioksidan lain guna memperoleh informasi yang lebih komprehensif mengenai kapasitas antioksidan pada sampel, sekaligus memperkuat temuan dalam penelitian ini. Terakhir, perlu dilakukan identifikasi dan kuantifikasi senyawa fenolat dan flavonoid secara spesifik menggunakan instrumen canggih seperti HPLC atau LCMS.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, A. S., Yuliana, N. D., dan Rafi, M. (2019). Aktivitas Antioksidan pada Beras Berpigmen dan Dampaknya terhadap Kesehatan Antioxidant Activity of Pigmented Rice and Its Impact on Health. *Jurnal Pangan*, 28 (1), 11-22.
- Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., dan Trinajstić, N. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica chemica acta*, 76(1), 55-61.
- Azis, A., Izzati, M., dan Haryanti, S. (2015). Aktivitas antioksidan dan nilai gizi dari beberapa jenis beras dan millet sebagai bahan pangan fungsional Indonesia. *Jurnal Akademika Biologi*, 4(1), 45-61.
- Basuki, A. T., dan Nazaruddin, I. (2015). Analisis statistik dengan spss. *Yogyakarta: Danisa Media*, 51.
- Bessada, S. M., Barreira, J. C., dan Oliveira, M. B. P. (2015). Asteraceae species with most prominent bioactivity and their potential applications: A review. *Industrial Crops and Products*, 76, 604-615.
- Cai, Y., Li, Q., Li, D., Sun, C., Bao, Y., Li, F., dan Jiang, S. (2023). Optimizing the extraction of protein from broken rice using response surface methodology and comparing the protein functional properties. *Journal of Cereal Science*, 113, 103726. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103726>
- Chaves, N., Santiago, A., dan Alías, J. C. (2020). Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*, 9(1). <https://doi.org/10.3390/antiox9010076>
- Chen, T., Xie, L., Wang, G., Jiao, J., Zhao, J., Yu, Q., dan Xie, J. (2024). Anthocyanins-natural pigment of colored rice bran: Composition and biological activities. *Food Research International*, 175, 113722. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113722>
- Chen, X., Yang, Y., Yang, X., Zhu, G., Lu, X., Jia, F., dan Wu, X. (2022). Investigation of flavonoid components and their associated antioxidant capacity in different pigmented rice varieties. *Food Research International*, 161, 111726. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111726>
- Dewi, S. R., Argo, B. D., dan Ulya, N. (2018). Kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Teknik Pertanian*, 11(1), 1-10.
- Diniyah, N., dan Lee, S. H. (2020). Komposisi senyawa fenol dan potensi antioksidan dari kacang-kacangan. *Jurnal Agroteknologi*, 14(01), 91-102.
- Echenique, J. V. F., Alvarez-Rivera, G., Luna, V. M. A., da Cruz Antonio, A. F. V., Mazalli, M. R., Ibanez, E., dan de Oliveira, A. L. (2024). Pressurized liquid extraction with ethanol in an intermittent process for rice bran oil: Evaluation of process variables on the content of β -sitosterol and phenolic compounds, antioxidant capacity, acetylcholinesterase inhibitory activity, and oil quality. *LWT*, 207, 116650.
- Fadilah, F., Khoirunisa, G., Salsabila, L., Afifah, A. N., Mariska, M., dan Martini, T. (2024). Analisis Korelasi Spearman Dan Tau Kendall Tentang Hubungan Jumlah Makan Dalam Sehari Dengan Berat Badan Mahasiswa Agribisnis. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 10(16), 357-365.
- Fitriyah, D., Ayu, D. P., Puspita, S. D., Kartika, R. C., dan Ubaidillah, M. (2022). Kandungan Nutrisi dan Aktivitas Antimikroba Ekstrak Beras Merah. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 12(2), 30-36.
- Floegel, A., Kim, D.-O., Chung, S.-J., Koo, S. I., dan Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US 53 foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043–1048. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2011.01.008>

- Ford, B. L., Bai JinHe, B. J., Manthey, J., dan Baldwin, E. A. (2010). Improved removal of ascorbate interference in the Folin-Ciocalteu assay of "total phenolic content".
- Garcia, E. J., Oldoni, T. L. C., de Alencar, S. M., Reis, A., D. Loguercio, A., dan Grande, R. H. M. (2012). Antioxidant Activity by DPPH Assay of Potential Solutions to be Applied on Bleached Teeth. *Braz Dent J*, 23(1), 22–27.
- Haeria, H., Tahar, N., dan Munadiah, M. (2018). Penentuan Kadar Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera* L) dengan Metode DPPH, CUPRAC dan FRAP. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*, 6(2), 88-97.
- Hartanti, L., Ashari, A. M., dan Warsidah, W. (2021). Total Phenol and Antioxidant Activity of Ethanol Extract and Water Extract from Claw *Uncaria gambir* Roxb. *Berkala Sainstek*, 9(3), 131-138.
- Hernawan, E., dan Meylani, V. (2016). Analisis karakteristik fisikokimia beras putih, beras merah, dan beras hitam (*Oryza sativa* L., *Oryza nivara* dan *Oryza sativa* L. indica). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 15(1), 79-91.
- Illing, I., dan Iman, F. N. (2023). Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Rumput Knop (*Hyptis Capitata* Jacq) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Cokroaminoto Journal of Chemical Science*, 5(1), 20-24.
- Irawan, A. (2019). Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), 1-9.
- Jamco, J., dan Balami, A. M. (2022). Analisis Kruskal-Wallis Untuk Mengetahui Konsentrasi Belajar Mahasiswa Berdasarkan Bidang Minat Program Studi Statistika Fmipa Unpatti. *PARAMETER: Jurnal Matematika, Statistika Dan Terapannya*, 1(1), 29–34. <https://doi.org/10.30598/parameter.v1i1pp29-34>.
- Kusumawati, R., Palupi, N. S., dan Budijanto, S. (2022). Aktivitas Antioksidan Makaroni Beras Hitam dan Kacang-Kacangan Berpigmen Metode Cold Extrusion. *agriTECH*, 42(3), 195-205.
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic compounds: Introduction. In *Natural Products: Phytochemistry, Botany and Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes* (pp. 1543–1580). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_57.
- Maryam, F., Taebe, B., Toding, D. P. (2020). Pengukuran Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R dan G. Forst). *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 6(1).
- Masduqi, A. F., dan Rahardhian, M. R. R. (2021). Determinasi Total Flavonoid Dan Total Fenolik Rimpang Jeringau (*Acorus Calamus* L.) Dengan Perbedaan Konsentrasi Pelarut. *Media Farmasi Indonesia*, 16(1), 1625-1631.
- Munteanu, I. G., dan Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International journal of molecular sciences*, 22(7), 3380.
- Nagori, M., Rajput, D., Choudhary, G., dan Khabiya, R. (2025). Qualitative and Quantitative Methods of Phytochemical Analysis. *Pharmacognosy and Phytochemistry: Principles, Techniques, and Clinical Applications*, 143-166.
- Nicolescu, A., Bunea, C. I., dan Mocan, A. (2025). Total flavonoid content revised: an overview of past, present, and future determinations in phytochemical analysis. *Analytical Biochemistry*, 115794.
- Ningsih, I. S., dan Advinda, L. (2023). Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat Pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*, 8(2), 257-263.
- Njinga, N. S., Bakare-Odunola, M. T., Sa'ad, T. A., Abdulmajeed, F. F., Bello, R. H., Saadu, R. A., dan Shittu, A. O. (2020). Effects of Ultra-Violet, Red and Sun Light on the Stability of Phytochemicals, Antiradical and Antimicrobial Activity of *Ocimum gratissimum* Linn.

