



Pro-life

Jurnal Pendidikan Biologi, Biologi, dan Ilmu Serumpun

<https://ejournal.uki.ac.id/index.php/prolife>

Potensi Antioksidan, Skrining, dan Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L. Indica)

Fri Rahmawati^{1,3*}, Maria Bintang^{1,3}, Albert Jackson Yang^{2,3}, Ni Made Devi Damayanti⁴

¹Departemen Biokimia Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Indonesia, Jakarta

²Departemen Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Indonesia, Jakarta

³Pusat Studi Herbal Medik dan Biodiversitas, Universitas Kristen Indonesia, Jakarta

⁴Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Indonesia, Jakarta

*Corresponding author: fri_rahmawati@yahoo.co.id

Article History

Received : 02 Maret 2024

Approved : 28 Juni 2024

Published : 19 Juli 2024

Keywords

antioxidants, black rice, identification, secondary metabolites, screening

ABSTRACT

Black rice (*Oryza sativa* L. indica) is a variety of pigmented rice that, apart from acting as a popular food ingredient, can also be used for health because it has active compounds that have the potential to act as antioxidants. The research carried out aimed to determine antioxidant potency, conduct secondary metabolite screening, and characterize the active compound content of black rice extract. It was macerated using a 96% pro-analysis (p.a.) ethanol solvent. Antioxidant potency was tested using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) methods, secondary metabolite screening using the Harbone method, and identification of active compounds using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). It was found that black rice extract has potential as an antioxidant, using the DPPH method, the 50% Inhibition Concentration (IC₅₀) value of black rice extract and vitamin C was 97.34 ppm and 2.64 ppm, respectively, but using the FRAP method, the IC₅₀ values of black rice extract and vitamin C were 181.83 ppm and 7.84 ppm, respectively. Secondary metabolite screening detected that in black rice extract there were active compounds in the flavonoid and steroid groups, GC-MS identification results showed that the extract contained the most compound, hexadecanoic acid.

© 2024 Universitas Kristen Indonesia
Under the license CC BY-SA 4.0

PENDAHULUAN

Radikal bebas dihasilkan dalam tubuh manusia melalui berbagai mekanisme. Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan diperlukan secara fisiologis agar

bekerja dengan baik. Apabila dalam tubuh manusia terdapat radikal bebas yang lebih tinggi dari kemampuan tubuh untuk mengendalikannya maka tubuh akan menghasilkan stres oksidatif yang dapat

menyebabkan berbagai penyakit dalam tubuh (Alkadi & Hourieh, 2020). Antioksidan berperan penting menghadapi stres oksidatif.

Antioksidan adalah senyawa kimia yang bisa menunda atau mencegah reaksi oksidasi dan banyak digunakan di berbagai bidang seperti kedokteran, kosmetik, dan industri makanan (Hu et al., 2024). Tubuh manusia membutuhkan antioksidan dari luar ketika terpapar radikal bebas yang berlebih. Antioksidan eksogen dapat diperoleh dari bahan makanan, selain sebagai bahan pangan, senyawa bioaktif yang terdapat di dalam pangan tertentu juga memiliki banyak peranan dengan berbagai aktivitas biologis, salah satunya bertindak sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan terdapat dalam banyak tumbuhan pangan, salah satunya antosianin. Aktivitas antioksidan antosianin dalam makanan sudah diketahui dan banyak diteliti, sehingga antosianin dapat mencegah proses oksidasi yang terjadi secara alami (Tena et al., 2020).

Antosianin adalah metabolit sekunder tumbuhan golongan flavonoid. Antosianin pada banyak tanaman merupakan pigmen warna yang larut dalam air dan terkandung dalam bunga, daun, buah, akar, umbi-umbian dan biji. Antosianin berperan dalam meningkatkan toleransi tanaman terhadap berbagai tekanan abiotik seperti salinitas, kekeringan, cahaya berlebihan, radiasi ultraviolet dan stres dingin (Alappat &

Alappat, 2020). Antosianin selain sebagai fitopigmen juga berperan sebagai antioksidan, sehingga berpotensi dimanfaatkan untuk pencegahan berbagai penyakit kronis pada manusia (Nassour et al., 2020).

