

# AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENETAPAN KADAR FENOL TOTAL EKSTRAK METANOL DEDAK BEBERAPA VARIETAS PADI (*ORYZA SATIVA* L.)

Dede Sugiati, Endang Hanani, Abdul Mun'im  
*Universitas Indonesia FMIPA, Departemen Farmasi*

## ABSTRACT

*Antioxidant has been known to have an important role in the prevention and treatment of diseases. In recent years, many plants have been explored to obtain new antioxidants from natural products. Rice has been known rich in antioxidative compounds. However, there is little attention to the co- or by- products from rice (*Oryza sativa*) milling plant. One of the products is rice bran. In this study ten varieties of rice bran, which are commonly cultivated varieties in Indonesia were studied their antioxidant activity and total phenolic content. The antioxidant activity was examined by DPPH scavenging assay and total reducing power, while total phenolic content was determined by Folin-Ciocalteu reagent. The results of this study showed that the methanolic extract of IR-64 variety demonstrated the strongest DPPH radical scavenger activity with  $IC_{50}$  350.64 ppm, while in reducing power activity was exhibited by methanolic extract of IR-42 variety. However, the highest total phenolic content (71.85 mg gallic acid equivalent/gram) was found in methanolic extract of OM-4495 rice bran. These result indicated that the methanolic extract of rice bran might potentially be natural antioxidants.*

**Keywords :** *Antioxidant, DPPH scavenging assay, Folin-Ciocalteu, *Oryza sativa*, rice bran, total phenolic.*

## ABSTRAK

*Antioksidan telah dikenal berperan penting dalam pencegahan dan pengobatan penyakit. Saat ini banyak penelitian dilakukan untuk mencari antioksidan dari bahan alam. Salah satunya adalah beras yang sudah dikenal banyak mengandung antioksidan. Namun produk samping industri penggilingan beras, yaitu dedak belum banyak mendapat perhatian. Pada penelitian ini dilakukan penelitian aktivitas antioksidan dan penentuan kandungan fenol total dari 10 varietas dedak yang banyak ditanaman di Indonesia. Aktivitas antioksidan dilakukan dengan dua metode, yaitu penangkapan*

---

Corresponding author : E-mail : munimab@yahoo.com

radikal DPPH dan kekuatan reduksi, sedangkan kadar fenol total dilakukan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu. Aktivitas antioksidan terkuat pada metode penangkapan radikal DPPH diperlihatkan oleh dedak padi IR-64, dengan  $IC_{50}$  350,64 ppm, sedangkan kekuatan reduksi diperlihatkan oleh ekstrak metanol padi IR-42. Dalam penelitian ini, kadar fenol total yang terbanyak dikandung pada ekstrak metanol dedak padi varietas OM-4495 dengan kadar fenol total 71,85 mg setara asam galat / gram. Dari penelitian ini dedak sangat potensial sebagai sumber antioksidan alami.

**Kata kunci :** antioksidan, dedak padi, Folin-Ciocalteu, DPPH, *Oryza sativa*, penentuan kekuatan reduksi.

## PENDAHULUAN

Pada awal abad ini, obesitas (kegemukan) telah menjadi penyakit metabolik yang paling cepat berkembang dan paling umum di dunia. Lebih dari tiga ratus juta orang di seluruh dunia dapat digolongkan mengidap kegemukan. Obesitas telah menjadi sangat penting dan salah satu perhatian di dunia kesehatan bukan hanya karena obesitas tersebut sebagai sebuah penyakit, tetapi karena fakta membuktikan obesitas juga merupakan salah satu faktor risiko untuk berbagai macam penyakit, diantaranya merupakan penyakit yang memiliki tingkat mortalitas dan morbiditas yang tinggi (Chrysohoou *et al.* 2007). Diantara penyakit-penyakit tersebut adalah arterosklerosis, diabetes tipe 2, dislipidemia, hiperurisemia, hipertensi arterial, dan berbagai macam jenis penyakit (Formiguera & Canton, 2004; Amirkhizi *et al.* 2010).