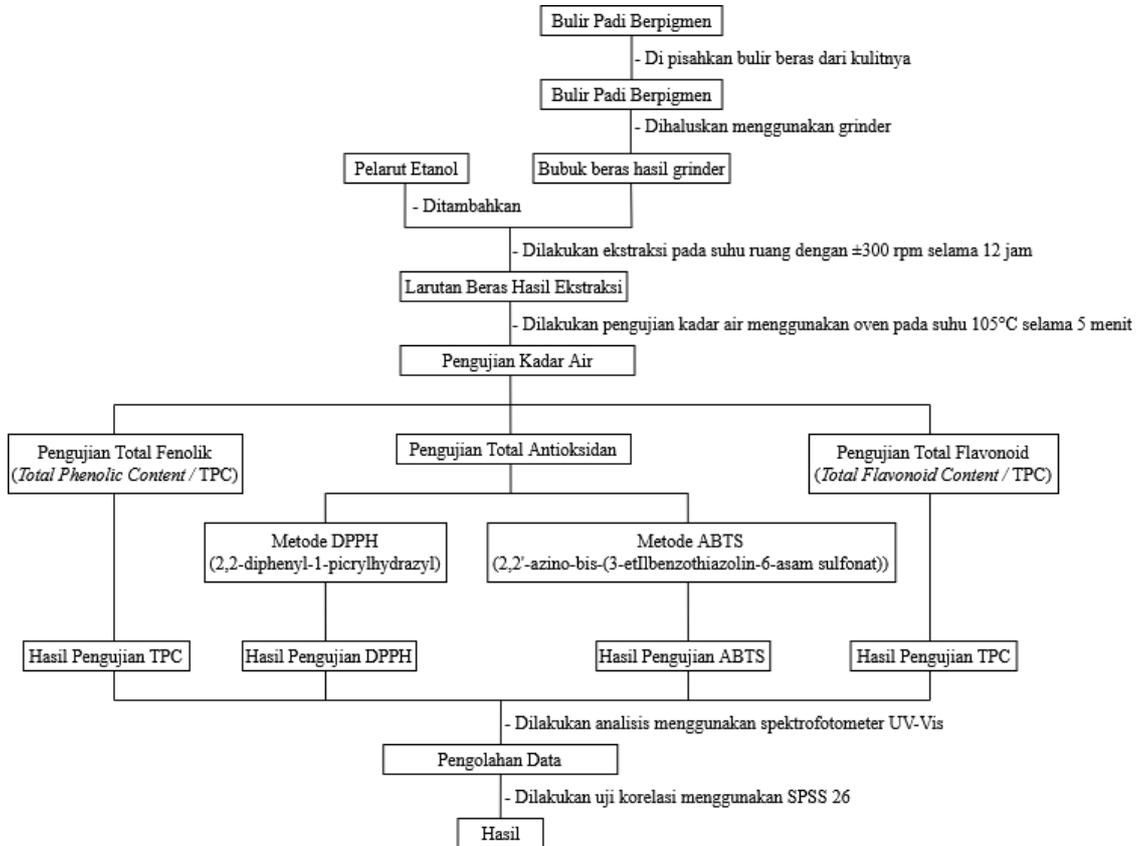
- (Lamiaceae). *The East and Central African Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23(3), 121-133.
- Nugraheni, Z. V., Rachman, T. M., dan Fadlan, A. (2022). Ekstraksi Senyawa Fenolat dalam Daun Teh Hijau (*Camellia Sinensis*). *Akta Kimia Indonesia*, 7(1), 69-76.
- Pinheiro, P. F., dan Justino, G. C. (2012). Structural analysis of flavonoids and related compounds-a review of spectroscopic applications. *Phytochemicals—a global perspective of their role in nutrition and health/Ed. V. Rao. InTech*, 33.
- Pérez, M., Dominguez-López, I., dan Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The chemistry behind the folin–ciocalteu method for the estimation of (poly) phenol content in food: Total phenolic intake in a mediterranean dietary pattern. *Journal of agricultural and food chemistry*, 71(46), 17543-17553.
- Platzer, M., Kiese, S., Herfellner, T., Schweiggert-Weisz, U., Miesbauer, O., dan Eisner, P. (2021). Common trends and differences in antioxidant activity analysis of phenolic substances using single electron transfer based assays. *Molecules*, 26(5). <https://doi.org/10.3390/molecules26051244>
- Purnama, G. W., Permana, A. A. J., Ananda, I. K. N., Purnami, N. L. I., Nugraha, G. N. A., dan Yogi, I. B. S. M. (2024). Implementasi Sistem Pakar untuk Klasifikasi Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Berdasarkan Ciri-Ciri Morfologi. *Jurnal Pendidikan Teknik Elektro Undiksha*, 13(2), 171-185.
- Qamar, F., Sana, A., Naveed, S., dan Faizi, S. (2023). Phytochemical characterization, antioxidant activity and antihypertensive evaluation of *Ocimum basilicum* L. in l-NAME induced hypertensive rats and its correlation analysis. *Heliyon*, 9(4).
- Qamariah, N., dan Rahmadhani, E. A. (2017). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Pemanis Buatan Siklamat pada Sirup Merah dalam Es Campur yang Dijual di Kelurahan Kalampangan Kota Palangka Raya: Qualitative and Quantitative Analysis of Artificial Sweeteners of Siklamat in Red Syrup in Ice Mixed for Sale in Kalampangan Village, Palangka Raya City. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 2(2), 27-39.
- Rahayu, F., Jose, C., dan Haryani, Y. (2015). Total Fenolik, Flavonoid, Dan Aktivitas Antioksidan Dari Produk Teh Hijau Dan Teh Hitam Tanaman Bangun-Bangun (*Coleus Amboinicus*) Dengan Perlakuan Ett Rumpun Paitan. 2(1).
- Rosyida, A., dan Achadi, D. (2014). Pemanfaatan daun jati muda untuk pewarnaan kain kapas pada suhu kamar. *Arena tekstil*, 29(2).
- Saadah, H., Nurhasnawati, H., dan Permatasari, V. (2017). Pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar flavonoid ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) dengan metode spektrofotometri. *Borneo Journal of Pharmascientech*, 1(1).
- Sa'adah, H., dan Nurhasnawati, H. (2015). Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (*Eleutherine americana* Merr) menggunakan metode maserasi. *Jurnal ilmiah manuntung*, 1(2), 149-153.
- Salim, S. A., saputri, F. A., saptarini, N. M., dan levita, J. (2020). Kelebihan dan Keterbatasan Pereaksi Folin-Ciocalteu Dalam Penentuan Kadar Fenol Total Pada Tanaman. *Farmaka*, 18(1), 46-57.
- Sari, A. R., Martono, Y., dan Rondonuwu, F. S. (2020). Identifikasi kualitas beras putih (*Oryza sativa* L.) berdasarkan kandungan amilosa dan amilopektin di pasar tradisional dan “Selepan” Kota Salatiga. *Titian Ilmu: Jurnal Ilmiah Multi Sciences*, 12(1), 24-30.
- Sarmiento, R. P., dan Costa, V. (2019). An overview of statistical data analysis. *arXiv preprint arXiv:1908.07390*.
- Setiawan, F., Yunita, O., dan Kurniawan, A. (2018). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan*) menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82-89.

- Simanjuntak, L., Sinaga, C., dan Fatimah, F. (2014). Ekstraksi pigmen antosianin dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Teknik Kimia USU*, 3(2), 25-29.
- Suhartati, T. (2017). Dasar-dasar spektrofotometri UV-Vis dan spektrometri massa untuk penentuan struktur senyawa organik. Bandar Lampung: AURA – Anugrah Utama Raharja.
- Suhartatih, N., Karyantina, M., dan Mustofa, A. (2013). Aktivitas Antioksidan Dan Kadar Antosianin Beras Berwarna Yaiyg Beredar Di Dty Dan Sekitarnya. *Joglo*, 25(2).
- Surani, S. (2023). Pengaruh Penggunaan Video Tutorial Merangkai Alat Praktikum Terhadap Pemahaman dan Pengetahuan Mahasiswa pada Praktikum Isolasi dan Sintesis Senyawa Organik. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(3), 205-210.
- Susanty, S., dan Bachmid, F. (2016). Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays L.*). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87-92.
- Swastika, D. K. S., Agustian, A., Suryana, A., Muslim, C., Sunarsih, S., dan Perdana, R. P. (2021). Tinjauan historis teknologi varietas unggul dan program intensifikasi dalam peningkatan produktivitas padi berkelanjutan. *Forum Penelitian Agro Ekonomi*, 39(2), 125–136. <https://doi.org/10.21082/fae.v39n2.2021.125-136>
- Talapessy, S., Suryanto, E., dan Yudistira, A. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ampas Hasil. 2(03).
- Tran, T. M. K., Kirkman, T., Nguyen, M., dan Van Vuong, Q. (2020). Effects of drying on physical properties, phenolic compounds and antioxidant capacity of Robusta wet coffee pulp (*Coffea canephora*). *Heliyon*, 6(7).
- Wang, J. J., Shi, Q. H., Zhang, W., dan Sanderson, B. J. S. (2012). Anti-skin cancer properties of phenolic-rich extract from the pericarp of mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.). *Food and Chemical Toxicology*, 50(9), 3004-3013. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.06.003>
- Wang, T. Y., Li, Q., dan Bi, K. S. (2018). Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 13(1), 12-23.
- Wasserstein, R. L., dan Lazar, N. A. (2016). The ASA statement on p-values: context, process, and purpose. *The American Statistician*, 70(2), 129-133.
- Wicaksono, B., Pratimasari, D., dan Lindawati, N. Y. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semi Polar dan Non Polar Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) dengan Metode ABTS. *Jurnal Kesehatan Kartika*, 16(3), 88-94.
- Widyawati, P. S., Sutedia, A. M., Suseno, T. I. P., Monika, P., Saputrajaya, W., dan Liguori, C. (2014). Pengaruh perbedaan warna pigmen beras organik terhadap aktivitas antioksidan. *Agritech Journal Teknologi Pertanian*, 34(4), 399-406.
- Wijaya, H., Novitasari, N., dan Jubaidah, S. (2018). Perbandingan metode ekstraksi terhadap rendemen ekstrak daun rambai laut (*Sonneratia caseolaris L. Engl.*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), 79-83.
- Yanti, C. A., dan Akhri, I. J. (2021). Perbedaan uji korelasi pearson, spearman dan kendall tau dalam menganalisis kejadian diare. *Jurnal Endurance*, 6(1), 51-58.
- Ye, L., Zhou, S., Liu, L., Liu, L., Waters, D. L., Zhong, K., dan Liu, X. (2016). Phenolic compounds and antioxidant capacity of brown rice in China. *International Journal of Food Engineering*, 12(6), 537-546. <https://doi.org/10.1515/ijfe-2015-0346>
- Yunita, E., dan Khodijah, Z. (2020). Pengaruh Konsentrasi Pelarut Etanol saat Maserasi terhadap Kadar Kuersetin Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica L.*) secara Spektrofotometri UV-Vis. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 17(2), 273-280.

- Zarina, Z., dan Tan, S. Y. (2013). Determination of flavonoids in *Citrus grandis* (Pomelo) peels and their inhibition activity on lipid peroxidation in fish tissue. *International Food Research Journal*, 20(1), 313.
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., dan Zhang, Y. (2022). A brief review of phenolic compounds identified from plants: Their extraction, analysis, and biological activity. *Natural product communications*, 17(1), 1934578X211069721.
- Zheng, C. D., Li, G., Li, H. Q., Xu, X. J., Gao, J. M., dan Zhang, A. L. (2010). DPPH-scavenging activities and structure-activity relationships of phenolic compounds. *Natural product communications*, 5(11), 1934578X1000501112.

LAMPIRAN

a. Diagram Alir Penelitian



b. Data dan Perhitungan

1. Ekstraksi Beras

a. Penentuan Presentase Kadar Air

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{\text{Massa awal} - \text{Massa akhir}}{\text{Massa awal}} \times 100\%$$

Data perhitungan presentase kadar air pada beras berpigmen kode A, B, C, D, dan E ditunjukkan dalam tabel berikut ini.

Kode Sampel	Massa Awal (M1/m)	Massa Akhir (M2/m)	Kadar Air (%)	Perhitungan
Beras Berpigmen				
A	1,0019	0,8919	10,979	$\text{Kadar air} = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100\%$ $= \frac{1,0019 - 0,8919}{1,0019} \times 100\%$ $= 0,1097 \times 100\%$ $= 10,979\%$
B	1,0017	0,9077	9,384	$\text{Kadar air} = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100\%$

				$= \frac{1,0017-0,9077}{1,0017} \times 100\%$ $= 0,0938 \times 100\%$ $= 9,384\%$
C	1,0011	0,9475	5,354	$\text{Kadar air} = \frac{M1-M2}{M1} \times 100\%$ $= \frac{1,0011-0,9475}{1,0011} \times 100\%$ $= 0,0535 \times 100\%$ $= 5,354\%$
D	1,0019	0,9271	7,465	$\text{Kadar air} = \frac{M1-M2}{M1} \times 100\%$ $= \frac{1,0019-0,9271}{1,0019} \times 100\%$ $= 0,0746 \times 100\%$ $= 7,465\%$
E	1,0004	0,9506	4,978	$\text{Kadar air} = \frac{M1-M2}{M1} \times 100\%$ $= \frac{1,0004-0,9506}{1,0004} \times 100\%$ $= 0,0497 \times 100\%$ $= 4,978\%$
Keterangan: M1 = massa awal (gram) M2 = massa akhir (gram)				

2. Kandungan Total Fenolat (TPC)

a. Pembuatan larutan stok asam galat 500 ppm

$$500 \text{ ppm} = \frac{x}{0,05 \text{ L}}$$

$$500 \text{ ppm} = \frac{x}{50 \text{ mL}}$$

$$x = 500 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$$

$$x = 25 \text{ mg}$$

$$x = 0,025 \text{ gram}$$

Sehingga, dibuat larutan stok asam galat 500 ppm dengan melarutkan 0,025 gram asam galat padat ke dalam 50 mL pelarut.

b. Pengenceran larutan stok asam galat (100, 80, 60, 40, 20, 0 ppm)

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Data perhitungan pengenceran larutan stok asam galat 500 ppm menjadi 100, 80, 60, 40, 20, dan 0 ppm ditunjukkan dalam tabel berikut ini.