Antosianin merupakan antioksidan yang digunakan sebagai pewarna alami dan bermanfaat bagi kesehatan manusia (Khoo et al., 2017). Antosianin berkontribusi terhadap detoksifikasi *Reactive Oxygen Species* (ROS), beras yang diperkaya antosianin atau varietas padi berpigmen merupakan alternatif yang memungkinkan untuk mengurangi malnutrisi (Mackon et al., 2021). Antosianin banyak digunakan dalam industri makanan, salah satu bahan pangan yang banyak mengandung antosianin adalah beras hitam.

Beras hitam merupakan beras berpigmen yang kaya antosianin, sehingga dapat digunakan sebagai pangan fungsional dalam menjamin keamanan pangan dan gizi di seluruh dunia (Arifa et al., 2021; Mackon et al., 2023). Sampai sekarang, beras hitam sudah terdapat lebih dari 200 varietas di seluruh dunia, terutama tersebar di Asia Tenggara dan sebagian Afrika (Panda et al., 2022). Selain sebagai bahan pangan, pemanfaatan beras hitam dalam bidang kesehatan sudah banyak dilakukan dan dikembangkan. Kandungan senyawa bioaktif beras berpigmen berperan besar dalam menghasilkan aktivitas antioksidan

yang tinggi sehingga mampu mengurangi stres oksidatif, mencegah kanker, komplikasi kardiovaskular, diabetes, penuaan dan lain-lain (Seawan et al., 2014; Kumar et al., 2020). Menurut Hernawan et al. (2016) dinyatakan bahwa beras hitam mempunyai kadar gula pereduksi terendah dengan kandungan serat terbesar dibandingkan beras putih dan beras merah, sehingga beras hitam dapat dimanfaatkan dalam mencegah Diabetes Melitus (DM). Beras hitam dilaporkan dapat menurunkan konsentrasi glukosa darah dan trigliserida secara bermakna (Daeli et al., 2020). Peranan beras hitam dalam mencegah DM diduga sangat terkait dengan kandungan senyawa bioaktif pada beras hitam yang bertindak sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki efek antidiabetes dengan mencegah terjadi hiperglikemia, sehingga autooksidasi glukosa untuk membentuk radikal bebas dapat dihambat.

Pembentukan radikal bebas melampaui kemampuan pertahanan antioksidan endogen dapat menyebabkan disfungsi makro dan mikrovaskuler (González et al., 2023), maka untuk mengatasi hal tersebut dibutuhkan antioksidan eksogen yang berasal dari bahan makanan seperti beras hitam. Selama ini penelitian aktivitas antioksidan beras hitam telah banyak dilakukan, namun identifikasi senyawa aktif beras hitam belum banyak dilakukan, sehingga selain mengukur

kemampuan menangkap radikal bebas dan kapasitas antioksidan juga perlu dilakukan skrining serta identifikasi senyawa aktif beras hitam. Berdasarkan hal tersebut penelitian bertujuan untuk mengetahui potensi antioksidan, skrining serta identifikasi metabolit sekunder beras hitam (*Oryza sativa L. indica*).

METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan tergolong penelitian eksperimental laboratorium pada beras hitam merek “X” dari Tegal-Jawa Tengah dan telah dideterminasi di Laboratorium Herbarium Badan Riset dan Inovasi Indonesia (BRIN) Cibinong-Jawa Barat. Penelitian meliputi uji potensi antioksidan, skrining dan identifikasi senyawa aktif ekstrak beras hitam. Prosedur penelitian dijelaskan sebagai berikut.

Persiapan Ekstrak Beras Hitam

Beras hitam sebanyak 500 g dicuci, ditiriskan dan keringkan dengan oven suhu 60° C hingga berat konstan lalu ditimbang. Kemudian beras hitam dihaluskan menggunakan *blender* sampai menjadi bubuk, ayak dengan ayakan 100 mesh sehingga diperoleh bubuk beras hitam.