Kini telah banyak studi yang memperlihatkan adanya hubungan antara obesitas dengan senyawa antioksidan. Selain dapat mencegah

inflamasi yang diperantarai oleh *adipokines* yang juga berperan dalam penyimpanan lemak, antioksidan juga diketahui dapat mencegah stres oksidatif yang diakibatkan oleh akumulasi lemak pada penderita obesitas (Furukawa, *et al.* 2004; Beltowski, *et al.* 2000). Saat ini telah berkembang ketertarikan yang tinggi pada fitonutrien atau *nutraceutical*, senyawa bioaktif yang berasal dari tanaman yang muncul secara alami pada makanan dan memiliki sifat pencegahan dan pengobatan penyakit.

Sebagai salah satu tanaman pangan, padi (*Oryza sativa* L.) merupakan bahan makanan yang dikonsumsi oleh lebih dari setengah populasi manusia di dunia (IRRI, 2009). FAO melaporkan bahwa produksi padi total di seluruh dunia pada tahun 2007 adalah 638 juta ton (FAO, 2008). Di Indonesia, berdasarkan data Kementerian Pertanian Republik Indonesia, pada tahun 2009 telah diproduksi padi dengan jumlah total sekitar 64.329.329 ton (Kementan RI, 2010). Berdasarkan penelitian, penggilingan padi akan menghasilkan

rendemen beras 57-60%, dan sisanya adalah hasil samping berupa sekam 18-20%, dan dedak 8-10% (Hadipernata, 2007). Dengan data produksi padi dari Kementerian Pertanian Republik Indonesia pada tahun 2009, maka hasil samping penggilingan beras yang diproduksi adalah sekitar 25 juta ton. Sampai saat ini dedak hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak (Hadipernata, 2007).

Dedak diketahui kaya akan senyawa fenol, terutama oryzanol. Senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan kuat. Oleh karena itu pada penelitian ini diuji aktivitas antioksidan dari ekstrak methanol dedak dari berbagai spesies yang banyak ditanam di Indonesia, selain itu ditentukan kadar senyawa fenol yang bertanggungjawab atas aktivitas tersebut

## **METODE**

### **Bahan**

Simplisia dedak padi dari 10 varietas, yaitu varietas IR-64, IR-42, Ciherang, Cibogo, Cigeulis, Sintanur, INPARI-1, INPARI-5, INPARI-10, dan OM-4495 diperoleh dari Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, Subang. Reagen Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich), DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil) (Wako), Butil Hidroksi Toluen (BHT) (Merck).

### **Cara Kerja**

#### ***Stabilisasi Simplisia***

Sebelum dilakukan proses stabilisasi, mula-mula simplisia diayak

terlebih dahulu dengan menggunakan ayakan B40. Stabilisasi dedak padi dilakukan dengan memanaskan sampel dedak sebanyak 100 gram pada *oven* dengan suhu 120°C selama tiga menit, kemudian sampel dibiarkan pada temperatur kamar selama 12 jam. Proses ini dilakukan tiga kali untuk memastikan bahwa enzim lipase endogen telah terinaktivasi (Lai *et al.* 2009).

#### ***Ekstraksi Simplisia***

Dedak (100 g) hasil distabilisasi dimaserasi dengan 100 ml metanol selama tiga jam. Selanjutnya, filtrat disaring, residu dimaserasi kembali sebanyak dua kali. Cairan hasil penyaringan dipekatkan dan penguap vakum putar. Ekstrak yang telah didapat kemudian disimpan pada wadah tertutup pada temperatur 4°C sebelum digunakan (Lai *et al.* 2009).