Variasi Konsentrasi (ppm)	M1 (M)	M2 (M)	V1 (mL)	V2 (mL)	Perhitungan
100	500	100	50	50	$M1 \times V1 = M2 \times V2$ $500 \text{ ppm} \times V1 = 100 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$

					$V_1 = \frac{100 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}}$ $V_1 = 10 \text{ mL}$ <p>Diambil 10 mL larutan stok asam galat 500 ppm, lalu ditambahkan 40 mL pelarut. Sehingga total volume 50 mL.</p>
80	500	80	40	50	$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ $500 \text{ ppm} \times V_1 = 80 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$ $V_1 = \frac{80 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}}$ $V_1 = 8 \text{ mL}$ <p>Diambil 8 mL larutan stok asam galat 500 ppm, lalu ditambahkan 42 mL pelarut. Sehingga total volume 50 mL.</p>
60	500	60	30	50	$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ $500 \text{ ppm} \times V_1 = 60 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$ $V_1 = \frac{60 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}}$ $V_1 = 6 \text{ mL}$ <p>Diambil 6 mL larutan stok asam galat 500 ppm, lalu ditambahkan 44 mL pelarut. Sehingga total volume 50 mL.</p>
40	500	40	20	50	$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ $500 \text{ ppm} \times V_1 = 40 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$ $V_1 = \frac{40 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}}$ $V_1 = 4 \text{ mL}$ <p>Diambil 4 mL larutan stok asam galat 500 ppm, lalu ditambahkan 46 mL pelarut. Sehingga total volume 50 mL.</p>
20	500	20	10	50	$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ $500 \text{ ppm} \times V_1 = 20 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$ $V_1 = \frac{20 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}}$ $V_1 = 2 \text{ mL}$ <p>Diambil 2 mL larutan stok asam galat 500 ppm, lalu ditambahkan 48 mL pelarut. Sehingga total volume 50 mL.</p>

0	500	0	0	50	$M1 \times V1 = M2 \times V2$ $500 \text{ ppm} \times V1 = 0 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$ $V1 = \frac{0 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}}{500 \text{ ppm}}$ $V1 = 0 \text{ mL}$ Diambil 0 mL larutan stok asam galat 500 ppm, lalu ditambahkan 50 mL pelarut. Sehingga total volume 50 mL.
Keterangan: V1 = volume larutan stok V2 = volume larutan setelah diencerkan M1 = konsentrasi larutan stok M2 = konsentrasi larutan setelah pengenceran					

c. Kurva Standar Asam Galat

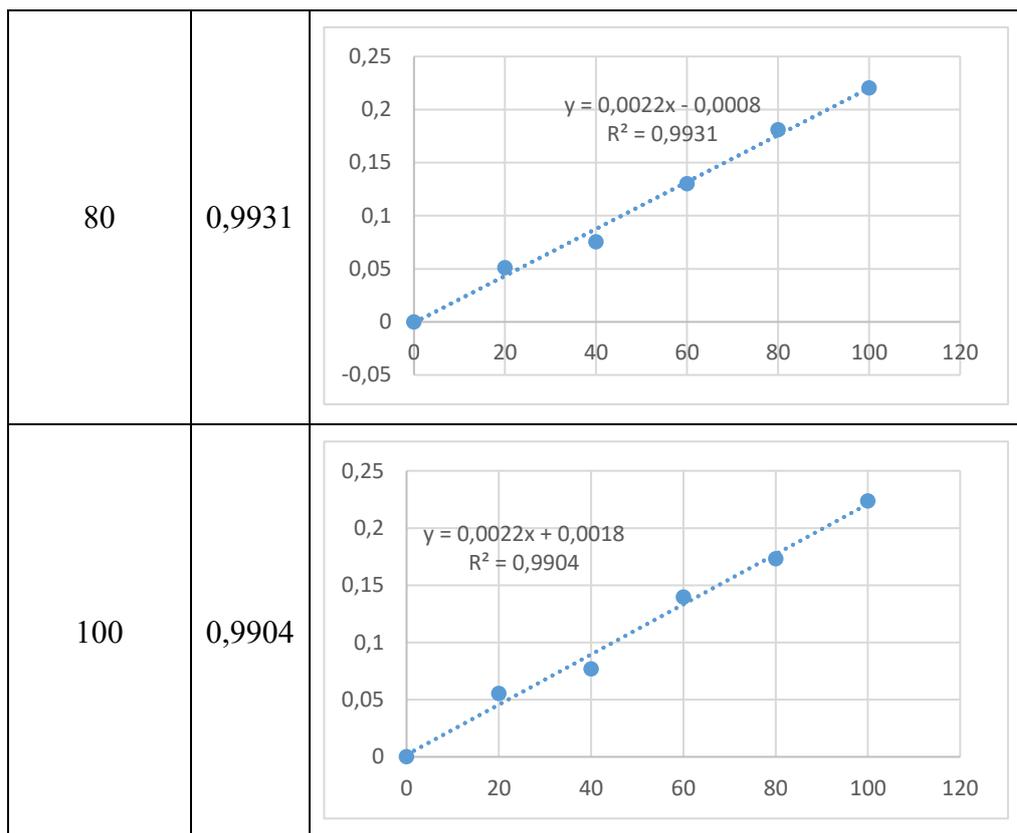
Data absorbansi kurva standar asam galat pada panjang gelombang maksimum 780 nm ditunjukkan dalam tabel berikut.

Volume Pelarut (%)	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi ke-			Absorbansi rata-rata
		1	2	3	
20	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	20	0,108	0,124	0,111	0,114
	40	0,195	0,197	0,194	0,195
	60	0,352	0,351	0,366	0,356
	80	0,491	0,497	0,492	0,493
	100	0,600	0,599	0,611	0,603
40	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	20	0,116	0,160	0,077	0,117
	40	0,128	0,200	0,184	0,170
	60	0,271	0,248	0,266	0,261
	80	0,332	0,275	0,430	0,345
	100	0,334	0,565	0,572	0,490
60	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	20	0,031	0,026	0,049	0,035
	40	0,113	0,108	0,119	0,113
	60	0,168	0,176	0,169	0,171
	80	0,225	0,239	0,214	0,226
	100	0,338	0,247	0,318	0,301
80	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	20	0,042	0,017	0,094	0,051
	40	0,063	0,074	0,089	0,075
	60	0,167	0,141	0,083	0,130
	80	0,197	0,134	0,212	0,181
	100	0,217	0,209	0,235	0,220
100	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	20	0,065	0,044	0,037	0,055

	40	0,078	0,092	0,060	0,076
	60	0,110	0,118	0,129	0,139
	80	0,174	0,156	0,189	0,173
	100	0,221	0,224	0,226	0,223

Grafik kurva standar pengujian kandungan total fenolat berdasarkan Volume pelarut (ppm) ditunjukkan dalam tabel berikut ini.

Volume Pelarut (%)	R ²	Grafik Kurva
20	0,9932	<p> $y = 0,0062x - 0,0144$ $R^2 = 0,9932$ </p>
40	0,9838	<p> $y = 0,0046x + 0,0005$ $R^2 = 0,9838$ </p>
60	0,9933	<p> $y = 0,003x - 0,0114$ $R^2 = 0,9933$ </p>



d. Pembuatan larutan Na_2CO_3 12%

$$12\% = \frac{m}{V}$$

$$m = \frac{12}{100} \times 4 \text{ mL}$$

$$m = 0,48 \text{ gram}$$

Sehingga, dibuat larutan Na_2CO_3 12% dengan melarutkan 0,48 gram $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{s})$ kedalam 4 mL aqua DM.

e. Perhitungan Kadar Total Fenolat (TPC)

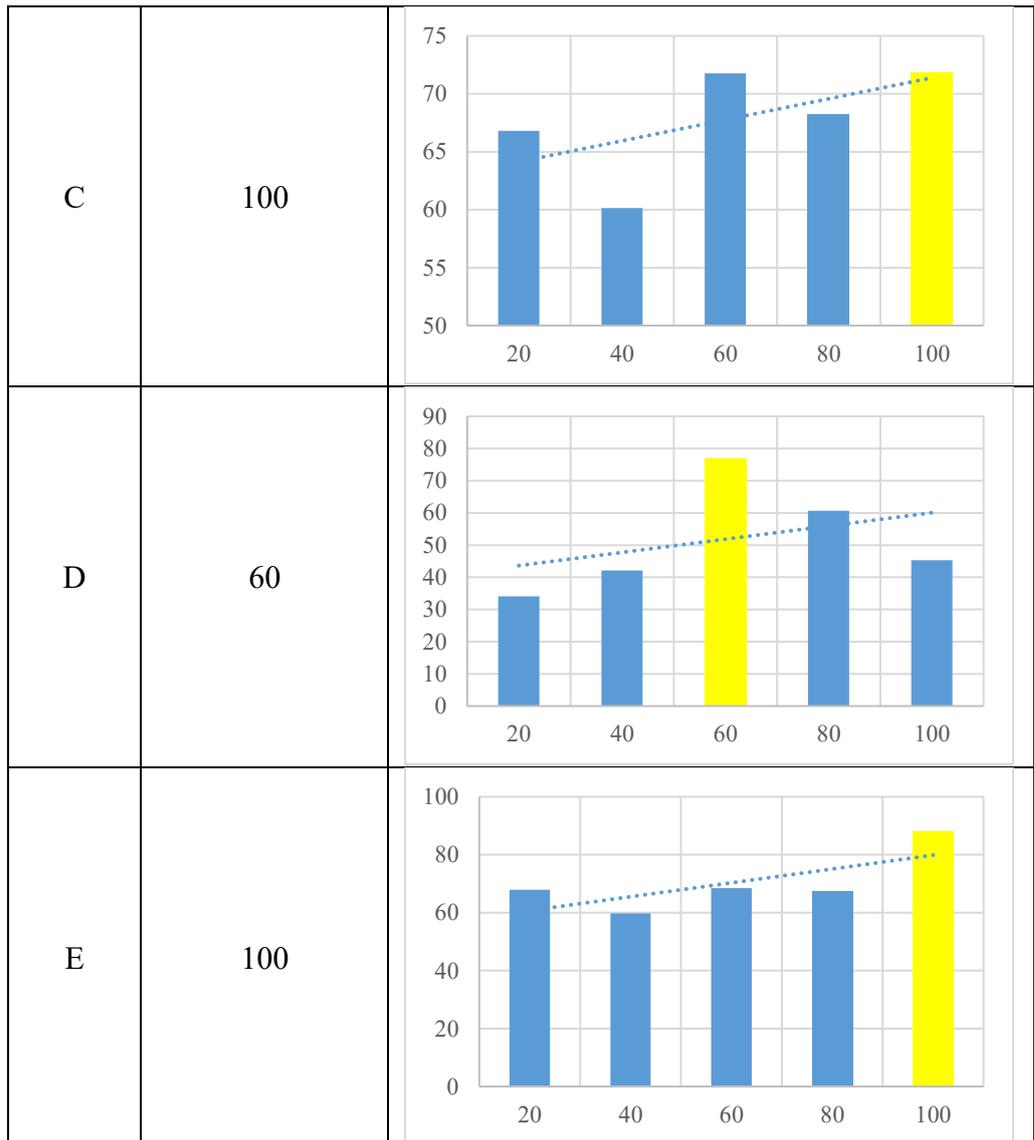
$$\text{Total Fenolat} \left(\frac{\mu\text{g AGE}}{\text{g}} \right) = C \times V \times \text{FP} \times \left(\frac{1}{\text{Massa sampel kering}} \right)$$

Data hasil perhitungan kadar total fenolat pada masing-masing kode sampel ditunjukkan dalam tabel berikut.

