

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

1. Deskripsi Metode Pendekatan Review Artikel

Review artikel merupakan suatu teknik untuk mengukur suatu hasil penelitian. *Review* artikel untuk menganalisis ulang penelitian yang berdasarkan pada pengolahan statistik dari hasil kumpulan data utama. *Review* artikel dilakukan dengan cara mengambil kesimpulan analisis yaitu menggabungkan dua atau lebih penelitian sejenis dari beberapa artikel untuk mendapatkan panduan data sebagai hasilnya. Adapun proses yang dilakukan yaitu:

- a. Mencari artikel yang berhubungan dengan penelitian yang dilakukan
- b. Melakukan perbandingan hasil data dari artikel-artikel sebelumnya
- c. Menyimpulkan hasil dan pembahasan dari perbandingan artikel terkait dengan penelitian yang dilakukan

Data yang digunakan untuk mencari literatur adalah melalui pemilihan berdasarkan adanya aktivitas antioksidan pada beras ketan hitam. Artikel di cari yang terindeks Sinta Ristekdikti dan terindeks *Scimago Journal Rank*.

- a. Kriteria Inklusi
 - Artikel penelitian terbitan 2010-2021
 - Penelitian dengan beras ketan hitam
- b. Kriteria Ekslusi
 - Artikel penelitian yang tidak bisa diakses dengan lengkap
 - Artikel yang tidak terindeks Sinta Ristekdikti dan terindeks *Scimago Journal Rank*

2. Informasi Jumlah Dan Jenis Artikel

Jumlah jurnal yang digunakan dalam *review* artikel ini terdiri dari 5 jurnal, terdiri dari 2 jurnal nasional dan 3 jurnal internasional. Jenis jurnal yang digunakan untuk *review* jurnal ini yaitu *original research*. Jurnal yang digunakan untuk jurnal nasional telah terindeks Sinta Ristekdikti sedangkan untuk jurnal internasional telah terindeks *Scimago Journal Rank*. Keterangan identitas setiap jurnal dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3. 1. Informasi dan Jenis Jurnal

Artikel	Penulis dan Tahun	Jurnal	H-Index	Impact factor	Quartil	SJR	SINTA score	ISSN
1	Nanik Suhartatik, Merkuria Karyanti, Akhmad Mustofa, Muhammad Nur Cahyanto, Sri Raharjo, Endang Sutriswati Rahayu (2013)	AGRITECH	32	1,57	-	-	S2	2527385
2	Nanik Suhartatik, Muhammad Nur Cahyanto, Sri Raharjo, Endang S.Rahayu (2013)	Jurnal Teknologi dan Industri Pangan	26	0,8	-	-	S2	19797788
3	Trinovani, Elvi, Afifah Riska Rafa, Fauziah, Roro Nur (2020)	Int Med Journal	17	-	Q4	0,183	-	13412051
4	Trinovani, Elvi, Rahayu, Septiyani, Fauziah, Roro Nur (2020)	Int Med Journal	17	-	Q4	0,183	-	13412051
5	Kanitha Tananuwong, Wanida Tewaruth (2010)	LWT	113	-	Q1	1,37	-	10961127

3. Isi Jurnal

1) Artikel Pertama

Judul jurnal : Stabilitas Ekstrak Antosianin Beras Ketan Hitam
(*Oryza sativa var.glutinosa*) Selama Proses
Pemanasan dan Penyimpanan

Nama jurnal : AGRITECH

Penerbit : Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas
Gadjah Mada

Volume & halaman: Volume 33 No.4 Halaman 384-390

Tahun terbit 2013

Penulis jurnal : Nanik Suhartatik, Merkuria Karyantina, Akhmad
Mustofa, Muhammad Nur Cahyanto, Sri Raharjo,
Endang Sutriswati Rahayu

Isi jurnal :

a. Tujuan jurnal

Untuk mempelajari stabilitas dan warna ekstrak antosianin dari beras ketan hitam (*Oryza sativa var.glutinosa*) selama proses pemanasan dan penyimpanan.

b. Metode penelitian : ekperimental

c. Sampel : beras ketan hitam

d. Instrumen :

Spektrofotometer (Shimadzu UV-1601), sentrifuge (Labofuge 200, Heraeus), evaporator vakum.

e. Metode analisis

Ekstrak antosianin beras ketan hitam dibuat dengan cara

merendam 250 g bubuk beras ketan hitam ke dalam 1000 mL metanol 70% asam (dilakukan dengan penambahan 1% HCl pekat) selama 1 jam. Setelah direndam selama 1 jam, ekstrak disaring dengan kertas saring kasar. Filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan (vakum) pada kecepatan 60 rpm selama 1,5 jam. Filtrat disimpan pada suhu -40°C sebelum digunakan.