#### ***Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Peredaman Radikal DPPH***

Pengujian aktivitas penangkapan radikal DPPH dilakukan mengikuti modifikasi metode Mun'im *et al.* 2003. Secara garis besar ekstrak dibuat dalam berbagai larutan dalam methanol. Sebanyak 1,0 ml ekstrak dimasukkan kedalam wadah selanjutnya ditambahkan 1 ml larutan DPPH (100 ppm). Selanjutnya tambahkan methanol 4,0 ml dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Larutan ini diinkubasi pada 37°C selama 30 menit. Selanjutnya serapannya diukur pada panjang gelombang 517 nm. Persentase inhibisi dihitung

dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{Inhibisi} = \left[ 1 - \left( \frac{A \text{ Sampel}}{A \text{ Kontrol}} \right) \right] \times 100\%$$

Sedangkan nilai  $IC_{50}$  ditentukan dari persamaan garis kuadrat,  $y = a + bx$ , yang terbentuk dari data persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi. Dalam persamaan tersebut, nilai  $x$  adalah konsentrasi zat yang diukur, sedangkan nilai  $y$  merupakan serapan yang terukur dari sampel yang sedang diuji.

#### ***Penentuan Kekuatan reduksi***

Larutan ekstrak sebanyak 2,5 ml ditambahkan 2,5 ml larutan kalium heksasianoferat 1% b/v, dan dihomogenkan. Larutan kemudian diinkubasi pada temperatur 50°C selama 20 menit. Selanjutnya, larutan ini ditambahkan 5,0 ml TCA 10% b/v dan 1,0 ml  $FeCl_3$  1% b/v. Kemudian dilakukan pengukuran secara spektrofotometri pada panjang gelombang 700 nm. Sebagai pembanding, digunakan BHT.

#### ***Pengukuran Kandungan Fenol Total***

Pengukuran kandungan fenol total pada ekstrak dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin-Ciocalteu mengikuti prosedur Das et al. (2012) dengan sedikit modifikasi. Standar yang digunakan adalah asam galat.

Dibuat 100 ppm larutan ekstrak. Larutan ekstrak tersebut diambil 1,0 ml dengan menggunakan pipet volume dan kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml. Kedalam labu ukur 10,0 ml tersebut ditambahkan 500  $\mu$ l pereaksi Folin-Ciocalteu, lalu dikocok hingga homogen selama 1 menit. Sebelum menit kedelapan, ditambahkan 4,0 ml  $Na_2CO_3$  7,5% b/v, dikocok selama 1 menit dan ditambahkan aquades dan dikocok hingga homogen. Selanjutnya dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum dan waktu optimum untuk pengukuran asam galat. Hasil pengukuran ini dinyatakan sebagai berat setara dengan asam galat tiap berat ekstrak.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### ***Stabilisasi Simplisia***

Dedak diketahui kaya akan senyawa fenol. Senyawa ini telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Selain itu juga mengandung lemak. Senyawa ini akan mengalami degradasi karena pengaruh enzim lipase yang terdapat dalam dedak. Hasil hidrolisis berupa asam lemak bebas dan gliserol. Senyawa ini mudah teroksidasi. Dengan demikian perlu stabilisasi agar tak terjadi proses oksidasi selama proses penyediaan ekstrak.

Selanjutnya, simplisia distabilisasi. Tujuan dari stabilisasi ini adalah untuk menginaktivasi enzim lipase yang ada pada simplisia yang

dapat mengubah lipid menjadi asam lemak bebas, sehingga akan menyebabkan ketengikan pada ekstrak dan dapat mengganggu pengukuran.

### **Ekstraksi Simplisia**

Metode ekstraksi terpilih adalah maserasi dengan methanol didasarkan pada stabilitas dan kelarutan senyawa polifenol yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan. Metnaol adalah pelarut yang terbaik dalam menyari senyawa kimia dalam dedak padi (Lai *et al.* 2009).