Kode Sampel	Volume Pelarut (%)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Volume Ekstrak (mL)	F P	Massa Sampel Kering (gram)	TPC $\left(\frac{\mu\text{g AGE}}{\text{g}} \right)$
A	20	59,0430107	1	1	0,8919	66,3249158
	40	53,2246376				59,6755664
	60	60,8888888				68,2687396
	80	58,6969697				86,1966452
	100	59,9090909				84,1580962

B	20	46,0322580	1	1	0,9077	50,8094297
	40	41,2681159				45,4644882
	60	63,2222222				69,6510105
	80	57,9393939				87,2000827
	100	63,6969697				87,7008489
C	20	63,1827957	1	1	0,9475	66,8103884
	40	56,9927536				60,1506634
	60	66,8888889				71,7678100
	80	64,6060606				68,1858159
	100	68,0909090				71,8637563
D	20	64,0967741	1	1	0,9271	34,1170049
	40	67,2826087				42,0901080
	60	68,8888889				76,9424369
	80	67,1818181				60,6975809
	100	68,8484848				45,3352421
E	20	64,4193548	1	1	0,9506	67,8958043
	40	56,7753623				59,7258177
	60	65,1111111				68,4947519
	80	64,0000000				67,3258994
	100	83,6969697				88,0464650

Kode Beras	Volume Pelarut pada Hasil Pengujian TPC Tertinggi (%)	Grafik Hasil Data TPC												
A	80	<p>Detailed description: A bar chart with the y-axis ranging from 0 to 100. The x-axis shows five volume categories: 20, 40, 60, 80, and 100. The bars represent TPC values. The bar for volume 80 is highlighted in yellow. A blue dotted trend line is overlaid on the bars.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Volume</th> <th>TPC (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>20</td> <td>~65</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>~60</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>~68</td> </tr> <tr> <td>80</td> <td>~85</td> </tr> <tr> <td>100</td> <td>~82</td> </tr> </tbody> </table>	Volume	TPC (%)	20	~65	40	~60	60	~68	80	~85	100	~82
Volume	TPC (%)													
20	~65													
40	~60													
60	~68													
80	~85													
100	~82													
B	100	<p>Detailed description: A bar chart with the y-axis ranging from 0 to 100. The x-axis shows five volume categories: 20, 40, 60, 80, and 100. The bars represent TPC values. The bar for volume 100 is highlighted in yellow. A blue dotted trend line is overlaid on the bars.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Volume</th> <th>TPC (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>20</td> <td>~50</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>~45</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>~70</td> </tr> <tr> <td>80</td> <td>~85</td> </tr> <tr> <td>100</td> <td>~88</td> </tr> </tbody> </table>	Volume	TPC (%)	20	~50	40	~45	60	~70	80	~85	100	~88
Volume	TPC (%)													
20	~50													
40	~45													
60	~70													
80	~85													
100	~88													



3. Kandungan Total Flavonoid (TFC)

a. Pembuatan larutan stok kuersetin 100 ppm

$$\text{ppm} = \frac{10 \text{ mg}}{0,1 \text{ L}}$$

$$\text{ppm} = 100 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$$

$$\text{ppm} = 100 \text{ ppm}$$

Sehingga, dibuat larutan stok kuersetin 100 ppm dengan melarutkan 10 miligram atau 0,01 gram ke dalam 0,1 L atau 100 mL pelarut EtOH.

b. Pengenceran larutan stok kuersetin (50, 40, 30, 20, 10, 0 ppm)

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Data perhitungan pengenceran larutan stok kuersetin 100 ppm menjadi 50, 40, 30, 20, 10 dan 0 ppm ditunjukkan dalam tabel berikut ini.

Variasi Konsentrasi (ppm)	M1 (M)	M2 (M)	V1 (mL)	V2 (mL)	Perhitungan
50	100	50	50	2	$M1 \times V1 = M2 \times V2$ $100 \text{ ppm} \times V1 = 50 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}$ $V1 = \frac{50 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$ $V1 = 1 \text{ mL}$ <p>Diambil 1 mL larutan stok asam galat 100 ppm, lalu ditambahkan 1 mL pelarut. Sehingga total volume 2 mL.</p>
40	100	40	40	2	$M1 \times V1 = M2 \times V2$ $100 \text{ ppm} \times V1 = 40 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}$ $V1 = \frac{40 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$ $V1 = 0,8 \text{ mL}$ <p>Diambil 0,8 mL larutan stok asam galat 100 ppm, lalu ditambahkan 0,2 mL pelarut. Sehingga total volume 2 mL.</p>
30	100	30	30	2	$M1 \times V1 = M2 \times V2$ $100 \text{ ppm} \times V1 = 30 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}$ $V1 = \frac{30 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$ $V1 = 0,6 \text{ mL}$ <p>Diambil 0,6 mL larutan stok asam galat 100 ppm, lalu ditambahkan 0,4 mL pelarut. Sehingga total volume 2 mL.</p>
20	100	20	20	50	$M1 \times V1 = M2 \times V2$ $100 \text{ ppm} \times V1 = 20 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}$ $V1 = \frac{20 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$ $V1 = 0,4 \text{ mL}$ <p>Diambil 0,4 mL larutan stok asam galat 100 ppm, lalu ditambahkan 0,6 mL pelarut. Sehingga total volume 2 mL.</p>
10	500	20	10	50	$M1 \times V1 = M2 \times V2$ $100 \text{ ppm} \times V1 = 10 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}$ $V1 = \frac{10 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$ $V1 = 0,2 \text{ mL}$

					Diambil 0,2 mL larutan stok asam galat 100 ppm, lalu ditambahkan 0,8 mL pelarut. Sehingga total volume 2 mL.
0	500	0	0	50	$M1 \times V1 = M2 \times V2$ $100 \text{ ppm} \times V1 = 0 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}$ $V1 = \frac{0 \text{ ppm} \times 2 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}}$ $V1 = 0 \text{ mL}$ Diambil 0 mL larutan stok asam galat 100 ppm, lalu ditambahkan 2 mL pelarut. Sehingga total volume 2 mL.
Keterangan: V1 = volume larutan stok V2 = volume larutan setelah diencerkan M1 = konsentrasi larutan stok M2 = konsentrasi larutan setelah pengenceran					

c. Kurva Standar Kuersetin

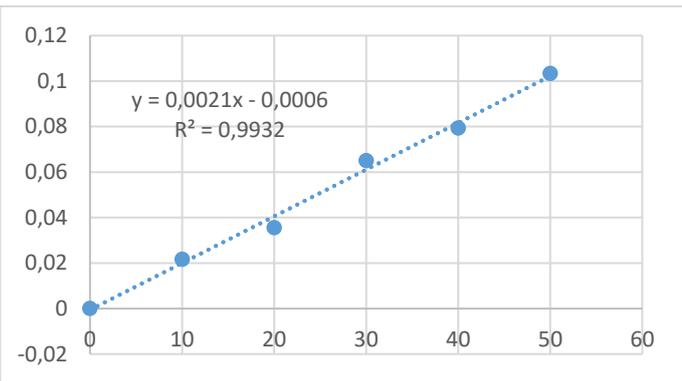
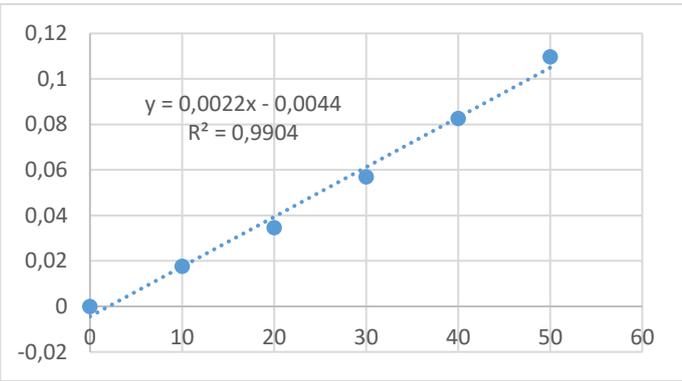
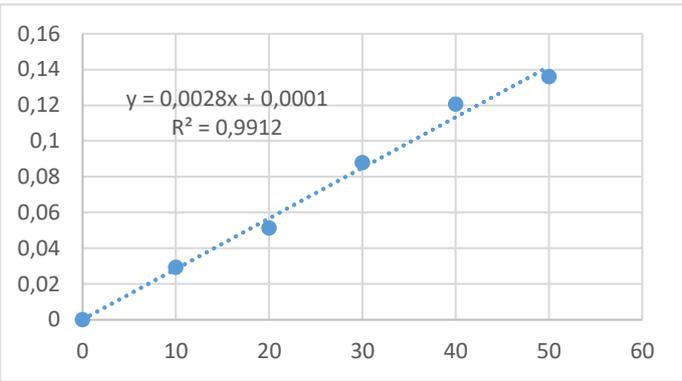
Data absorbansi kurva standar kuersetin pada panjang gelombang maksimum 510 nm ditunjukkan dalam tabel berikut.

Volume Pelarut (%)	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi ke-			Absorbansi rata-rata
		1	2	3	
20	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	10	0,029	0,031	0,038	0,032
	20	0,060	0,045	0,059	0,054
	30	0,063	0,079	0,060	0,067
	40	0,092	0,087	0,090	0,089
	50	0,114	0,108	0,111	0,111
40	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	10	0,039	0,005	0,010	0,018
	20	0,098	0,021	0,043	0,054
	30	0,031	0,055	0,112	0,066
	40	0,087	0,123	0,095	0,101
	50	0,135	0,117	0,118	0,123
60	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	10	0,030	0,017	0,018	0,021
	20	0,022	0,049	0,022	0,035
	30	0,065	0,042	0,088	0,065
	40	0,078	0,060	0,100	0,079
	50	0,101	0,105	0,104	0,103
80	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	10	0,012	0,023	0,018	0,017
	20	0,045	0,022	0,037	0,034

Volume Pelarut (%)	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi ke-			Absorbansi rata-rata
		1	2	3	
	30	0,068	0,045	0,058	0,057
	40	0,089	0,092	0,067	0,082
	50	0,097	0,119	0,113	0,109
100	0	0,000	0,000	0,000	0,000
	10	0,023	0,038	0,027	0,029
	20	0,059	0,044	0,051	0,051
	30	0,079	0,075	0,110	0,088
	40	0,144	0,120	0,098	0,120
	50	0,184	0,085	0,139	0,136

Grafik kurva standar pengujian kandungan total flavonoid berdasarkan Volume pelarut (ppm) ditunjukkan dalam tabel berikut ini.