Antosianin diuji stabilitasnya dalam berbagai proses pengolahan seperti pemanasan (lama pemanasan versus suhu), dan penyimpanan (paparan sinar matahari dan pH versus waktu penyimpanan). Suhu pemanasan yang diterapkan adalah 30, 40, 50, 60, 70 dan 80°C dengan waktu pemanasan 15, 30, 45 dan 60 menit diuji pada pH 4,5; 6; 7; 8. Simpan pada suhu kamar (terkena pengaruh siang dan malam serta paparan sinar matahari) dan pada suhu dingin dalam kondisi gelap selama 1, 3 dan 5 hari. Buffer fosfat digunakan untuk mengatur pH dan buffer fosfat digunakan untuk melarutkan ekstrak pada pH 7,0. Penyimpanan dingin dilakukan dengan menggunakan refrigerator (suhu 10-12 ° C).

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan mencampurkan 0,2 mL ekstrak dengan 3,8 mL larutan 1 mM DPPH (dalam metanol) dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar dan kondisi gelap. Setelah 15 menit inkubasi, hasil peneraan pada panjang gelombang 515 nm dibandingkan dengan blanko. Persen penangkapan radikal bebas dinyatakan sebagai persen penghambatan radikal bebas DPPH.

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode FRAP dengan mencampurkan 1 mL sampel dengan 0,05 mL 2 mM FeCl_2 , 0,2 mL 5 mM ferrosen, dan 2,75 mL akuades. Setelah homogen selama 10 detik dalam gelap, campuran ditera pada 562 nm. Kapasitas antioksidan dinyatakan sebagai persentase FRAP dengan akuades sebagai blanko dan EDTA sebagai kontrol positif.

f. Hasil penelitian

Uji stabilitas antosianin dilakukan pada berbagai suhu dan waktu pemanasan dengan data perubahan kandungan antosianin ekstrak beras ketan hitam dengan kandungan awal antosianin setara dengan 25 mg sianidin-3-glukosida per 100 ml. Setelah dipanaskan pada suhu 30°C selama 15 menit kandungan antosianinnya menurun menjadi 14,06, dan pada suhu di atas 30°C juga mengalami penurunan kadar antosianin. Penurunan kadar antosianin lebih dari 50% terjadi pada antosianin yang dipanaskan pada suhu $>70^\circ\text{C}$..

Menangkap radikal DPPH memberikan informasi bahwa pemanasan hingga 50°C menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan. Hasil yang sama terjadi bahkan jika waktu pemanasan ditingkatkan menjadi 30 menit. Pemanasan pada suhu di atas 60°C menyebabkan hilangnya kemampuan penangkapan radikal DPPH. Diukur berdasarkan kemampuan menangkap ion logam Fe (nilai FRAP), komponen bioaktif (diduga antosianin) dalam beras ketan hitam juga memiliki kemampuan menangkap ion radikal seperti ion Fe^{3+} . Pemanasan pada suhu 50°C selama 1 jam merusak

kemampuan antosianin untuk menangkap ion Fe^{3+} . Aktivitas antioksidan tidak terdeteksi pada sampel yang dipanaskan hingga 70°C. Hal yang sama terjadi pada ekstrak yang dipanaskan pada suhu 50°C selama 1 jam.