Padi, dikenal mengandung berbagai macam nutrisi penting yang bermanfaat untuk tubuh manusia. Diantaranya adalah karbohidrat, serat, mineral, asam amino, vitamin B, vitamin E,  $\gamma$ -oryzanol, dan zat-zat lainnya. Vitamin E dan  $\gamma$ -oryzanol dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Slavin, 2004). Akan tetapi, masih sedikit penelitian yang dilakukan yang berhubungan dengan aktivitas antioksidan dari padi. Berdasarkan hal tersebut, akan dilakukan penelitian mengenai kandungan senyawa, khususnya senyawa fenol total dan aktivitas antioksidan pada dedak padi dari beberapa varietas padi yang ditanam di Indonesia

### **Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH**

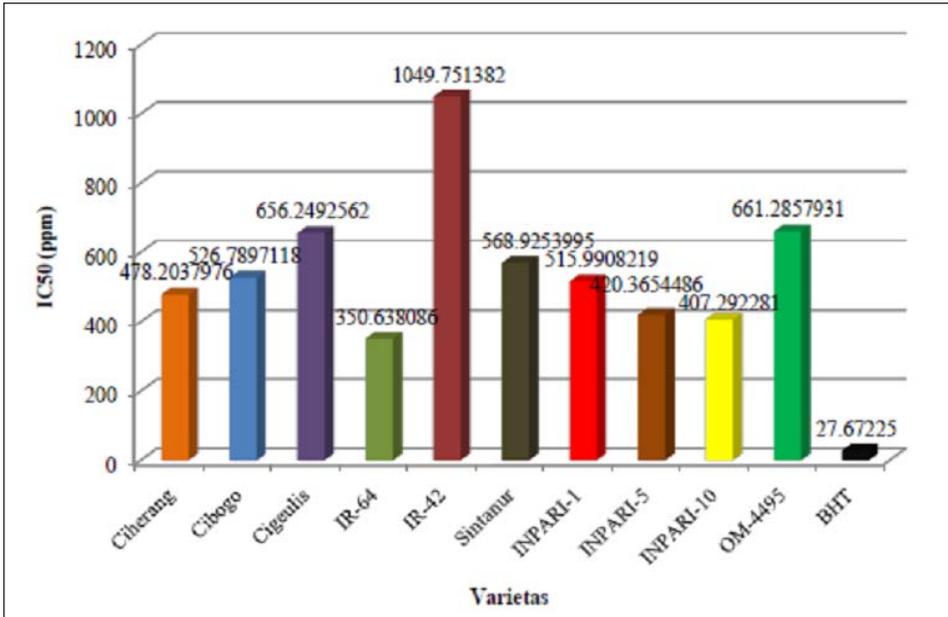
Radikal DPPH banyak digunakan sebagai model radikal untuk pengujian antioksidan. Senyawa fenol yang ada dalam tumbuhan dapat menangkap radikal. Mekanisme dari senyawa fenol dalam meredam radikal DPPH adalah melalui donasi proton. Dalam bentuk radikal DPPH berwarna ungu, warna ini akan menjadi kuning muda setelah menerima proton. Dengan demikian prinsip pengukuran aktivitas melalui penurunan absorbansi pada panjang 515 nm (Mun'im *et al.* 2003).

Pada penelitian ini seperti terlihat pada Gambar 1. aktivitas penangkapan radikal tertinggi diperlihatkan oleh ekstrak methanol dari dedak varietas IR-64, dengan  $IC_{50}$  350,64 ppm. Jika dibandingkan dengan standar BHT aktivitas ini masih jauh lebih rendah. Nilai  $IC_{50}$  dari BHT adalah 27,67 ppm.