Volume Pelarut (%)	R ²	Grafik Kurva
20	0,9858	
40	0,9886	

60	0,9932	
80	0,9904	
100	0,9912	

d. Pembuatan Larutan NaNO_2 5%

$$5\% = \frac{m}{V}$$

$$m = \frac{5}{100} \times 0,3 \text{ mL}$$

$$m = 0,015 \text{ gram}$$

Sehingga, dibuat larutan NaNO_2 5% dengan melarutkan 0,015 gram $\text{NaNO}_{2(s)}$ ke dalam 0,3 mL aqua DM.

e. Pembuatan Larutan AlCl_3 10%

$$10\% = \frac{m}{V}$$

$$m = \frac{10}{100} \times 0,3 \text{ mL}$$

$$m = 0,03 \text{ gram}$$

Sehingga, dibuat larutan AlCl_3 10% dengan melarutkan 0,03 gram $\text{AlCl}_3(s)$ ke dalam 0,3 mL aqua DM.

f. Pembuatan Larutan NaOH 4%

$$4\% = \frac{m}{V}$$

$$m = \frac{4}{100} \times 4 \text{ mL}$$

$$m = 0,03 \text{ gram}$$

Sehingga, dibuat larutan AlCl_3 10% dengan melarutkan 0,03 gram $\text{AlCl}_3(s)$ ke dalam 0,3 mL aqua DM.

g. Perhitungan Kadar Total Flavonoid (TFC)

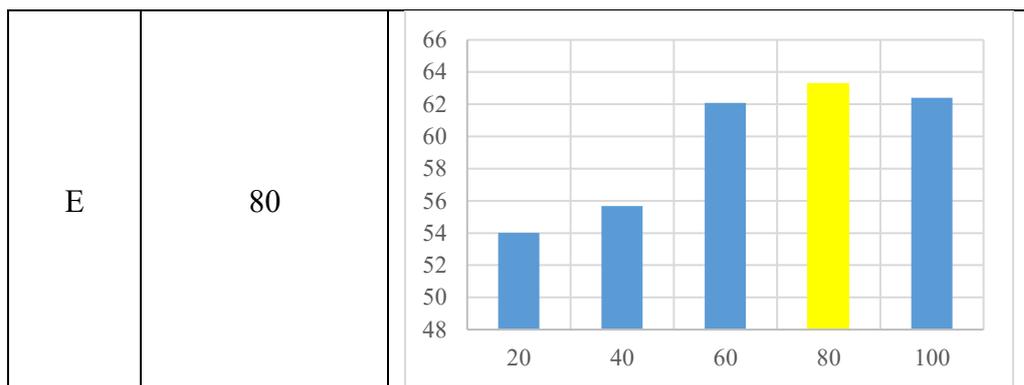
$$\text{Total Fenolat} \left(\frac{\mu\text{g QE}}{\text{g}} \right) = C \times V \times \text{FP} \times \left(\frac{1}{\text{Massa sampel kering}} \right)$$

Data hasil perhitungan kadar total flavonoid pada masing-masing kode sampel ditunjukkan dalam tabel berikut.

Kode Sampel	Volume Pelarut (%)	Konsentrasi Sampel (ppm)	Volume Pelarut (mL)	FP	Massa Sampel Kering (gram)	TFC $\left(\frac{\mu\text{g QE}}{\text{g}} \right)$
A	20	58,17460317	50	1	0,8919	65,22547727
	40	49,05333333				54,99869193
	60	53,30158730				59,76184250
	80	45,63636364				51,16757890
	100	62,77380952				70,38211630
B	20	45,95238095	50	1	0,9077	50,62507541
	40	37,18666667				40,96801440
	60	48,22222220				53,12572680
	80	47,30303030				52,11306600
	100	55,51190476				61,15666494
C	20	55,95238095	50	1	0,9475	59,05264480
	40	53,72000000				56,69656992
	60	50,76190476				53,57456970
	80	49,72727273				52,48260970
	100	59,67857143				62,98529966
D	20	63,0952381	50	1	0,9271	30,21882539
	40	63,45333333				34,93330457
	60	62,34920635				21,02476920
	80	67,00000000				31,24765070
	100	66,34523810				38,81792170
E	20	51,34920635	50	1	0,9506	54,01767973
	40	52,92000000				55,67010309
	60	59,01587302				62,08276140
	80	60,18181818				63,30929700

	100	59,32142857			62,40419585
--	-----	-------------	--	--	-------------

Kode Beras	Volume Pelarut pada Hasil Pengujian TFC Tertinggi (%)	Grafik Hasil Data TFC												
A	100	<table border="1"> <caption>Data for Kode Beras A</caption> <thead> <tr> <th>Volume Pelarut (%)</th> <th>TFC (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>20</td><td>65</td></tr> <tr><td>40</td><td>55</td></tr> <tr><td>60</td><td>60</td></tr> <tr><td>80</td><td>50</td></tr> <tr><td>100</td><td>70</td></tr> </tbody> </table>	Volume Pelarut (%)	TFC (%)	20	65	40	55	60	60	80	50	100	70
Volume Pelarut (%)	TFC (%)													
20	65													
40	55													
60	60													
80	50													
100	70													
B	100	<table border="1"> <caption>Data for Kode Beras B</caption> <thead> <tr> <th>Volume Pelarut (%)</th> <th>TFC (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>20</td><td>50</td></tr> <tr><td>40</td><td>40</td></tr> <tr><td>60</td><td>53</td></tr> <tr><td>80</td><td>52</td></tr> <tr><td>100</td><td>61</td></tr> </tbody> </table>	Volume Pelarut (%)	TFC (%)	20	50	40	40	60	53	80	52	100	61
Volume Pelarut (%)	TFC (%)													
20	50													
40	40													
60	53													
80	52													
100	61													
C	100	<table border="1"> <caption>Data for Kode Beras C</caption> <thead> <tr> <th>Volume Pelarut (%)</th> <th>TFC (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>20</td><td>59</td></tr> <tr><td>40</td><td>57</td></tr> <tr><td>60</td><td>53</td></tr> <tr><td>80</td><td>52</td></tr> <tr><td>100</td><td>63</td></tr> </tbody> </table>	Volume Pelarut (%)	TFC (%)	20	59	40	57	60	53	80	52	100	63
Volume Pelarut (%)	TFC (%)													
20	59													
40	57													
60	53													
80	52													
100	63													
D	100	<table border="1"> <caption>Data for Kode Beras D</caption> <thead> <tr> <th>Volume Pelarut (%)</th> <th>TFC (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>20</td><td>30</td></tr> <tr><td>40</td><td>35</td></tr> <tr><td>60</td><td>21</td></tr> <tr><td>80</td><td>31</td></tr> <tr><td>100</td><td>39</td></tr> </tbody> </table>	Volume Pelarut (%)	TFC (%)	20	30	40	35	60	21	80	31	100	39
Volume Pelarut (%)	TFC (%)													
20	30													
40	35													
60	21													
80	31													
100	39													



4. DPPH

a. Pembuatan larutan DPPH 300 μ M

$$M = \left(\frac{m}{M_r} \right) \times \left(\frac{1000}{V} \right)$$

$$300 \mu\text{M} = \left(\frac{m}{394,32 \frac{\text{gram}}{\text{mol}}} \right) \times \left(\frac{1000}{100 \text{ mL}} \right)$$

$$0,0003 \text{ M} = \left(\frac{m}{394,32 \frac{\text{gram}}{\text{mol}}} \right) \times \left(\frac{1000}{100 \text{ mL}} \right)$$

$$m = \left(\frac{0,0003 \text{ M} \times 394,32 \frac{\text{gram}}{\text{mol}}}{10 \text{ mL}^{-1}} \right)$$

$$m = 0,11829 \text{ gram}$$

b. Perhitungan persentase dekolorisasi DPPH

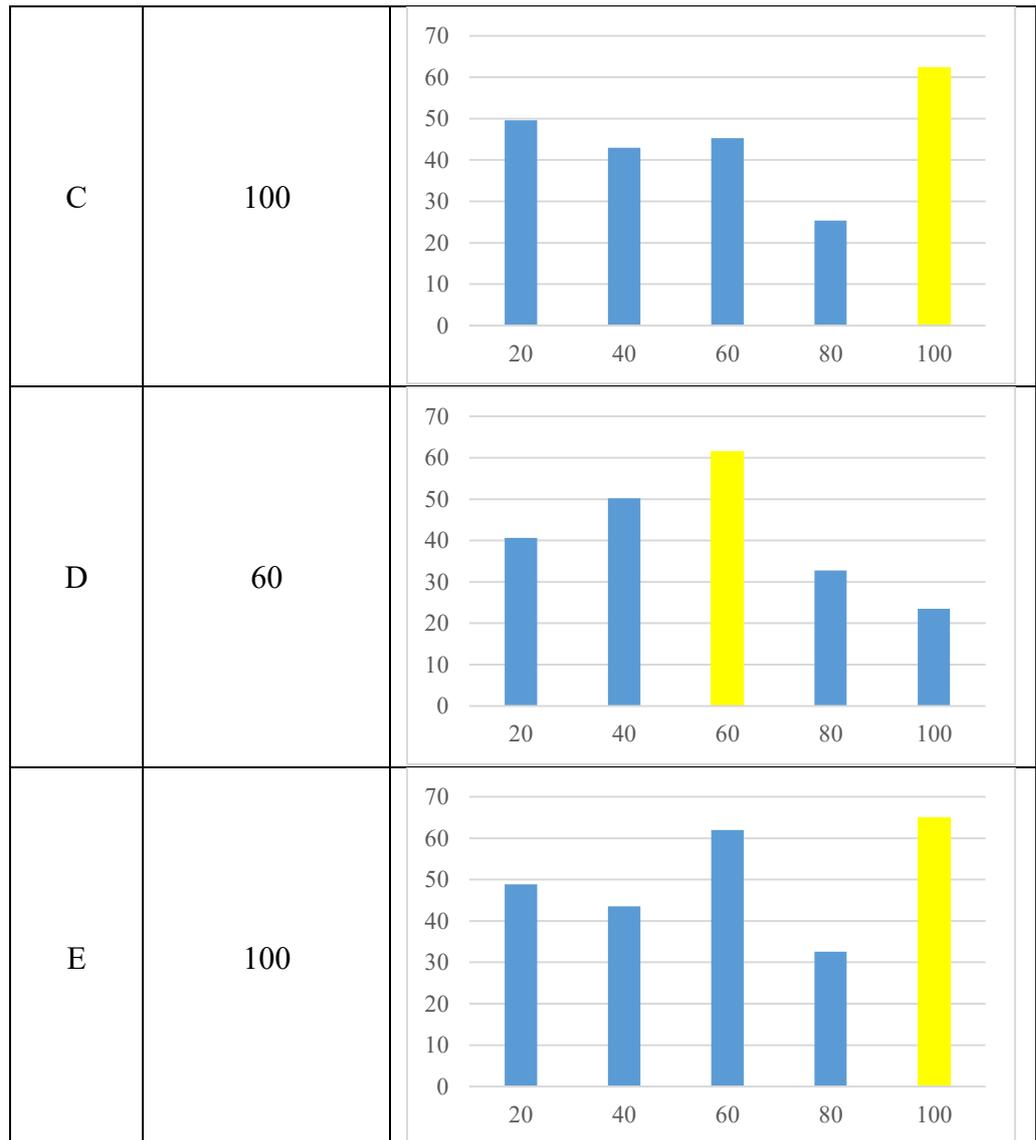
$$\text{Dekolorisasi DPPH} = \left(1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Data hasil perhitungan persentase dekolorisasi DPPH pada masing-masing kode sampel ditunjukkan dalam tabel berikut.

