

PERUBAHAN KADAR SENYAWA BIOAKTIF DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BERAS ORGANIK HITAM VARIETAS *Jawa* DENGAN PENGEMAS POLIPROPILEN SELAMA ENAM BULAN PENYIMPANAN

(The change of bioactive content and antioxidant activities in java varieties organic black rice with polypropylene packaging during six months storage)

Gabriella Kohartono^{a*}, Anita Maya Sutedja^a, Paini Sri Widawati^a

^a Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Indonesia

* Penulis korespondensi
Email: gabykohartono@gmail.com

ABSTRACT

The importance of health awareness has increased so the consumption of organic products has increased. Java varieties black organic rice is one of the local organic rice grown in Indonesia. Pigmented rice contains bioactive compounds that can act as antioxidants. Rice needs to be packaged to minimize damage and facilitate the storage using polypropylene (PP) packaging. The results showed an increase in the yield, bioactive compounds, and antioxidant activities during storage. The highest yield of black rice ($12.08 \pm 0.03\%$ dry basis) was at the 4th month. Total phenol of black rice (10.55 ± 0.29 mg Gallic Acid Equivalent/g dry basis) and total anthocyanins (0.04 ± 0.00 mg Cyanidin-3-Glucoside Equivalent/g dry basis) was the highest at 3rd month, total flavonoids (2.10 ± 0.11 mg Catechin Equivalent/g dry basis) at 6th month, the free radical DPPH scavenging (1.53 ± 0.03 mg GAE/g dry basis) activity at 3rd month, and the iron reducing power (31.31 ± 2.05 mg GAE/g dry basis) at 4th month.

Keywords: *organic black rice, bioactive compounds, antioxidant activities, storage time*

ABSTRAK

Kesadaran masyarakat akan pentingnya kesehatan yang semakin meningkat mendorong bertambahnya konsumsi produk organik. Beras organik hitam varietas Jawa merupakan salah satu jenis beras organik lokal yang dibudidayakan di Indonesia. Beras berpigmen mengandung senyawa bioaktif yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Beras perlu dikemas untuk meminimalkan kerusakan serta mempermudah proses penyimpanan antara lain menggunakan plastik *polipropilen* (PP). Hasil menunjukkan terjadi peningkatan hasil ekstraksi, senyawa bioaktif, dan aktivitas antioksidan selama penyimpanan. Hasil ekstraksi beras hitam ($12,08 \pm 0,03\%$ basis kering) tertinggi pada bulan ke-4. Total fenol beras hitam ($10,55 \pm 0,29$ mg ekuivalen asam galat/g basis kering) dan total antosianin ($0,04 \pm 0,00$ mg ekuivalen sianidin-3-glukosida/g basis kering) tertinggi pada bulan ke-3, total flavonoid ($2,10 \pm 0,11$ mg ekuivalen katekin/g basis kering) pada bulan ke-6, kemampuan menangkap radikal bebas DPPH pada bulan ke-3 ($1,53 \pm 0,03$ mg EAG/g basis kering), dan kemampuan mereduksi ion besi ($31,31 \pm 2,05$ mg EAG/g basis kering) pada bulan ke-4.

Kata kunci: beras organik hitam, senyawa bioaktif, aktivitas antioksidan, lama penyimpanan

PENDAHULUAN

Dewasa ini kesadaran masyarakat akan pentingnya kesehatan semakin meningkat sehingga konsumsi produk

organik semakin meningkat. Salah satu jenis produk organik adalah beras organik. Ada berbagai macam beras organik antara lain beras putih, beras merah, dan beras hitam. Beras organik yang banyak

dibudidayakan di Indonesia merupakan varietas lokal, salah satunya adalah beras organik hitam varietas Jawa. Beras organik hitam masih kurang dimanfaatkan oleh masyarakat, padahal beras berpigmen mengandung antioksidan yang bermanfaat bagi kesehatan karena memiliki kandungan antosianin (Sutharut dan Sudarat, 2012). Menurut Vichapong *et al.* (2010) kandungan senyawa fenolik, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan pada beras berpigmen lebih banyak dibandingkan beras yang tidak berpigmen sehingga beras hitam dapat berfungsi sebagai antioksidan.