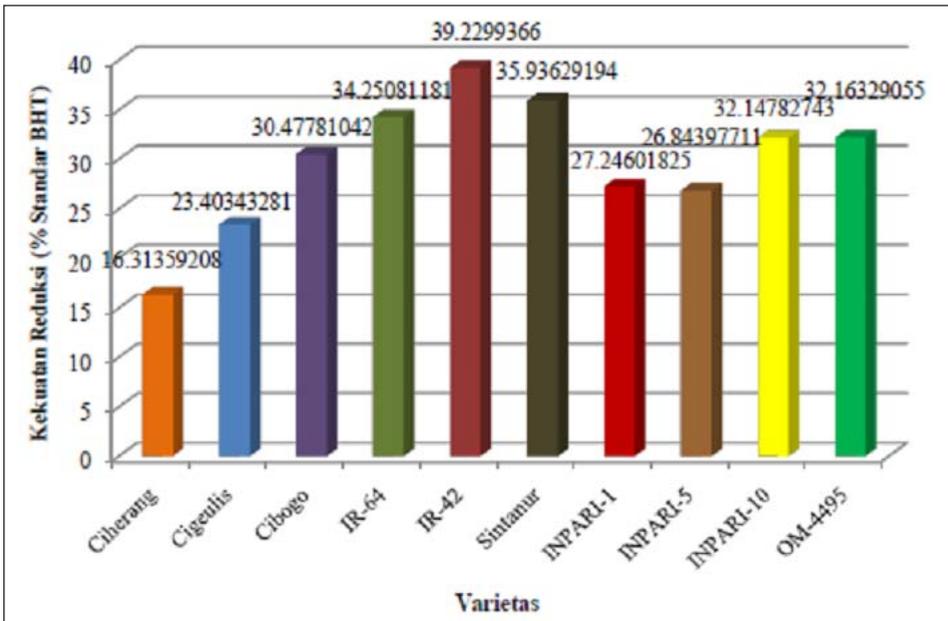
**Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Penentuan Kekuatan Reduksi**

### **Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Penentuan Kekuatan Reduksi**

Uji aktivitas antioksidan dengan metode kekuatan reduksi dilakukan dengan mengukur serapan larutan uji pada panjang gelombang 700 nm setelah sebelumnya larutan uji ditambahkan  $K_3[Fe(CN)_6]$  dan  $FeCl_3$ . Adapun penambahan TCA setelah inkubasi dilakukan untuk mengakhiri proses reaksi dengan mengubah kondisi pH larutan (Lue *et al.* 2010). Hasil yang didapat kemudian dibandingkan dengan standar BHT dan dinyatakan dalam persentase kekuatan reduksi standar BHT. Dari hasil pengukuran diketahui bahwa ekstrak sampel yang memiliki kekuatan reduksi paling besar adalah ekstrak sampel dedak padi varietas



**Gambar 1.** Nilai IC<sub>50</sub> ekstrak sampel dengan metode peredaman radikal DPPH.



**Gambar 2.** Grafik kekuatan reduksi ekstrak sampel dengan metode kekuatan reduksi.

IR-42 yang memiliki kekuatan reduksi 39,23% dari kekuatan reduksi standar BHT (Gambar 2).

Berkebalikan dengan Metode Peredaman DPPH, pada metode penentuan kekuatan reduksi, semakin besar nilai serapan yang dihasilkan menunjukkan semakin baik kekuatan reduksi sampel. Hal tersebut karena hasil reaksi antara  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  yang tereduksi menjadi  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  dengan  $\text{Fe}^{3+}$  adalah kompleks senyawa yang berwarna biru, yang lebih dikenal dengan nama kompleks *Prussian Blue*, yang akan meningkatkan nilai serapan larutan uji yang semula berwarna kuning.