Kode Sampel	Volume Pelarut (%)	λ maks	Absorbansi Kontrol (A)	Absorbansi Sampel (A)	Dekolorisasi DPPH (%)
A	20	516	0,50166666	0,39900000	29,10299003
	40			0,33500000	32,22591367
	60			0,40850000	24,30232563
	80			0,42325000	18,77076417
	100			0,41250000	6,760797404
B	20			0,37900000	27,24252492
	40			0,34060000	39,08305652
	60			0,40700000	24,65116284
	80			0,39300000	21,66112962
	100			0,40600000	3,571428636
C	20	0,30000000	49,6345515		
	40	0,28625000	42,94019937		

	60			0,22400000	45,28239206
	80			0,37425000	25,39867115
	100			0,18875000	62,37541531
D	20			0,29766666	40,66445183
	40			0,25000000	50,16611299
	60			0,19225000	61,67774089
	80			0,33725000	32,77408642
E	100			0,38375000	23,50498344
	20			0,25650000	48,87043189
	40			0,28325000	43,53820602
	60			0,19075000	61,97674421
	80			0,33820000	32,58471765
	100			0,17575000	64,96677743

Kode Beras	Volume Pelarut pada Hasil Pengujian DPPH Tertinggi (%)	Grafik Hasil Data DPPH												
A	40	<table border="1"> <caption>Data for Kode Beras A</caption> <thead> <tr> <th>Volume</th> <th>DPPH Value</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>20</td> <td>~29</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>~32</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>~24</td> </tr> <tr> <td>80</td> <td>~19</td> </tr> <tr> <td>100</td> <td>~7</td> </tr> </tbody> </table>	Volume	DPPH Value	20	~29	40	~32	60	~24	80	~19	100	~7
Volume	DPPH Value													
20	~29													
40	~32													
60	~24													
80	~19													
100	~7													
B	40	<table border="1"> <caption>Data for Kode Beras B</caption> <thead> <tr> <th>Volume</th> <th>DPPH Value</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>20</td> <td>~27</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>~39</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>~24</td> </tr> <tr> <td>80</td> <td>~22</td> </tr> <tr> <td>100</td> <td>~3</td> </tr> </tbody> </table>	Volume	DPPH Value	20	~27	40	~39	60	~24	80	~22	100	~3
Volume	DPPH Value													
20	~27													
40	~39													
60	~24													
80	~22													
100	~3													



5. ABTS

a. Pembuatan larutan $K_2S_2O_8$ 2,45 mM

$$M = \left(\frac{m}{Mr} \right) \times \left(\frac{1000}{V} \right)$$

$$2,45 \text{ mM} = \left(\frac{m}{270,322 \frac{\text{gram}}{\text{mol}}} \right) \times \left(\frac{1000}{100 \text{ mL}} \right)$$

$$0,00245 \text{ M} = \left(\frac{m}{270,322 \frac{\text{gram}}{\text{mol}}} \right) \times \left(\frac{1000}{100 \text{ mL}} \right)$$

$$m = \left(\frac{0,00245 \text{ M} \times 270,322 \frac{\text{gram}}{\text{mol}}}{10 \text{ mL}^{-1}} \right)$$

$$m = 0,006622 \text{ gram}$$

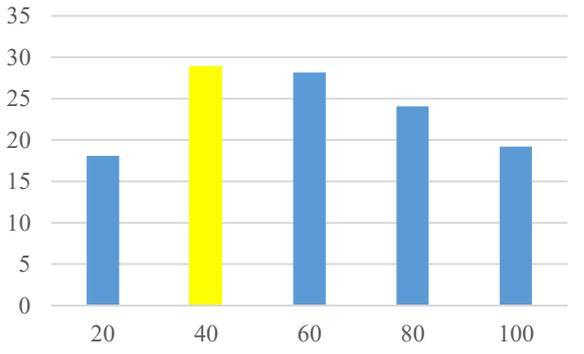
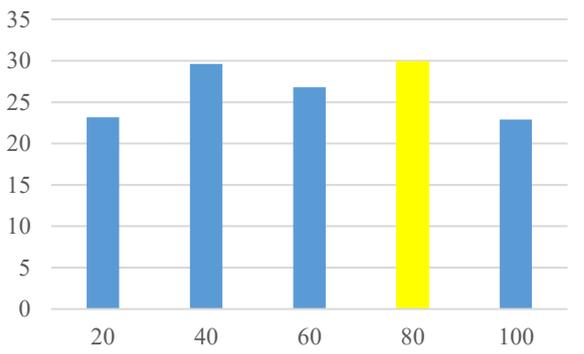
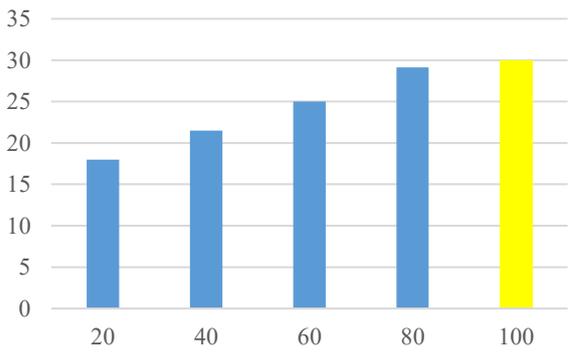
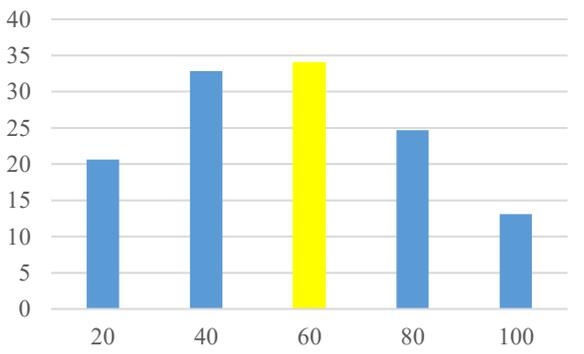
b. Perhitungan persentase dekolorisasi ABTS

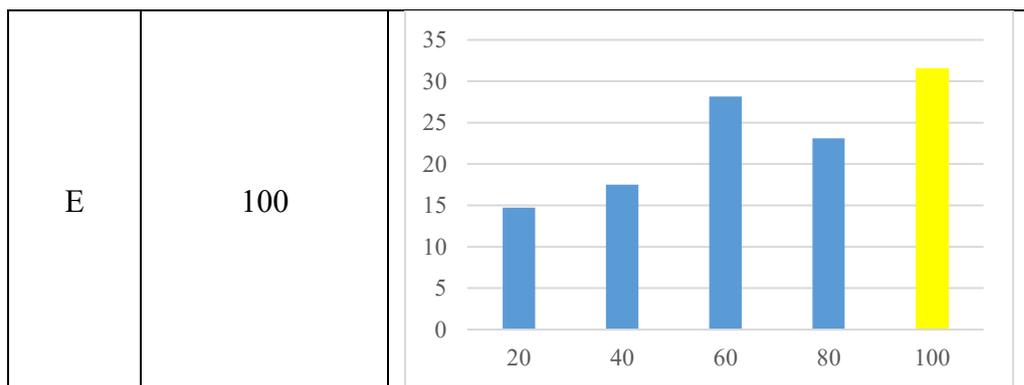
$$\text{Dekolorisasi ABTS} = \left(1 - \frac{\text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \right) \times 100\%$$

Data hasil perhitungan persentase dekolorisasi ABTS pada masing-masing kode sampel ditunjukkan dalam tabel berikut.

Kode Sampel	Volume Pelarut (%)	λ maks	Absorbansi Kontrol (A)	Absorbansi Sampel (A)	Dekolorisasi ABTS (%)
A	20	730	0,58700000	0,48075000	18,10051100
	40			0,41775000	28,83304940
	60			0,42180000	28,15161840
	80			0,44580000	24,06303237
	100			0,47430000	19,20783646
B	20			0,45100000	23,16865417
	40			0,41325000	29,59965928
	60			0,42980000	26,78875639
	80			0,41150000	29,89778535
	100			0,45250000	22,91311755
C	20			0,48150000	17,97274276
	40			0,46075000	21,50766610
	60			0,44030000	25,00000000
	80			0,41600000	29,13117547
	100			0,41100000	29,98296422
D	20			0,50050000	20,61328790
	40			0,39425000	32,83645660
	60			0,38700000	34,07155026
	80			0,44200000	24,70187394
	100			0,51030000	13,07495740
E	20			0,25650000	14,73594550
	40			0,48425000	17,50425894
	60			0,42180000	28,15161840
	80			0,45130000	23,11186826
	100			0,40180000	31,55877340

Kode Beras	Volume Pelarut pada Hasil Pengujian ABTS Tertinggi (%)	Grafik Hasil Data ABTS
------------	--	------------------------