Setelah disimpan selama 5 hari pada suhu normal, terang dan gelap (siang hari dan diletakkan didekat jendela dengan merasakan pengaruh sinar matahari), kandungan antosianin ekstrak yang disimpan pada pH 6,0 cukup tinggi yaitu 10,74 mg/100 mL. Kandungan antosianin awal ekstrak adalah 25 mg antosianin/100 mL. Pada pH 7,0 yang disimpan pada suhu rendah (refrigeran), 12,19 mg/100 mL memberikan kandungan antosianin tertinggi di antara perlakuan. Penyimpanan pada pH 6,0 menghasilkan kadar antosianin masing-masing sebesar 8,92 dan 8,11 mg/100 mL untuk yang disimpan pada suhu dingin dan suhu kamar.

g. Kesimpulan

Semakin lama dan semakin tinggi suhu pemanasan, semakin tidak stabil kandungan antosianin pada ekstrak beras ketan hitam. Aktivitas antioksidan ekstrak antosianin beras ketan hitam akan menurun setelah 5 hari penyimpanan dan terkena paparan sinar matahari. Jika produk isotonik dirancang untuk disimpan pada suhu kamar, antosianin dalam beras ketan hitam akan lebih stabil jika disimpan pada pH 6,0. Ketika produk dapat disimpan pada suhu dingin dan diawetkan selama distribusi, penyimpanan atau pemrosesan lainnya, produk dapat disimpan pada pH 7,0.

2) Artikel kedua

Judul jurnal : Aktivitas Antioksidan Antosianin Beras Ketan Hitam Selama Fermentasi

Nama jurnal : Jurnal Teknologi dan Industri Pangan

Penerbit : Institut Pertanian Bogor

Volume & halaman : Volume 4 No.4 Halaman 115-119

Tahun terbit : 2013

Penulis jurnal : Nanik Suhartatik, Muhammad Nur Cahyanto, Sri Raharjo dan Endang S.Rahayu

Isi jurnal :

a. Tujuan jurnal

Untuk mempelajari peran bakteri asam laktat dalam mendegradasi antosianin beras ketan hitam selama fermentasi.

b. Metode penelitian : ekperimental

c. Sampel : beras ketan hitam dan *Lactobacillus plantarum* Mut 7

d. Instrumen :

Kertas saring, vakum, autoklaf (Hirayama, HL-Clave 25), sentrifuse (Labofuge 200, Heraus), Erlenmeyer (ukuran 100 mL, pyrex), spectrophotometer uv (Shimadzu UV-1601).

e. Metode analisis

Ekstrak antosianin dibuat dari beras ketan hitam dengan merendam 20 g bubuk beras ketan hitam dalam 400 mL metanol asam 70% (dibuat dengan menambahkan 1% HCl) selama 1 jam.

Setelah direndam selama 1 jam, ekstrak disaring dengan kertas saring kasar. Filtrat yang dihasilkan diuapkan (vakum) pada kecepatan 60 rpm selama 1,5 jam. Filtrat pekat kemudian diukur kandungan antosianinnya menggunakan metode dari Giusti dan Wrostedt (2001) dan dilakukan serangkaian pengenceran yang mengandung antosianin setara dengan 10 mM, 20 mM dan 30 mM antosianin.

Fermentasi dilakukan pada 37°C selama 6 jam dengan Erlenmeyer (volume 100 ml, pyrex) dan pemantauan kadar fenol, aktivitas antioksidan (DPPH dan FRAP), kadar antosianin dan jumlah sel pembentuk asam dipantau. Pemantauan parameter ini dilakukan pada 0, 30 menit, 1, 2, 4, 5 dan 6 jam..

Media yang digunakan dalam pengujian ini adalah medium MRS broth (deMann Rogosa Sharp) tanpa gula dan ekstrak ragi. Tiap liter medium yang digunakan mengandung: *Protease peptone* No. 3 sebanyak 1%; *Beef Extract* 1%; *Yeast Extract* 0,5%; *Polysorbate 80* 0,1%; *Ammonium Citrate* 0,2%; Na asetat 0,5%; Magnesium Sulfat 0,01%; Mn Sulfat 0,005%; dan Dipotassium phosphate 0,2%. Media disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit menggunakan autoklaf (Hirayama, HL-Clave 25).