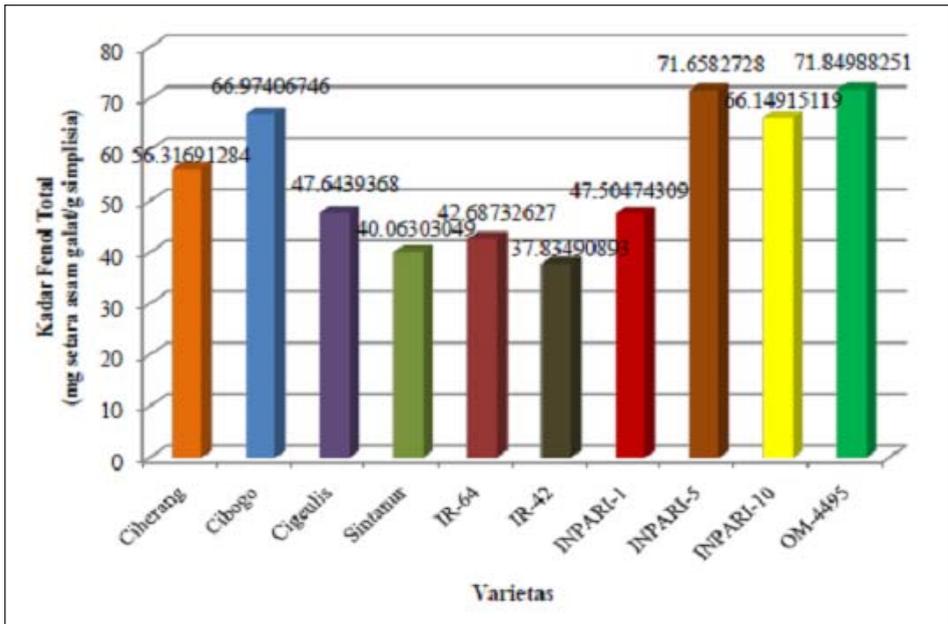
Dalam uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode. Penentuan Kekuatan Reduksi, hasil yang didapat sedikit berbeda dengan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode Peredaman Radikal DPPH. Hal tersebut diduga disebabkan oleh beberapa faktor. Diantaranya adalah adanya perbedaan kandungan senyawa-senyawa pada masing-masing sampel. Salah satu senyawa yang diduga berperan penting adalah asam fitat. Asam fitat diketahui memiliki kemampuan untuk mengikat logam, terutama logam dalam bentuk kation polivalen, termasuk  $\text{Fe}^{3+}$ . Ikatan yang terbentuk adalah ikatan khelat (Graf, 1983). Dalam penentuan kekuatan reduksi,  $\text{Fe}^{3+}$  yang seharusnya berikatan dengan  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  yang merupakan hasil reduksi dari  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ , akan terganggu oleh adanya asam fitat yang juga akan berikatan dengan  $\text{Fe}^{3+}$ .

Pada metode DPPH mekanisme aksi melalui donasi proton dari senyawa polifenol ke radikal DPPH (Mun'im *et al.* 2003), sedangkan pada metode kekuatan reduksi melalui rekasi okdiasi-reduksi.

### ***Pengukuran Kadar Fenol Total***

Pada diketahui banyak mengandung fenol dan flavonoid. Senyawa fenol yang banyak dikandung pada beras adalah orizanol dan turunannya, serta tokotrienol. Pada dedak pada Thailand dilaporkan kadar orizanol tertinggi adalah 0,56- 1,08 mg/g dedak, tokotrienol 0,22 - 0,46 mg/g dedak, sedangkan flavonoid ditemukan berkisar 0,03 -1,10 mg/g dedak (Chotimarkorn *et al.* 2008). Senyawa asam fenolat yang banyak dikandung adalah asam ferulat, diikuti dengan asam sinapat pada beras liar. Senyawa lain yang ditemukan adalah monomer dar asam *p*-koumarat, vanilat, siringat dan *p*-hidroksibenzoat (Qiu *et al.* 2010).

Pada penelitian ini diperoleh kadar total fenol dilakukan dengan pereaksi Folin-Ciocalteu standar asam galat. Meskipun mekanisme pasti tentang reaksi yang terjadi pada Pereaksi Folin-Ciocalteu belum diketahui, tetapi pada dasarnya adalah reduksi senyawa fosfomolybdotungstat menjadi heteropolimolybdenum yang berwarna biru (Walker, 2002). Dari hasil pengujian, diketahui bahwa varietas dedak padi yang memiliki kandungan fenol terbanyak yang dinyatakan setara dengan asam galat adalah pada



**Gambar 3.** Kadar total fenol ekstrak dengan metode Folin-Ciocalteu.

dedak dari padi varietas OM-4495 dengan kandungan fenol total sebanyak 71,85 mg setara asam galat tiap gram simplisia, lihat Gambar 3.