A	40	 <p>A bar chart with a y-axis from 0 to 35 in increments of 5 and an x-axis with categories 20, 40, 60, 80, and 100. The bars have heights of approximately 18, 29, 28, 24, and 19 respectively. The bar at x=40 is highlighted in yellow.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>X-axis</th> <th>Y-axis</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>20</td> <td>18</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>29</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>28</td> </tr> <tr> <td>80</td> <td>24</td> </tr> <tr> <td>100</td> <td>19</td> </tr> </tbody> </table>	X-axis	Y-axis	20	18	40	29	60	28	80	24	100	19
X-axis	Y-axis													
20	18													
40	29													
60	28													
80	24													
100	19													
B	80	 <p>A bar chart with a y-axis from 0 to 35 in increments of 5 and an x-axis with categories 20, 40, 60, 80, and 100. The bars have heights of approximately 23, 30, 27, 30, and 23 respectively. The bar at x=80 is highlighted in yellow.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>X-axis</th> <th>Y-axis</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>20</td> <td>23</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>27</td> </tr> <tr> <td>80</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>100</td> <td>23</td> </tr> </tbody> </table>	X-axis	Y-axis	20	23	40	30	60	27	80	30	100	23
X-axis	Y-axis													
20	23													
40	30													
60	27													
80	30													
100	23													
C	100	 <p>A bar chart with a y-axis from 0 to 35 in increments of 5 and an x-axis with categories 20, 40, 60, 80, and 100. The bars have heights of approximately 18, 22, 25, 29, and 30 respectively. The bar at x=100 is highlighted in yellow.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>X-axis</th> <th>Y-axis</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>20</td> <td>18</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>22</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>80</td> <td>29</td> </tr> <tr> <td>100</td> <td>30</td> </tr> </tbody> </table>	X-axis	Y-axis	20	18	40	22	60	25	80	29	100	30
X-axis	Y-axis													
20	18													
40	22													
60	25													
80	29													
100	30													
D	60	 <p>A bar chart with a y-axis from 0 to 40 in increments of 5 and an x-axis with categories 20, 40, 60, 80, and 100. The bars have heights of approximately 21, 33, 34, 25, and 13 respectively. The bar at x=60 is highlighted in yellow.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>X-axis</th> <th>Y-axis</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>20</td> <td>21</td> </tr> <tr> <td>40</td> <td>33</td> </tr> <tr> <td>60</td> <td>34</td> </tr> <tr> <td>80</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>100</td> <td>13</td> </tr> </tbody> </table>	X-axis	Y-axis	20	21	40	33	60	34	80	25	100	13
X-axis	Y-axis													
20	21													
40	33													
60	34													
80	25													
100	13													

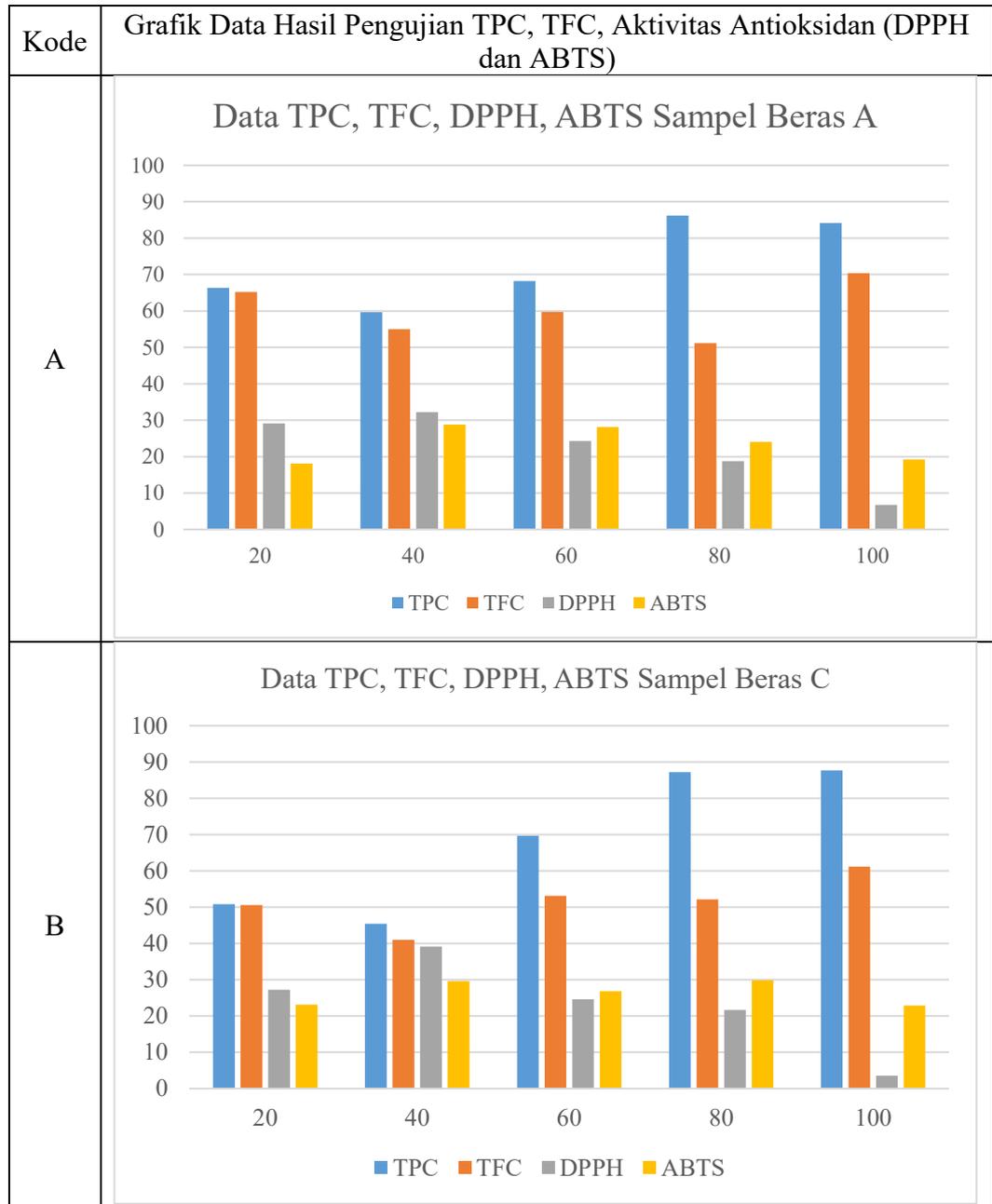


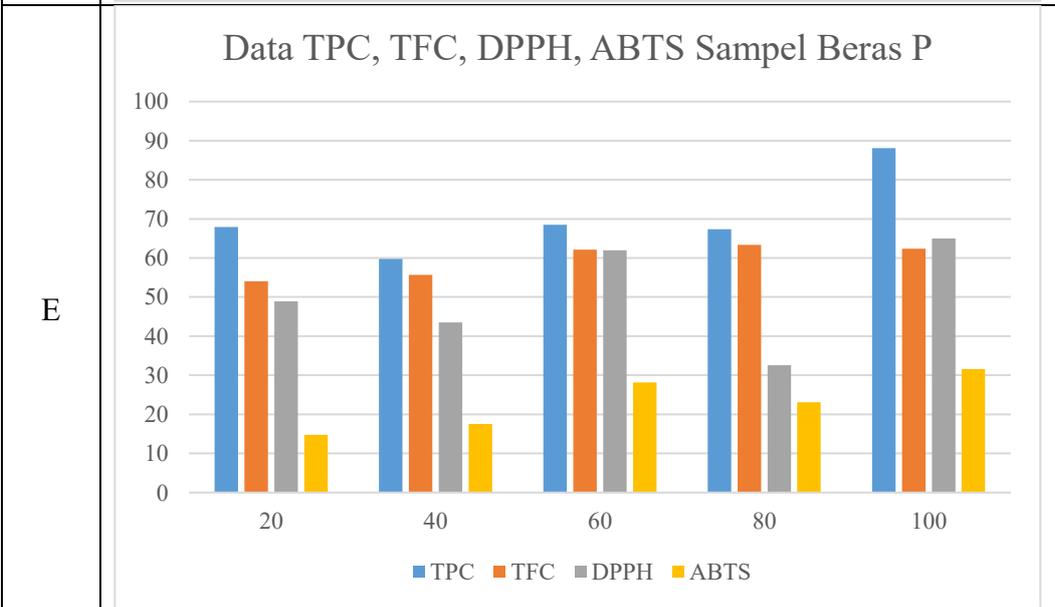
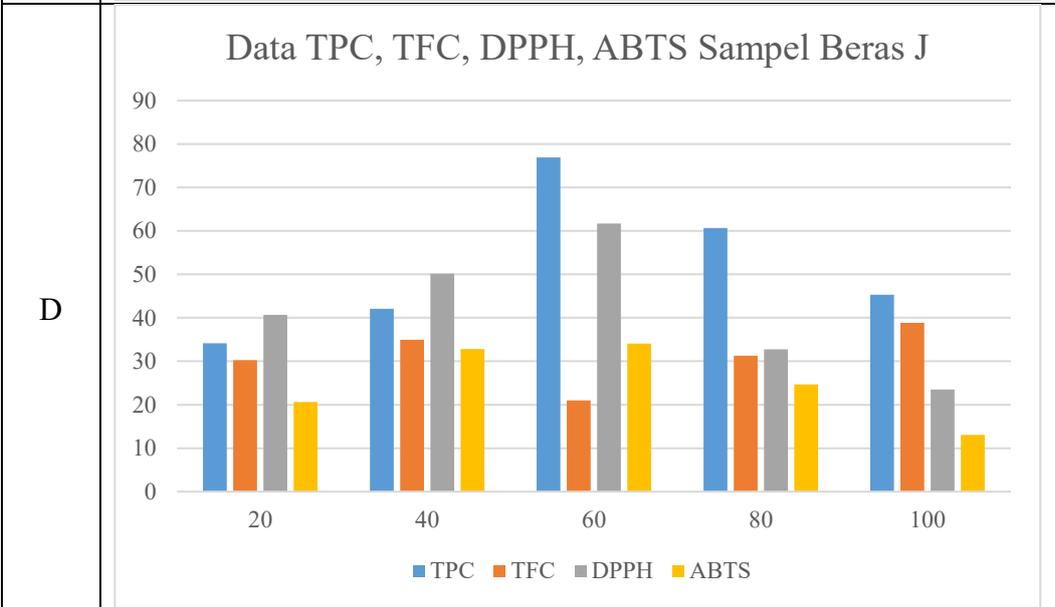
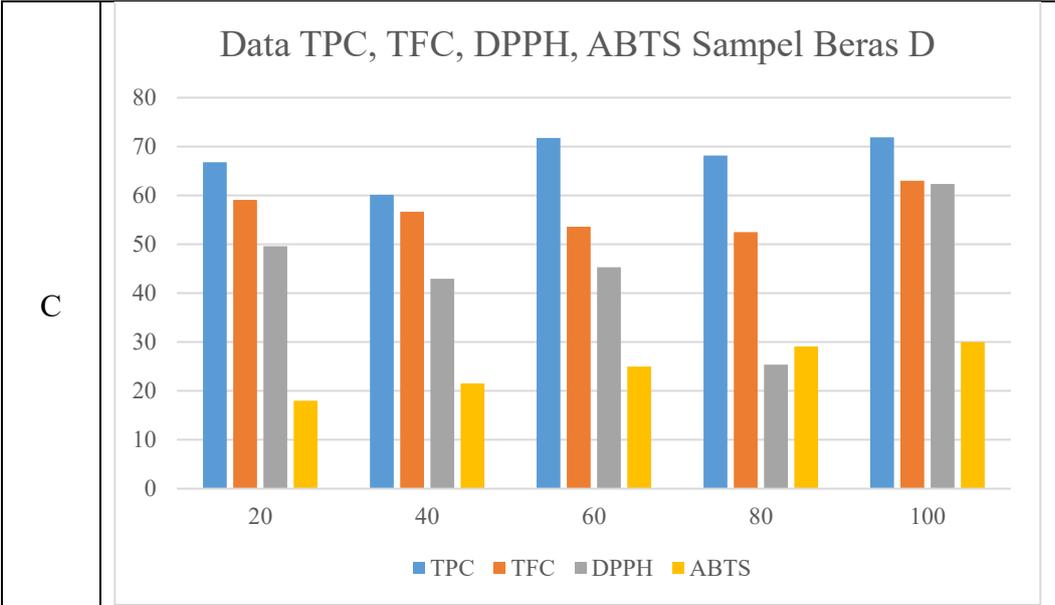
6. Data Hasil Pengujian Berdasarkan Kode Sampel Beras

Data hasil perhitungan terhadap keempat parameter, yaitu TPC, TFC, DPPH, dan ABTS pada masing-masing kode jenis beras ditunjukkan dalam tabel berikut.