Beras perlu dikemas untuk meminimalkan kerusakan serta mempermudah proses penyimpanan dan distribusi. Kemasan yang banyak digunakan merupakan kemasan plastik seperti kemasan polipropilen (PP). Beras dalam kemasan yang dibeli umumnya tidak langsung habis dikonsumsi, sehingga dilakukan proses penyimpanan. Menurut *USA Rice Federation* (2013) beras berwarna memiliki umur simpan berkisar enam bulan. Selama penyimpanan dapat terjadi perubahan pada beras hitam karena adanya faktor-faktor seperti suhu, cahaya, kelembapan, dan oksigen yang dapat mempengaruhi senyawa bioaktif pada beras hitam. Menurut Htwe *et al.* (2010) selama penyimpanan terjadi degradasi antosianin dan perubahan kadar senyawa fenolik. Adanya senyawa bioaktif yang labil tersebut mendasari dilakukannya penelitian mengenai pengaruh lama penyimpanan terhadap perubahan senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan beras organik hitam varietas Jawa.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan baku yang digunakan adalah beras organik hitam varietas Jawa yang diperoleh dari PT. Grahatma Semesta Jl. Dr. Wahidin No. 88, Wadas, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. Bahan pengemas yang digunakan adalah plastik polipropilen (PP) ketebalan 0,8 mm merek "Bella". Bahan analisa yang digunakan

meliputi asam galat (Riedel-deHaen), katekin (Sigma), Vitamin E (Sigma), DPPH (*diphenil-1-picrylhydrazyl*) (Sigma), metanol 96%, metanol 95% (JT. Breaker), *Folin-Ciocalteus* (Merck), Na_2CO_3 (Riedel-deHaen), NaNO_2 (Merck), AlCl_3 (Schuchardt OHG), NaOH (Merck), HCl (Merck), CH_3COOK (Merck), Asam asetat glasial (Merck), NaH_2PO_4 (Merck), Na_2HPO_4 (Merck), K_3FeCN_6 (Merck), TCA (Riedel-deHaen), FeCl_3 (Merck), alkohol 70% (PT. Mitra Megah Mandiri), akuades (UD. Surabaya Aqua Industri), dan akuabides (Lab. Analisa Pangan, FTP, UKWMS).

Hasil Ekstraksi (*Yield*)

Ekstraksi sampel dilakukan berdasarkan metode Chakuton *et al.* (2012) dengan modifikasi. Ekstrak pekat yang dihasilkan dihitung menggunakan perbandingan berat ekstrak dengan berat sampel kering dikali dengan 100%.

Total Fenol

Total fenol dianalisa berdasarkan metode Muntana dan Prasong (2010) dengan modifikasi. Absorbansi diukur pada panjang gelombang λ 760 nm. Total fenol dinyatakan dengan mg ekuivalen asam galat/gram sampel basis kering.

Total Flavonoid

Total flavonoid dianalisa berdasarkan metode Kassim *et al.* (2011) dengan modifikasi. Pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 510 nm. Total flavonoid dinyatakan dengan mg ekuivalen (+)-katekin/gram sampel basis kering.

Total Antosianin

Total antosianin dianalisa berdasarkan metode pH differensial menurut Lee *et al.* (2005). Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 530 nm dan 700 nm setelah inkubasi 15 menit. Total antosianin dinyatakan dalam mg ekuivalen sianidin-3-glukosida/g sampel basis kering.

Kemampuan Menangkap Radikal Bebas DPPH

Kemampuan menangkap radikal bebas DPPH dianalisa berdasarkan metode

Sompong *et al.* (2011). Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm. Kemampuan menangkap radikal bebas DPPH dinyatakan dalam mg ekuivalen asam galat/g sampel basis kering.

Kemampuan Reduksi Ion Besi

Kemampuan mereduksi ion besi dianalisa berdasarkan metode Park *et al.* (2008). Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 700 nm. Kemampuan mereduksi ion besi dinyatakan dalam mg ekuivalen asam galat/g sampel basis kering.