Bakteri yang digunakan adalah bakteri asam laktat berumur 18 jam sebanyak 10⁹ sel diinokulasikan pada media fermentasi. Starter disiapkan dengan cara menginokulasikan 3-5 ose isolat dalam 5 mL media MRS broth dan diinkubasikan selama 18 jam. Kemudian masa sel dipanen dan dicuci dua kali dengan larutan

isotonik. Pemisahan sel dan massa sel dilakukan dengan cara sentrifuse (Labofuge 200, Heraeus) pada 3000 rpm selama 15 menit. Sebanyak 2,5 mL bakteri yang mengandung 109 sel/mL ditambahkan kedalam 22,5 mL substrat fermentasi.

Aktivitas antioksidan (DPPH) ditentukan dengan cara mencampurkan 0,2 ml sampel (media fermentasi) dengan 3,8 ML larutan DPPH 1mM (dalam metanol) dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar dan kondisi gelap. Pengujian dilakukan pada panjang gelombang 515 nm. Blanko dibuat dengan mengganti sampel dengan akuades dengan volume yang sama. Persen penangkapan radikal bebas dinyatakan sebagai persen penghambatan radikal bebas DPPH.

Analisis aktivitas antioksidan (nilai FRAP) berdasarkan kemampuan menangkap logam besi.. Analisis dilakukan dengan mencampurkan 1 mL sampel dengan 0,05 mL 2 mM FeCl₂, 0,2 mL 5 mM ferrozine, dan 2,75 mL aquades. Setelah divorteks dan diinkubasi dalam gelap selama 10 menit, campuran ditera pada λ 562 nm. Kapasitas antioksidan dinyatakan sebagai persentase FRAP dengan air suling kosong dan EDTA sebagai kontrol positif.

f. Hasil penelitian

Perubahan total fenol cairan fermentasi setelah diinkubasi selama 6 jam hasil analisis menunjukkan bahwa kadar fenol pada cairan fermentasi awal, akan memberikan hasil yang berbeda nyata untuk setiap perlakuan. Pada kadar antosianin 20 mM terjadi

peningkatan kadar fenol yang sangat tinggi yaitu mencapai 58 mg asam galat/100 mL dalam waktu 5 jam.

Aktivitas antioksidan (*radical /DPPH scavenging activity*, %) cairan hasil fermentasi menunjukkan bahwa tidak ada perubahan yang signifikan setelah antosianin mengalami fermentasi selama 6 jam. Hasil tertinggi dijumpai pada sampel cairan fermentasi pada kadar antosianin awal 30 mM dan setelah difermentasi selama 6 jam, yaitu 59,2%. Dari hasil pengujian, terlihat bahwa aktivitas antioksidan cairan fermentasi tidak banyak mengalami perubahan.

Antosianin adalah glikosida dan dengan bantuan bakteri *L. plantarum* Mut 7, glikosida ini dihidrolisis menjadi gula dan komponen glikosidanya. Gula dari antosianin ini akan digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon. Selama proses hidrolisis lengkap, 10mM antosianin akan menghasilkan 10mM glukosa untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Nilai FRAP (%) untuk ekstrak beras ketan hitam yang difermentasi setelah fermentasi dengan *L. plantarum* Mut 7 dan nilai FRAP pada sampel yang difermentasi selama 5 jam dalam media fermentasi dengan antosianin setara dengan konsentrasi awal 10 adalah 96,7% mM.

g. Kesimpulan

Lactobacillus plantarum Mut 7 dapat ditumbuhkan pada media fermentasi termodifikasi dengan penambahan antosianin dari beras ketan hitam. Aktivitas antioksidan beras ketan hitam tidak banyak

berubah setelah fermentasi dengan *Lactobacillus plantarum* Mut 7. Aktivitas antioksidan mencapai 59,2% dari aktivitas scavenging DPPH setelah 6 jam inkubasi dalam media fermentasi yang mengandung antosianin primer setara dengan 30 mM dan nilai FRAP. Ini adalah 96,7% dalam sampel yang difermentasi selama 5 jam dalam media fermentasi dengan konsentrasi antosianin awal setara dengan 10 mM.