Sebanyak 400 g bubuk beras hitam dilarutkan dalam 1,2 L etanol 96% p.a untuk dimaserasi dalam waktu 3 hari, namun setiap 24 jam filtrat disaring dan pelarut diganti dengan 1,2 L etanol 96% p.a yang baru. Pelarut dalam filtrat diuapkan dengan *rotary*

evaporator di temperatur 60° C hingga didapatkan ekstrak kental yang tidak berbau etanol kemudian di simpan di dalam lemari pendingin.

Potensi Antioksidan Beras Hitam

Potensi antioksidan ekstrak beras hitam diuji melalui 2 metode yaitu metode DPPH dan FRAP modifikasi dengan memakai asam askorbat (vitamin C) sebagai standar antioksidan.

Metode DPPH modifikasi (Baliyan et al., 2022) menggunakan pereaksi DPPH sebagai molekul radikal bebas dengan mengukur absorbansi perubahan warna dari ungu menjadi kuning pada sampel setelah ditambahkan pereaksi DPPH. Ekstrak beras hitam dilarutkan dalam etanol dengan masing-masing konsentrasi 10 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm dan 200 ppm. Deret konsentrasi vitamin C yang dipakai adalah 1 ppm, 2.5 ppm, 5 ppm, 7.5 ppm dan 10 ppm. Stok pereaksi DPPH 0,1mM dibuat pada temperatur rendah dan terjaga dari cahaya matahari.

Larutan stok ekstrak 1000 ppm dibuat dengan cara melarutkan 0,05 g ekstrak dalam 50 mL etanol sedangkan larutan stok vitamin C 100 ppm dibuat dengan melarutkan 0,1 g vitamin C dalam etanol 100 mL. Pereaksi DPPH 0,1 mM dalam etanol diambil sebanyak 2 mL lalu ditambahkan pada 200 µL dari masing-masing deretan konsentrasi ekstrak beras hitam dan standar vitamin C. Kemudian masing-masing

campuran ekstrak dan vitamin C dihomogenisasi dan disimpan dalam ruang gelap dengan temperatur 37°C selama 30 menit, kemudian serapan ekstrak dan standar diukur memakai spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang (λ) 517 nm. Potensi antioksidan ekstrak dan standar diperoleh dari persen inhibisi dengan rumus sebagai berikut.

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

Nilai konsentrasi dan persen inhibisi bahan yang diuji dan standar masing-masing diplotkan ke sumbu x dan y pada persamaan regresi linear yang diperoleh yaitu $y = a + bx$ sehingga nilai IC_{50} (*inhibitor concentration 50%*) dari bahan yang diuji dan standar dapat ditentukan dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang diperoleh sebagai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan besar konsentrasi larutan bahan uji maupun standar vitamin C yang dibutuhkan dalam mengurangi 50% radikal bebas DPPH.

Metode FRAP modifikasi (Iqbal et al., 2017), sebanyak 1 ml ekstrak beras hitam yang terlarut dalam etanol diencerkan dengan berbagai konsentrasi (12.5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100, 200 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm), ke dalam masing-masing deret konsentrasi ekstrak tersebut dimasukan 1 ml bufer fosfat 0.2 M (pH = 6.6) dan kalium heksasianoferat, lalu dikocok dan diinkubasi selama 20 menit dalam penangas air bersuhu 50°C. Sebanyak 1 ml asam trikloroasetat

(TCA) 1% dimasukkan ke masing-masing deret konsentrasi ekstrak, lalu dicampurkan dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit.