Kode Sampel	%Pelarut	TPC	TFC	DPPH	ABTS
A	20	66,3249158	65,22547727	29,10299003	18,10051100
	40	59,6755664	54,99869193	32,22591367	28,83304940
	60	68,2687396	59,76184250	24,30232563	28,15161840
	80	86,1966452	51,16757890	18,77076417	24,06303237
	100	84,1580962	70,38211630	6,760797404	19,20783646
B	20	50,8094297	50,62507541	27,24252492	23,16865417
	40	45,4644882	40,96801440	39,08305652	29,59965928
	60	69,6510105	53,12572680	24,65116284	26,78875639
	80	87,2000827	52,11306600	21,66112962	29,89778535
	100	87,7008489	61,15666494	3,571428636	22,91311755
C	20	66,8103884	59,05264480	49,6345515	17,97274276
	40	60,1506634	56,69656992	42,94019937	21,50766610
	60	71,7678100	53,57456970	45,28239206	25,00000000
	80	68,1858159	52,48260970	25,39867115	29,13117547
	100	71,8637563	62,98529966	62,37541531	29,98296422
D	20	34,1170049	30,21882539	40,66445183	20,61328790
	40	42,0901080	34,93330457	50,16611299	32,83645660
	60	76,9424369	21,02476920	61,67774089	34,07155026
	80	60,6975809	31,24765070	32,77408642	24,70187394
	100	45,3352421	38,81792170	23,50498344	13,07495740
E	20	67,8958043	54,01767973	48,87043189	14,73594550
	40	59,7258177	55,67010309	43,53820602	17,50425894
	60	68,4947519	62,08276140	61,97674421	28,15161840
	80	67,3258994	63,30929700	32,58471765	23,11186826
	100	88,0464650	62,40419585	64,96677743	31,55877340

Data hasil perhitungan terhadap keempat parameter, yaitu TPC, TFC, DPPH, dan ABTS pada masing-masing kode jenis beras ditunjukkan dalam grafik berikut.





7. Hasil Data Uji Korelasi

Data hasil pengujian korelasi terhadap keempat parameter, yaitu TPC, TFC, DPPH, dan ABTS pada masing-masing kode jenis beras menggunakan SPSS 26 ditunjukkan dalam tabel berikut.

Kode	Grafik Data Hasil Pengujian Korelasi					
A	Correlations					
			TPC	TFC	DPPH	ABTS
	TPC	Pearson Correlation	1	0,076	0,362	0,648
		Sig. (2-tailed)		0,903	0,549	0,237
		N	5	5	5	5
	TFC	Pearson Correlation	0,076	1	-0,162	-0,699
		Sig. (2-tailed)	0,903		0,795	0,189
		N	5	5	5	5
	DPPH	Pearson Correlation	0,362	-0,162	1	0,268
		Sig. (2-tailed)	0,549	0,795		0,663
		N	5	5	5	5
	ABTS	Pearson Correlation	0,648	-0,699	0,268	1
		Sig. (2-tailed)	0,237	0,189	0,663	
		N	5	5	5	5
**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).						
B	Correlations					
			TPC	TFC	DPPH	ABTS
	TPC	Pearson Correlation	1	0,475	-0,234	-0,300
		Sig. (2-tailed)		0,418	0,705	0,623
		N	5	5	5	5
	TFC	Pearson Correlation	0,475	1	0,295	-.943⁺
		Sig. (2-tailed)	0,418		0,630	0,016
		N	5	5	5	5
	DPPH	Pearson Correlation	-0,234	0,295	1	-0,131
		Sig. (2-tailed)	0,705	0,630		0,834
		N	5	5	5	5
	ABTS	Pearson Correlation	-0,300	-.943⁺	-0,131	1
		Sig. (2-tailed)	0,623	0,016	0,834	
		N	5	5	5	5
*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).						
C	Correlations					
			TPC	TFC	DPPH	ABTS
	TPC	Pearson Correlation	1	0,098	-0,122	0,105
		Sig. (2-tailed)		0,875	0,845	0,867
		N	5	5	5	5
	TFC	Pearson Correlation	0,098	1	0,706	0,065
		Sig. (2-tailed)	0,875		0,183	0,917
		N	5	5	5	5
	DPPH	Pearson Correlation	-0,122	0,706	1	-0,061
		Sig. (2-tailed)	0,845	0,183		0,922
		N	5	5	5	5
	ABTS	Pearson Correlation	0,105	0,065	-0,061	1
		Sig. (2-tailed)	0,867	0,917	0,922	
		N	5	5	5	5

		Correlations				
		TPC	TFC	DPPH	ABTS	
D	TPC	Pearson Correlation	1	-0,878	0,073	0,794
		Sig. (2-tailed)		0,050	0,907	0,108
		N	5	5	5	5
	TFC	Pearson Correlation	-0,878	1	0,211	-0,645
		Sig. (2-tailed)	0,050		0,734	0,240
		N	5	5	5	5
	DPPH	Pearson Correlation	0,073	0,211	1	0,505
		Sig. (2-tailed)	0,907	0,734		0,385
		N	5	5	5	5
	ABTS	Pearson Correlation	0,794	-0,645	0,505	1
		Sig. (2-tailed)	0,108	0,240	0,385	
		N	5	5	5	5
** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).						
		Correlations				
		TPC	TFC	DPPH	ABTS	
E	TPC	Pearson Correlation	1	0,607	-0,214	0,175
		Sig. (2-tailed)		0,278	0,730	0,778
		N	5	5	5	5
	TFC	Pearson Correlation	0,607	1	0,319	-0,367
		Sig. (2-tailed)	0,278		0,601	0,543
		N	5	5	5	5
	DPPH	Pearson Correlation	-0,214	0,319	1	-0,853
		Sig. (2-tailed)	0,730	0,601		0,066
		N	5	5	5	5
	ABTS	Pearson Correlation	0,175	-0,367	-0,853	1
		Sig. (2-tailed)	0,778	0,543	0,066	
		N	5	5	5	5

Berikut interpretasi data hasil uji korelasi berdasarkan interval koefisien korelasi ditunjukkan pada tabel berikut.

Interval Koefisien	Kategori Koefisien Korelasi
0,00 – 0,19	Sangat Lemah
0,20 – 0,39	Lemah
0,40 – 0,59	Sedang (moderate)
0,60 – 0,79	Kuat
0,80 – 1,00	Sangat Kuat

Sampel	Hasil Uji Korelasi TPC dan TFC	Kategori Koefisien Korelasi	
A	0,076	Positif (+1)	Sangat lemah
B	0,475	Positif (+1)	Sedang
C	0,098	Positif (+1)	Sangat Lemah
D	-0,878	Negatif (-1)	-
E	0,607	Positif (+1)	Kuat

Sampel	Hasil Uji Korelasi TPC dan DPPH	Kategori Koefisien Korelasi		Hasil Uji Korelasi TPC dan ABTS	Kategori Koefisien Korelasi	
A	0,362	+1	Lemah	0,648	+1	Kuat
B	-0,234	-1	-	-0,300	-1	-
C	-0,122	-1	-	0,105	+1	Sangat Lemah
D	0,073	+1	Sangat Lemah	0,794	+1	Kuat
E	-0,214	-1	-	0,175	+1	Sangat Lemah

Sampel	Hasil Uji Korelasi TFC dan DPPH	Kategori Koefisien Korelasi		Hasil Uji Korelasi TFC dan ABTS	Kategori Koefisien Korelasi	
A	-0,162	-1	-	-0,699	-1	-
B	0,295	+1	Lemah	-0,943*	-1	-
C	0,706	+1	Kuat	0,065	+1	Sangat Lemah
D	0,211	+1	Lemah	-0,645	-1	-
E	0,319	+1	Lemah	-0,367	-1	-

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Surabaya, 06 November 2004, merupakan anak pertama dari satu bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal yaitu di TK Tunas Bangsa Sidoarjo, SDN Cemeng Kalang Sidoarjo, SMPN 5 Sidoarjo dengan program kelas akselerasi dan SMAN 4 Sidoarjo. Setelah lulus dari SMA tahun 2021, Penulis mengikuti SNMPTN dan diterima di Departemen Kimia FSAD-ITS pada tahun 2021 dan terdaftar dengan NRP 5004211001. Di Departemen Kimia ini, penulis mengambil bidang penelitian kimia organik dengan topik kimia bahan makanan sebagai tugas akhir. Penulis sempat aktif di kegiatan yang diselenggarakan oleh Badan Eksekutif Mahasiswa Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS) yaitu sebagai mentor di kegiatan GERIGI ITS 2023, salah satu bagian dari Pemandu LKMM Pra-TD, LKMM TD, dan PP LKMM baik dalam internal Fakultas Sains dan Analitika Data (FSAD) ITS ataupun eksternal, seperti LKMM Pra TD yang diselenggarakan oleh Fakultas Teknologi Kelautan (FTK) ITS dan Fakultas Teknik (FT) Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Salah satu anggota dan delegasi ITS *Model United Nations* (ITSMUN Club) dan *Society of Petroleum Engineers* ITS *Student Chapter* (SPE ITS SC). Tak hanya itu, penulis juga sempat aktif di kegiatan yang diselenggarakan oleh Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMKA) ITS yaitu sebagai kepala departemen *Skill and Research* (SR) 2024, ketua pelaksana *Integrated ISO Training* (RAINING) 2023, anggota dan sekretaris kegiatan *Chemistry Research Club* (CRC), moderator kegiatan Pameran Tugas Akhir, dan panitia ataupun *master of ceremony* (MC) di beberapa program kerja serta kepanitiaan. Penulis merupakan peserta aktif dalam pelatihan LKMM Pra-TD, LKMM TD, PP LKMM, LKMW TD, dan PKTI TD. Selain itu, penulis juga aktif sebagai asisten praktikum Kimia Dasar I dan Kimia Dasar II. Penulis mengambil bidang kimia organik dibawah bimbingan Ibu Zjhra Vianita Nugraheni, S.Si., M.Si. Penulis dapat dihubungi melalui surat elektronik (e-mail) dengan alamat sifrathrivelia@gmail.com.