3) Artikel ketiga

Judul jurnal : Determination Of Antosianin Total Levels And Antioxidant Activities In Black Glutinous Rice Extract And Fermented Black Glutinous Rice Extract

Nama jurnal : International Medical Journal

Penerbit : Japan International Cultural Exchange Foundation

Volume & halaman : Volume 25 Issue 05 Halaman 2443-2453

Tahun terbit : 2020

Penulis jurnal : Trinovani, Elvi, Afifah Riska Rafa, Fauziyah, Roro Nur

Isi jurnal :

a. Tujuan jurnal

Untuk mengetahui konsentrasi total antosianin dan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam beras ketan hitam dan beras ketan hitam fermentasi.

b. Metode penelitian : eksperimental

c. Sampel : beras ketan hitam dan beras ketan hitam hasil fermentasi

d. Instrumen : *Liquid finder*, kertas saring, penangas air, *freeze dryer*,
Spektrofotometer

e. Metode analisis

Beras ketan hitam dan beras ketan hitam fermentasi yang diperoleh dibuat ekstrak kental. Pembuatan ekstrak ketan hitam kental dan fermentasi beras ketan hitam dilakukan dengan cara maserasi yaitu dengan merendam beras ketan hitam dan beras ketan hitam fermentasi dalam *liquid finder*. Maserat yang dihasilkan dipekatkan menggunakan penangas air pada 40°C, dan ekstrak kental yang diperoleh dikeringkan dalam *freeze dryer* pada suhu -40°C.

Identifikasi antosianin dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna HCl dan NaOH. Pengujian antosianin dilakukan pada ekstrak beras ketan hitam dan beras ketan hitam fermentasi menggunakan metode beda pH. Data hasil pengukuran nilai absorbansi pada panjang gelombang 510 nm dan 700 nm pada pH 1 dan pH 4,5.

Pengujian antioksidan dilakukan pada ekstrak kering beras ketan hitam dan beras ketan hitam fermentasi menggunakan metode DPPH-Spektrofotometer. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan konsentrasi penghambatan 50% (IC_{50}), yaitu konsentrasi sampel yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH. Dalam menentukan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH yang diukur dengan spektrofotometri UV-Vis, dimana prinsipnya adalah reaksi fading atau peluruhan warna dari warna ungu menjadi kuning diinkubasi selama 30 menit. Aktivitas antioksidan diukur dengan tiga kali pengukuran dengan masing-masing 5 variasi konsentrasi kemudian direaksikan dengan DPPH, diinkubasi selama 30 menit kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UVvis pada panjang gelombang 516 nm. Tingkat kekuatan senyawa antioksidan dengan metode DPPH dapat diklasifikasikan menurut nilai IC_{50} , dimana semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Selain itu dibuat profil aktivitas antioksidan kuersetin untuk mengetahui seberapa besar aktivitas antioksidan kuersetin dengan melihat hasil antara konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) dan absorbansi. Semakin tinggi konsentrasi larutan yang digunakan maka absorbansi yang dihasilkan semakin kecil.

f. Hasil penelitian

Proses *freeze dryer* atau pengeringan beku dilakukan karena memiliki keunggulan lebih aman terhadap risiko degradasi senyawa

dalam ekstrak. Setelah mendapatkan ekstrak kering dilakukan perhitungan rendemen. Rendemen yang diperoleh pada ekstrak beras ketan hitam adalah 11,664% sedangkan rendemen pada ekstrak beras ketan hitam fermentasi adalah 3,1073%.

Identifikasi antosianin dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna HCl dan NaOH. Beras ketan hitam dan beras ketan hitam hasil fermentasi menunjukkan hasil larutan berwarna merah jika ditambahkan ekstrak HCl sedangkan bila ditambahkan NaOH menunjukkan hasil larutan berwarna merah yang memudar seiring waktu. Pengujian antosianin dilakukan pada ekstrak beras ketan hitam dan beras ketan hitam fermentasi menggunakan metode beda pH. Data hasil pengukuran nilai absorbansi pada panjang gelombang 510 nm dan 700 nm pada pH 1 dan pH 4,5. Menunjukkan hasil pada gelombang 510 nm pada pH 1 antosianin total 1,071, pada pH 4,5 antosianin total 0,076 dan pada gelombang 700 nm pada pH 1 antosianin total 0,931, pada pH 4,5 antosianin total 0,038. Kemudian data pengukuran diperoleh kadar antosianin total pada ekstrak ketan hitam sebesar 4,2582 mg/100 gram. Kadar total antosianin pada ekstrak beras ketan hitam fermentasi sebesar 8,0989 mg/100 gram.