Supernatan ekstrak pada masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 1 ml dan dicampurkan 0.2 ml FeCl_3 0.1%, lalu campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit di ruangan gelap. Absorbansi ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda-beda diukur memakai spektrofotometer UV-Vis pada $\lambda = 700$ nm. Sebagai blanko digunakan etanol dan kurva standar dibuat memakai larutan vitamin C. Potensi antioksidan dibandingkan dengan daya reduksi dari ekstrak, nilai % *reducing power* ekstrak diperoleh menggunakan persamaan berikut.

$$\% \text{ reducing power} = \frac{A_{\text{ekstrak}} - A_{\text{blanko}}}{A_{\text{ekstrak}}}$$

Keterangan:

A_{ekstrak} merupakan serapan sampel

A_{blanko} merupakan serapan blanko

Skrining Metabolit Sekunder Beras Hitam

Skrining metabolit sekunder (senyawa aktif) ekstrak beras hitam memakai metode Harbone yang dimodifikasi oleh Rahmawati et al. (2022), meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tanin dan triterpenoid. Uji alkaloid, ekstrak beras hitam sebanyak 1 g direaksikan dengan 6-7 tetes NH_3 dan 5 ml CHCl_3 lalu disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan 1 ml H_2SO_4 2 M hingga

membentuk 2 lapisan, lapisan atas merupakan lapisan asam. Beberapa tetes lapisan asam diteteskan ke 3 sumur yang berbeda pada *microplate*. Filtrat asam dalam sumur pertama ditambahkan dengan beberapa tetes pereaksi Mayer, filtrat asam sumur kedua ditambahkan dengan pereaksi wagner sedangkan filtrat asam sumur ketiga ditambahkan dengan pereaksi Dragendorf. Ekstrak beras hitam positif terkandung alkaloid bila dihasilkan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorf, endapan putih dengan pereaksi Mayer dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner dan.

Uji flavonoid, ekstrak beras hitam sebanyak 5 g dilarutkan dan dipanaskan dengan akuades secukupnya selama 5 menit. Filtrat disaring dan dicampurkan dengan 0,5 g bubuk magnesium, tambahkan asam klorida 37% dan etanol 96% masing masing sebanyak 10 tetes, lalu 1 ml amil alkohol kemudian dikocok. Ekstrak beras hitam terkandung flavonoid bila lapisan amil alkohol berwarna jingga.

Uji saponin, sebanyak 5 g ekstrak beras hitam dilarutkan dengan akuades secukupnya lalu dipanaskan selama 5 menit, lalu saring. Filtrat dikocok dengan kuat-kuat selama 5 menit, bila dihasilkan busa bersifat stabil dan tidak hilang selama 10 menit setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2 N menandakan dalam ekstrak beras hitam terkandung saponin.

Uji tanin, sebanyak 5 g ekstrak beras hitam dilarutkan dengan akuades secukupnya, panaskan selama 5 menit, dinginkan lalu filtrat disaring. Kemudian filtrat tersebut direaksikan dengan 3 tetes FeCl_3 10%. Ekstrak beras hitam terkandung tanin jika larutan berubah menjadi hitam kehijauan.

Uji triterpenoid dan steroid, ekstrak beras hitam sebanyak 1 g dilarutkan dalam 25 ml etanol panas 50°C lalu disaring. Filtrat dipanaskan sampai mengering, lalu direaksikan dengan 1 ml dietil eter. Larutan dihomogenasikan lalu ditambahkan dengan H_2SO_4 pekat dan CH_3COOH anhidrat masing-masing sebanyak 1 tetes. Warna merah atau ungu yang terbentuk menyatakan terdapat triterpenoid serta warna hijau atau biru menandakan terkandung steroid dalam ekstrak beras hitam.