Analisis Statistik

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan deskriptif. Faktor yang digunakan adalah lama penyimpanan dengan tujuh taraf (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 bulan) dan ada tidaknya proses penepungan dengan dua taraf (dengan dan tanpa penepungan). Parameter yang diuji meliputi kadar senyawa bioaktif (total fenol, total flavonoid, dan total antosianin) dan aktivitas antioksidan (kemampuan menangkap radikal bebas DPPH dan kemampuan mereduksi ion besi). Data akan dihitung rata-rata dan standar deviasinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Yield merupakan perbandingan berat ekstrak sampel dengan berat kering sampel. Semakin banyak *yield* yang diperoleh menunjukkan bahwa pelarut semakin efektif dalam melarutkan senyawa-senyawa tertentu pada bahan. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi sampel pada penelitian ini adalah metanol 99,8%. Menurut Chakuton *et al.* (2012) metanol merupakan pelarut yang paling efektif dalam proses ekstraksi karena menghasilkan *yield* paling tinggi dibandingkan dengan akuades, heksana, dan etanol. Tabel 1 menunjukkan *yield* beras organik hitam selama penyimpanan. *Yield* cenderung meningkat selama penyimpanan dengan hasil tertinggi pada bulan ke-4 ($12,08 \pm 0,03\%$ basis kering) kemudian

mengalami penurunan. Peningkatan *yield* diduga disebabkan adanya degradasi komponen-komponen penyusun beras organik menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga lebih mudah terekstrak dengan metanol dan menyebabkan peningkatan hasil ekstraksi. Penurunan *yield* yang terjadi disebabkan senyawa kompleks yang terdegradasi telah banyak digunakan untuk proses metabolisme pada beras sehingga jumlah senyawa yang terekstrak menjadi lebih sedikit.

Pengujian total fenol dilakukan dengan metode Folin Ciocalteu yang menggunakan prinsip reaksi reduksi dan oksidasi senyawa fenolik dengan senyawa molibdat pada reagen Folin Ciocalteu. Hasil kadar total fenol ditunjukkan pada Tabel 1. Kadar total fenol beras organik hitam mengalami peningkatan hingga bulan ke-3 ($10,55 \pm 0,29$ mg EAG/g basis kering) kemudian mengalami penurunan. Widyawati *et al.* (2010) menyatakan bahwa pengujian fenolik total sangat tergantung pada struktur kimianya. Senyawa fenolik yang mempunyai gugus fungsi hidroksil dalam jumlah banyak atau dalam kondisi bebas (aglikon) akan menghasilkan kadar fenolik total yang tinggi. Jumlah senyawa fenolik dalam bentuk bebas akan semakin meningkat selama penyimpanan, sebagai akibat dari reaksi enzimatik dan hidrolitik yang dapat memotong rantai tersebut (Walter dan Marchesan, 2011). Penurunan total fenol pada bulan ke-4 dapat disebabkan senyawa fenol yang terukur sebagai asam galat telah mengalami perubahan struktur atau degradasi sehingga tidak dapat terukur.

Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa polifenol yang terdiri dari ribuan senyawa, antara lain golongan flavonol, flavon, katekin, flavanon, antosianidin, dan isoflavonoid. Tabel 1 menunjukkan bahwa total flavonoid beras hitam cenderung meningkat dengan total flavonoid pada bulan ke-0 menunjukkan hasil terendah ($0,60 \pm 0,18$ mg EK/g basis kering) dan bulan ke-6 menunjukkan hasil tertinggi ($2,10 \pm 0,11$ mg EK/g basis kering). Hal ini

menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka semakin banyak senyawa flavonoid yang mengalami pemutusan ikatan glikosida dan menjadi bentuk bebas sehingga kadar total flavonoid semakin meningkat seiring bertambahnya waktu penyimpanan. Menurut Harborne (1996) penguraian flavonoid dalam bentuk glikosida (flavonoid yang masih berikatan dengan gugus gula) menjadi flavonoid dalam bentuk aglikon (flavonoid tunggal) akan meningkatkan kadar total flavonoid. Efisiensi antioksidan flavonoid akan meningkat dengan menurunnya keberadaan gugus gula pada flavonoid. Semakin banyak gugus gula yang terurai maka pengukuran total flavonoid akan meningkat.