Pengujian aktivitas antioksidan kuersetin digunakan sebagai kontrol positif. Hasil pengukuran nilai absorbansi pada panjang gelombang 516 nm diperoleh nilai IC_{50} sebesar 9,915 ppm. Hasil penelitian aktivitas antioksidan ekstrak beras ketan hitam hasil

pengukuran nilai absorbansi pada panjang gelombang 516 nm diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 14,654 ppm. Sedangkan hasil penelitian aktivitas antioksidan ekstrak beras ketan hitam fermentasi hasil pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 516 nm diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 11,837 ppm.

g. Kesimpulan

Total antosianin pada ekstrak beras ketan hitam fermentasi 8,0989 mg/100 gram lebih besar dari total antosianin pada beras ketan hitam 4,2582 mg/100 gram. Penelitian aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa beras ketan hitam dan beras ketan hitam fermentasi mengandung antosianin. Nilai aktivitas antioksidan pada beras ketan hitam sebesar 14,654 ppm, sedangkan nilai aktivitas antioksidan pada beras ketan hitam fermentasi sebesar 11,837 ppm.

4) Artikel keempat

Judul jurnal : Effect Of Fermentation Time On Antosianin
Content And Antioxidant Activities In
Fermented Glutinous Black Rice Extract

Nama jurnal : International Medical Journal

Penerbit : Japan International Cultural Exchange
Foundation

Volume & halaman : Volume 25 Issue 08 Halaman 3101-3112

Tahun terbit 2020

Penulis jurnal : Trinovani, Elvi, Rahayu, Septiyani,
Fauziah, Roro Nur

Isi jurnal :

a. Tujuan jurnal

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh lama fermentasi terhadap kadar antosianin total dan aktivitas antioksidan

b. Metode penelitian : eksperimental

c. Sampel : beras ketan hitam fermentasi

d. Instrumen : pH meter, pH indicator strip, Spektrofotometer

e. Metode analisis

Penelitian ini diawali dengan pembuatan beras hitam ketan fermentasi yang diberi perlakuan yang berbeda yaitu perbedaan waktu fermentasi. Fermentasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah fermentasi anaerobik, dimana proses pembuatannya tidak membutuhkan oksigen. Alasan lain pemilihan metode ini adalah karena maserasi merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana. Prosesnya dilakukan dengan merendam serbuk simplisia (sampel) dalam pelarut. Pelarut yang digunakan selama ekstraksi (maserasi) adalah metanol dan asam klorida.

Pengujian kadar antosianin pada penelitian ini menggunakan metode diferensial pH. Ekstrak sampel juga diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 510 dan 700 nm. Analisis statistik dari data yang diperoleh dengan menggunakan perangkat lunak SPSS dilakukan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi terhadap kandungan antosianin ekstrak

beras ketan hitam yang difermentasi. Uji potensi antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH. Prinsip uji aktivitas penangkal radikal bebas menggunakan metode DPPH adalah mengukur kemampuan suatu antioksidan dalam menangkap radikal DPPH. Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan dengan menggunakan larutan standar panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 515 nm. Panjang gelombang yang diperoleh digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan sampel. Dalam studi ini juga menggunakan quersetin sebagai pembanding.

f. Hasil penelitian

Hasil aktivitas antiosianin ekstrak beras ketan hitam fermentasi dengan panjang gelombang 510 nm dan 700 nm pada pH 1 dan pH 4,5 di hari ke-2 yaitu penyerapan antosianin sebesar 0,231 dan tingkat antosianin 964,361 mg/100g. Hari ke-3 penyerapan antosianin sebesar 0,117 dan tingkat antosianin 488,442 mg/100g. Hari ke-4 penyerapan antosianin sebesar 0,063 dan tingkat antosianin 263,007 mg/100g

Analisis data yang diperoleh dilakukan dengan cara statistik menggunakan SPSS untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap kadar antosianin yang terkandung dalam ekstrak beras hitam ketan fermentasi. Dari analisis data yang dilakukan, interpretasi hasil uji Kruskal Wallis ditinjau dari homogenitas diperoleh sig. $P < 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa ada pengaruh waktu fermentasi terhadap kadar antosianin total.

Aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam ketan fermentasi pada hari ke-2 diperoleh IC_{50} sebesar 46,313%. Aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam ketan fermentasi pada hari ke-3 diperoleh IC_{50} sebesar 127,558%. Aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam ketan fermentasi pada hari ke-4 diperoleh IC_{50} sebesar 160,114%. Dalam penelitian ini kuersetin digunakan sebagai pembanding dengan 5 variasi konsentrasi yaitu 0 ppm, 5 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm. Hasil pengujian aktivitas antioksidan kuersetin dilihat antara konsentrasi dan % inhibisi maka dari ke lima variasi konsentrasi tersebut menghasilkan IC_{50} sebesar 9,915.

g. Kesimpulan

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa tingkat aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam ketan fermentasi pada hari ke-2 memiliki sifat antioksidan yang sangat kuat, hari ke-3 memiliki sifat antioksidan sedang, dan hari ke-4 memiliki sifat antioksidan yang lemah. Perbedaan nilai IC_{50} dapat disebabkan oleh jumlah antosianin yang terkandung dalam ekstrak.

Antioksidan sensitif terhadap proses pemanasan, sehingga perlakuan panas dapat mempercepat oksidasi antioksidan dan menyebabkan pemecahan antosianin dalam sistem zat alami dan penurunan aktivitas antioksidan zat tersebut. Lama fermentasi juga mempengaruhi kadar total antosianin dan potensi antioksidan. Semakin lama waktu fermentasi maka nilai kadar total antosianin ekstrak beras ketan hitam fermentasi semakin menurun dan nilai potensi antioksidan semakin meningkat.

5) Artikel kelima

Judul jurnal : Extraction and application of antioxidants
from black glutinous rice

Nama jurnal : LWT - Food Science and Technology

Penerbit : Academic Press Inc

Volume & halaman : Volume 43 Halaman 476-481

Tahun terbit 2010

Penulis jurnal : Kanitha Tananuwong, Wanida Tewaruth

Isi jurnal :

a. Tujuan jurnal

Untuk mengetahui kondisi ekstraksi optimum ekstrak beras ketan hitam dan menentukan aplikasinya sebagai antioksidan pada mayones yang diperkaya minyak ikan.

b. Metode penelitian : ekperimental

c. Sampel : beras ketan hitam

d. Instrumen : Saringan, labu ukur, penangas air, LAT sentrifugasi, Spektrofotometer

e. Metode analisis

Beras ketan hitam (*Oryza sativa L.*) endosperma putih dari kernel beras ditutupi dengan kulit ungu-merah tua. Kernel beras dikuliti digiling dan melewati 210 Mm saringan. Tepung beras tersebut kemudian dikemas dalam polypropylene bag (50Mm), disegel, dan disimpan pada suhu 18°C sampai digunakan.

Tepung ketan hitam diekstraksi dengan campuran aseton:air (70:30 v/v). PH pelarut divariasikan menjadi 2 (asam) dan 6,8 (netral). Untuk setiap percobaan, 10 g sampel tepung dicampur dengan 100 mL pelarut. Ekstraksi dilakukan dua kali dengan periode waktu yang sama untuk setiap putaran sehingga diperoleh total waktu ekstraksi 2, 4 dan 8 jam. Semua ekstraksi dilakukan pada 32°C dalam penangas air. Untuk setiap putaran ekstraksi, supernatan dan pelet dipisahkan dengan sentrifugasi pada 1250G selama 15 menit pada suhu kamar. Supernatan dari ekstraksi putaran pertama dan kedua digabungkan dan diuapkan. Volume akhir ekstrak kasar diatur menjadi 40 mL, disimpan dalam botol kaca berwarna coklat dan disimpan pada suhu 18°C sampai digunakan. Ekstraksi dilakukan dalam rangkap tiga.