Identifikasi Senyawa Beras Hitam

Identifikasi senyawa aktif dalam ekstrak beras hitam ditentukan dengan memakai GC-MS. Sebanyak 5 μL ekstrak hitam dimasukkan ke dalam alat analisis GC-MS berkolom HP Ultra 2 dengan panjang 30 m, diameter 0.20 mm dan ketebalan 0.11 μm . Temperatur awal oven sebesar 80°C dan naik $3^\circ\text{C}/\text{menit}$ hingga suhu 150°C ditahan selama 1 menit lalu temperatur ditingkatkan $20^\circ\text{C}/\text{menit}$ sampai 280°C ditahan kembali selama 26 menit, sedangkan suhu injeksi dilakukan pada suhu

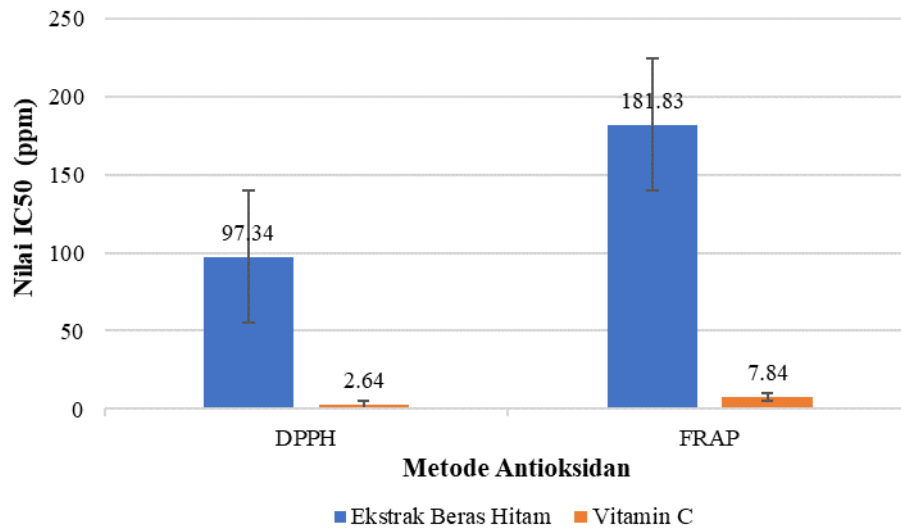
250°C . Helium dipakai sebagai gas pembawa dengan laju kolom sebesar 1.2 mL/menit dan split rasio sebesar 8:1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Potensi Antioksidan Beras Hitam

Potensi antioksidan ekstrak beras hitam diuji menggunakan metode DPPH dan FRAP dengan memakai asam askorbat sebagai kontrol positif. Penggunaan kedua metode antioksidan tersebut didasarkan karena terdapat korelasi yang sangat besar antara kemampuan dalam menghambat radikal bebas dengan potensi reduksi polihidroksi pada ion besi, sehingga pemakaian kedua metode tersebut dalam uji antioksidan sangat memungkinkan karena saling mempengaruhi dan bahkan dapat menggantikan (Maesaroh et al., 2018). Penggunaan metode DPPH dan FRAP dalam pengukuran antioksidan berdasarkan konsep bahwa metode DPPH untuk mengukur kemampuan menangkap radikal bebas sedangkan metode FRAP mampu mengukur kapasitas antioksidan suatu senyawa.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui ekstrak beras hitam memiliki potensi sebagai antioksidan, potensi antioksidan ekstrak beras hitam dan vitamin C yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} menggunakan metode DPPH dan FRAP. Grafik nilai IC_{50} ekstrak beras hitam dan vitamin C memakai metode DPPH dan FRAP disajikan pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Grafik nilai IC_{50} ekstrak beras hitam dan vitamin C memakai metode DPPH dan FRAP

Nilai IC_{50} antioksidan ekstrak beras hitam dan vitamin C memakai metode DPPH masing-masing sebesar 97,34 ppm dan 2,64 ppm, sedangkan dengan metode FRAP diperoleh nilai IC_{50} ekstrak beras hitam dan vitamin C masing-masing sebesar 181, 83 ppm dan 7,84 ppm. Berdasarkan hasil tersebut diketahui hasil pengujian potensi antioksidan ekstrak beras hitam lebih tinggi memakai metode DPPH dibandingkan dengan metode FRAP. Kondisi asam dalam pengujian antioksidan metode FRAP bisa mengurangi kemampuan reduksi zat antioksidan karena senyawa asam mengalami protonasi (Sharma dan Bhat 2009). Perbedaan nilai IC_{50} ekstrak beras hitam dengan menggunakan DPPH dan FRAP dapat disebabkan karena perbedaan prinsip pengukuran antioksidan diantara kedua metode antioksidan tersebut. Metode DPPH mengukur kekuatan antioksidan