Antosianin merupakan antosianidin yang berikatan dengan karbohidrat dan berada dalam bentuk glikosida, dan merupakan bagian dari flavonoid. Penentuan total antosianin dengan metode pH *differential* merupakan pengujian untuk menentukan total monomer antosianin yang dideteksi sebagai sianidin-3-glukosida. Tabel 1 menunjukkan kadar total antosianin beras hitam yang cenderung meningkat selama penyimpanan dengan kadar tertinggi pada bulan ke-3 ($0,04 \pm 0,00$ mg ES3G/g basis kering) dan kadar terendah pada bulan ke-1 ($0,02 \pm 0,00$ mg ES3G/g basis kering). Kenaikan kadar total antosianin dapat disebabkan terputusnya ikatan glikosida menjadi bentuk aglikon yang menyebabkan peningkatan kadar total antosianin dalam bahan karena antosianin dengan gugus aglikon lebih aktif daripada bentuk glikosida (Santoso, 2006).

Kemampuan menangkap radikal bebas DPPH merupakan salah satu metode untuk mengetahui aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan akan mendonorkan atom hidrogen kepada radikal DPPH menjadi senyawa non radikal difenilpicrilhidrazin (DPPHH) yang akan ditunjukkan oleh perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Molyneux, 2004). Tabel 1 menunjukkan kemampuan menangkap radikal bebas DPPH beras hitam cenderung meningkat selama penyimpanan mengalami peningkatan kemampuan menangkap radikal bebas DPPH, dengan aktivitas terendah pada bulan ke-4 ($0,85 \pm 0,13$ mg EAG/g basis kering) dan aktivitas tertinggi pada bulan ke-3 ($1,53 \pm 0,03$ mg EAG/g basis kering). Senyawa yang terdapat pada beras organik hitam mampu mendonorkan atom hidrogen pada radikal bebas DPPH dan mengubahnya menjadi radikal yang lebih stabil.

Kemampuan mereduksi ion besi merupakan salah satu pengujian aktivitas antioksidan beras organik hitam varietas Jawa yang didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan mereduksi ion besi dan membentuk kompleks. Tabel 1 menunjukkan kemampuan reduksi ion besi beras hitam meningkat selama penyimpanan dengan aktivitas tertinggi pada bulan ke-4 ($31,31 \pm 2,05$ mg EAG/g basis kering) kemudian menurun di bulan ke-5.

Tabel 1. *Yield* dan Kadar Senyawa Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Beras Organik Hitam Varietas Jawa

Lama Simpan (bulan)	Yield (%basis kering)	Total Fenol (mg EAG/g basis kering)	Total Flavonoid (mg EK/g basis kering)	Total Antosianin (mg ES3G/g basis kering)	Kemampuan Menangkap Radikal Bebas DPPH (mg EAG/g basis kering)	Kemampuan Mereduksi Ion Besi (mg EAG/g basis kering)
0	11,24±0,02	6,48±0,03	0,60±0,18	0,03±0,00	0,92±0,03	14,86±0,62
1	10,92±0,14	6,04±0,45	0,87±0,05	0,02±0,00	0,99±0,08	8,24±0,84
2	10,97±0,07	7,70±0,07	1,09±0,04	0,03±0,00	0,97±0,03	14,46±1,20
3	11,38±0,10	10,55±0,29	1,91±0,09	0,04±0,00	1,53±0,03	20,27±0,06
4	12,08±0,03	9,89±0,00	1,93±0,06	0,03±0,00	0,85±0,13	31,31±2,05
5	11,23±0,15	10,36±1,10	1,94±0,21	0,04±0,00	1,20±0,36	31,14±2,58
6	11,54±0,06	9,32±0,03	2,10±0,11	0,03±0,00	1,53±0,18	25,52±1,01