## KESIMPULAN

Aktivitas antioksidan tertinggi dengan metode DPPH diperlihatkan oleh ekstrak methanol dedak dari varietas IR-64 dengan  $IC_{50}$  350,64 ppm. Sedangkan dengan uji kekuatan reduksi, dedak padi varietas IR-42 memberikan hasil terbaik dengan nilai kekuatan reduksi sebesar 39,33% dibandingkan dengan standar BHT. Kadar tertinggi ditemukan pada dedak padi varietas OM-4495, dengan kadar 71,84 mg setara asam galat tiap gram simplisia.

## DAFTAR ACUAN

- Amirkhizi F, Siassi, F, Djalali M, and Foroushani AR. 2010. Evaluation of Oxidative Stress and Total Antioxidant Capacity in Women with General and Abdominal Adiposity. *Obes Res Clin Pract*, 4(3): e209-216.
- Beltowski J., Wójcicka G., Górny D., Marciniak A. 2000. The Effect of Dietary-Induced Obesity on Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzymes, and Total Plasma Antioxidant Capacity. *J Physiol Pharmacol*, 883-896.
- Chotimarkorn C, Benjakul S, and Silalai N. 2008. Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts

- from commercial available cultivars in Thailand. *Food Chem*, **111**(3): 636-641.
- Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas I, Papanemetriou L, Economou M, and Stefanadis, C. 2007. The Implication of Obesity on Total Antioxidant Capacity Inapparently Healthy Men and Women: The ATTICA Study. *Nutr Metab Cardiovas Dis*, **17**: 590-517.
- Das AK, Rajkumar V, Verma AK, and Swarup D. 2012. *Moringa oleifera* leaves extract: a natural antioxidant for retarding lipid peroxidation in cooked goat meat patties. *Inter J Food Sci Technol*, **47**: 585-591.
- Food and Agriculture Organization of United Nation. (n.d.) 21 April 2010. [http://www.fao.org/es/esc/en/20953/21026/21631/highlight\\_23001en.html](http://www.fao.org/es/esc/en/20953/21026/21631/highlight_23001en.html)>.
- Formiguera X, and Canton A. 2004. Obesity: Epidemiology and Clinical Aspects. *Best Pract Res Clin Gastroent*, **18**(6): 1125-1146.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M and Shimomura I. 2004. Increased Oxidative Stress in Obesity and Its Impact on Metabolic Syndrome. *J Clin Invest*, 1752-1761.
- Graf, E. 1983. Calcium Binding to Phytic Acid. *J Agric Food Chem*, 851-855.
- Hadipernata M. 2007. Mengolah Dedak Menjadi Minyak (*Rice Bran Oil*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, **29**(7), 8-10.
- International Rice Research Institute. 2009. *Rice Science for better World*. Los Banos: International Rice Research Institute.
- Kementerian Pertanian Republik Indonesia. 2010. *Basis data Statistik Pertanian*. : 3 April 2010. [http://database.deptan.go.id/bdsp/hasil\\_kom.asp](http://database.deptan.go.id/bdsp/hasil_kom.asp)
- Lai P, Yuon LK, Shin L, and Han CH. 2009. Phytochemicals and Antioxidant Properties of Solvent Extracts from Japonica Rice Bran. *Food Chem*, **117** (3): 538-544.
- Lue B-M, Nielsen NS, Jacobsen CH, Hellgren L, Guo Z, and Xu X. 2010. Antioxidant Properties of Modified Rutin Esters by DPPH, Reducing Power, Iron Chelation and Human Low Density Lipoprotein Assays. *Food Chem*, **123**: 221-230.
- Molyneux P. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J Sci Tech*, 211-219.
- Mun'im A, Negishi O, and Ozawa T. 2003. Antioxidative compounds from *Crotalaria sessiliflora*. *Biosci Biotechnol Biochem*, **67**(2): 410-414.
- Qiu Y, Liu Q, and Beta T. 2010. Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids. *Food Chem*, **121**(1): 140-147.

- Slavin J. 2004. Beyond Fiber: Whole Grains and Health. in M. S. Meskin, *et al.*, *Phytochemicals : Nutrient-Gene Interaction*. Boca Raton: CRC Press.
- Walker J. 2002. *The Protein Protocols Handbook*. Totowa: Humana Press Inc.