dalam menangkap radikal bebas, sedangkan metode FRAP menunjukkan kemampuan antioksidan untuk mencegah terbentuknya radikal bebas (Hetharia et al., 2020). Faktor lain yang dapat menyebabkan perbedaan nilai IC_{50} beras hitam adalah pemanasan. Pemanasan ekstrak etanol 70% beras hitam cenderung meningkatkan kemampuan penangkapan radikal bebas (metode DPPH) dan menstabilkan aktivitas antioksidan (metode FRAP) (Tan et al., 2016). Hasil tersebut sejalan dengan pernyataan Yuliantari et al. (2017) bahwa temperatur dan waktu ekstraksi mempengaruhi aktivitas antioksidan.

Antioksidan ekstrak etanol 96% beras hitam memakai metode DPPH tergolong sangat kuat dengan nilai $IC_{50} < 10$ ppm (Prasetyo et al., 2021) tetapi hasil penelitian menunjukkan antioksidan ekstrak beras hitam tergolong kuat, perbedaan hasil

tersebut dapat disebabkan oleh berbagai faktor misalnya perbedaan asal dan penyosohan pada beras hitam yang berbeda sehingga senyawa aktif dalam beras hitam jadi berkurang. Kekuatan antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa untuk menangkap dan mereduksi radikal bebas. Kekuatan antioksidan berbanding terbalik dengan nilai IC_{50} (Amin et al., 2022). Kekuatan antioksidan tergolong sangat besar, besar, sedang dan rendah dengan nilai *inhibitor concentration* 50% masing-masing sebesar < 50 ppm, 51-100 ppm, 101-150 ppm dan > 151 ppm, namun tidak bersifat aktif bila nilai IC_{50} > 500 ppm (Jun et al., 2006). Beras hitam pada penelitian mempunyai nilai IC_{50} lebih kecil dibandingkan beras hitam lokal asal Bulungan Kalimantan Utara yang mempunyai nilai IC_{50} kisaran antara 176,62 - 287,14 ppm (Pangerang, 2021). Beras hitam mampu menangkal radikal bebas lebih besar dibandingkan varietas beras warna putih dan merah, sehingga dapat digunakan untuk meningkatkan kesehatan dan menjadi produk pangan fungsional (Tyagi et al., 2022).

Skrining Metabolit Sekunder Beras Hitam

Skrining metabolit sekunder dilakukan dalam rangka menelusuri golongan senyawa aktif ekstrak beras hitam secara kualitatif. Hasil pengujian menunjukkan di dalam

ekstrak beras hitam terdeteksi senyawa aktif golongan flavonoid dan steroid. Flavonoid banyak ditemukan pada berbagai tanaman, berperan penting pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta memiliki potensi pemanfaatan yang besar dalam makanan dan obat-obatan. Salah satu jenis flavonoid yang sangat penting adalah antosianin (Liu *et al* 2021).

Beras berpigmen sebagian besar berwarna hitam, ungu, dan merah serta mengandung berbagai metabolit sekunder (flavonoid, tanin, fenol, sterol, dan *oryzanol*) dan minyak atsiri. Profil fitokimia beras hitam ditandai dengan adanya antosianin, yaitu golongan flavonoid berwarna kemerahan hingga ungu yang terdapat pada beras hitam dan biji-bijian sereal berpigmen lainnya (Pornngarm *et al* 2019). Flavonoid dan fenol memiliki potensi yang besar sebagai antioksidan alami (Kaurinovic & Vastag 2019). Hasil skrining metabolit sekunder ekstrak beras hitam disajikan pada

Tabel 1.