Keterangan: Nilai: mean ± SD

KESIMPULAN

Lama penyimpanan menyebabkan peningkatan hasil ekstraksi, kadar senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan beras hitam. *Yield* beras hitam tertinggi terdapat pada bulan ke-4 ($12,08 \pm 0,03\%$ basis kering), namun pada bulan selanjutnya mengalami penurunan. Kadar total fenol ($10,55 \pm 0,29$ mg EAG/g basis kering) dan total antosianin ($0,04 \pm 0,00$ mg ES3G/g basis kering) beras hitam tertinggi terdapat pada bulan ke-3 dan menurun pada bulan ke-4 sedangkan total flavonoid tertinggi pada bulan ke-6 ($2,10 \pm 0,11$ mg EK/g basis kering). Kemampuan menangkap radikal bebas DPPH beras hitam ($1,53 \pm 0,03$ mg EAG/g basis kering) tertinggi pada bulan ke-3 dan kemampuan mereduksi ion besi ($31,31 \pm 2,05$ mg EAG/g basis kering) pada bulan ke-4, namun pada bulan selanjutnya mengalami penurunan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Kementerian Riset dan Teknologi (Kemristek) atas dana penelitian yang diberikan melalui Proyek Insentif Riset Sinas tahun 2013 dan PT. Grahatma Semesta atas bantuan dalam penyediaan beras organik hitam varietas Jawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Chakuton, K., D. Puangpropintag, and M. Nakornriab. 2012. Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Colored and Non-colored Thai Rice Cultivars. *Asian Journal of Plant Sciences* 1: 285-293.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB. <http://www.lib.uin-malang.ac.id/files/thesis/fullchapter/04530008.pdf> (25 September 2013).
- Htwe, N., V. Srilaong, K. Tanprasert, S. Photchanachai, S. Kanlayanarat, and A. Uthairatanakij. 2010. Low Oxygen Concentrations Affecting Antioxidant Activity and Bioactive Compound in Colored Rice. *Asian Journal of Food Agro Industry* 3(2): 269-281.
- Kassim, M.J., M.H. Hussin, A. Achmad, N.H. Dahon, T.K. Suan, and H.S. Hamdan. 2011. Determination of Total Phenol, Condensed Tannin, and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Uncaria Gambir Extracts. *Jurnal Majalah Farmasi Indonesia* 22:50-59.
- Lee, J., R.W. Durst, and R.E. Wrolstad. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of Association of Official Analytical Chemists International* 88(5).
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology* 26(2): 211-219.
- Muntana, N. and S. Prasong. 2010. Study on Total Phenolic Contents and Their Antioxidant Activities of Thai White, Red, and Black Rice Bran Extracts. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 13(4):170-174.
- Park, Y.S., S.J. Kim, and H.I. Chang. 2008. Isolation of Anthocyanins from Black Rice (*Heugjinjubyeo*) and Screening of Its Antioxidant Activities. *Journal of Microbial Biotechnology* 36(1):55-60.
- Santoso, U. 2006. *Antioxidant*. Yogyakarta: Sekolah Pasca Sarjana UGM.
- Sompong, R., S. Siebenhandl-Ehn, G. Linsberger-Martin, and E. Berghofer. 2011. Physicochemical and Antioxidative Properties of Red and Black Rice Varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chemistry* 124:132-140.
- Sutharut, J. and J. Sudarat. 2012. Total Anthocyanin Content and Antioxidant Activity of Germinated Colored Rice. *International Food Research Journal* 19(1): 215-221.

- USA Rice Federation. 2013. <http://www.usarice.com/doclib/157/3366.pdf> (10 September 2013).
- Vichapong, J., M. Sookserm, V. Srijesdaruk, P. Swatsitang, and S. Srijaranai. 2010. High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activities in Rice Varieties. *Journal of Food Science and Technology* 43: 1325-1330.
- Walter, M. and E. Marchesan. 2011. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Rice. *Journal of Brazilian Archives of Biology and Technology* 54 (1): 371-377.
- Widyawati, P.S., C.H. Wijaya, P.S. Harjosworo, dan D. Sajuthi. 2010. Pengaruh Ekstraksi dan Fraksinasi terhadap Kemampuan Menangkap Radikal Bebas DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) Ekstrak dan Fraksi Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*). Seminar Rekayasa Kimia dan Proses ISSN: 1411-4216.