Kandungan total fenolik ditentukan dengan metode uji Folin Ciocalteu. Ditambahkan 1 mL sampel ke dalam labu ukur 100 mL, diikuti dengan 70 mL aquades dan 5 mL reagen Folin-Ciocalteu. Larutan diaduk hingga tercampur dan diinkubasi selama 7 menit pada suhu kamar. Lima belas mL larutan natrium karbonat kemudian ditambahkan dan dibuat volume akhir dengan air suling. Larutan dicampur dan diinkubasi pada suhu kamar selama 2 jam. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer (Lambda 25 UV-vis Spectrometer, instrumen Perkin Elmer, USA) pada 765 nm. Dengan perhitungan dari kurva standar asam galat, hasilnya dinyatakan sebagai Mg asam galat/g tepung.

Kandungan antosianin monomer total ditentukan dengan metode

diferensial pH. Untuk mengukur absorbansi pada pH 1,0 dan 4,5, ekstrak kasar diencerkan masing-masing 20 kali dengan buffer kalium klorida pH 1,0 dan buffer natrium asetat pH 4,5. Penyerapan maksimum sampel dalam buffer pH 1 ditemukan pada 513 nm, yang menunjukkan bahwa antosianin utama dalam ekstrak kemungkinan adalah sianidin-3-glukosida (Giusti & Wrolstad, 2005). Oleh karena itu, kandungan total antosianin monomer dari ekstrak kasar dihitung dalam bentuk sianidin-3-glukosida.

Uji DPPH dilakukan dengan pengenceran yang berbeda dari ekstrak kasar, 50 mL ekstrak kasar encer dicampur dengan 950 mL larutan DPPH 0,3 mmol/L dalam kuvet dan ditahan selama 30 menit pada suhu kamar. Absorbansi kemudian dibaca pada 515 nm. EC_{50} (g tepung/g DPPH), yang merupakan konsentrasi antioksidan yang menyebabkan penurunan radikal DPPH menjadi setengah dari konsentrasi awalnya, ditentukan dari grafik jumlah ekuivalen sampel dalam larutan DPPH (g tepung/g DPPH) dan aktivitas penangkal radikal (%).

f. Hasil penelitian

Analisis statistik menunjukkan bahwa waktu ekstraksi tidak berpengaruh nyata terhadap kadar fenolik total dan kadar antosianin monomer total ekstrak kasar ($P > 0,05$). Keasaman pelarut memiliki efek yang lebih besar pada kandungan total monomer antosianin dan uji DPPH. Pada durasi ekstraksi yang sama, pelarut asam (pH 2) memberikan ekstrak jumlah total antosianin monomer yang jauh lebih tinggi daripada pelarut netral

(pH 6,8). Pada pH 2 menghasilkan total monomer (342 $\mu\text{g/g}$, 352 $\mu\text{g/g}$, 313 $\mu\text{g/g}$) sedangkan pada pH 6,8 yaitu (275 $\mu\text{g/g}$, 288 $\mu\text{g/g}$, 298 $\mu\text{g/g}$).

Pelarut asam menghasilkan ekstrak kasar dengan aktivitas antioksidan yang lebih rendah seperti yang ditentukan oleh uji DPPH. Perhatikan bahwa uji DPPH dinyatakan sebagai EC_{50} yang merupakan konsentrasi antioksidan yang menyebabkan penurunan radikal DPPH menjadi setengah dari konsentrasi awalnya. Oleh karena itu, nilai EC_{50} yang lebih rendah memberikan efisiensi antioksidan yang lebih tinggi. Hasil untuk pelarut asam pH 2 (77,6 g, 59,3 g, 51,9 g) sedangkan pada pH 6,8 menghasilkan (46,9 g, 42,9 g, 46,0 g).

g. Kesimpulan

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa waktu ekstraksi tidak berpengaruh nyata terhadap kadar fenolik total dan kadarantosianin monomer total ekstrak kasar, sedangkan faktor ini secara signifikan mempengaruhi aktivitas antioksidan ekstrak sebagaimana ditentukan dari uji DPPH. Ekstrak kasar yang diperoleh dari waktu ekstraksi yang lebih lama cenderung memilikiaktivitas antioksidan yang lebih besar. Namun kondisi ekstraksi yang memberikan jumlah total fenolat atau total antosianin monomerik tertinggi tidak memberikan ekstrak dengan efisiensi antioksidan tertinggi untuk uji DPPH.