Tabel 1. Hasil skrining metabolit sekunder ekstrak beras hitam

No.	Golongan Aktif	Senyawa	Hasil Pengujian
1	Alkaloid:		
	-	Wagner	-
	-	Mayer	-
	-	Dragendorf	-
2	Flavonoid		+
3	Saponin		-
4	Steroid		+
5	Tanin		-
6	Triterpenoid		-

Keterangan:

(+) terdeteksi terdapat golongan senyawa aktif yang diuji

(-) tidak terdeteksi terdapat golongan senyawa aktif yang diuji

Hasil penelitian lain menunjukkan dalam ekstrak beras hitam selain terdapat flavonoid juga terkandung tanin dan triterpenoid (Prasetyo et al., 2021). Perbedaan hasil skrining fitokimia dapat terjadi karena perbedaan pelarut dan variasi konsentrasi pelarut pada ekstraksi bahan alam sehingga dapat mempengaruhi kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam suatu ekstrak. Hal tersebut sejalan dengan Widarta & Arnata (2017) bahwa ekstraksi bahan alam dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti temperatur dan lama waktu ekstraksi, jenis dan konsentrasi pelarut, perbandingan pelarut dengan bahan, serta ukuran partikel. Menurut Cirak & Radusiene (2019) kandungan senyawa bioaktif suatu tanaman sangat bervariasi

karena dipengaruhi berbagai faktor internal dan eksternal seperti lokasi pada organ tanaman, tahap fenologi, profil genetik, faktor abiotik dan biotik lingkungan (tempat tumbuh, cahaya, suhu, radiasi, kekeringan dan salinitas tanah, patogen, dan serangan herbivora).

Identifikasi Beras Hitam

Analisis GC-MS merupakan tahap awal untuk memahami sifat dasar senyawa bioaktif pada tanaman obat, sehingga dapat membantu proses isolasi suatu senyawa sesuai aktivitas biologis yang dimilikinya. Berdasarkan hasil identifikasi menggunakan GC-MS terdeteksi terdapat 20 jenis senyawa yang terdapat dalam ekstrak beras hitam. Analisis GC-MS ekstrak beras hitam disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Analisis GC-MS ekstrak beras hitam

No.	Retention Time (menit)	Quality	Nama Senyawa	Kandungan (%)
1	8,332	72	<i>Glycerin</i>	1,42
2	27,087	91	Ar-tumerone	2,25
3	28,542	81	Xanthorrhizol	2,09
4	28.686	58	Naphthalene,2-(1-methyl-2-propenyl)	1,27
5	29.093	59	Bensene,1,4dimethyl-2,5-bis(1,methylethyl)-	1,66
6	29.397	45	5-(2',3',5',6'-tetrauterioocta-2',5',-dien-1'-yl)-4,5-dideteriotera hydrofuran-2-one	1,56
7	29.679	98	Hexadecanoic,methyl ester	1,95
8	29.741	38	Alpha-methyl mannofuranoside	1,75
9	30.328	99	Hexadecanoic acid*	24,83
10	30.803	99	9-octadecenoic acid,methhyl ester	3,64
11	31.341	99	9,12-octadecadienoic acid(z,z)-	13,15
12	31.424	99	Octadecanoic acid	3,00
13	32.113	90	1,9-tetradecadiene	1,47
14	40.436	97	Vitamin E	2,51
15	46,890	60	Ergosta-8,25-dien-3-one,14,24-dimethyl-	1,33
16	47.835	60	Stigmast-5-en-3-ol	5,89
17	47.862	64	taraxasterol	2,99
18	49.290	97	12-oleanen-3-yl acetate,(3.alpha.)-	1,90
19	49.765	95	Stigmast-4-en-3-one	4,82
20	51.103	94	Methyl 3-oxours-12-en-23-oate	14,02

Keterangan: (*) senyawa yang paling banyak terkandung

Bioaktivitas beberapa senyawa utama dalam ekstrak beras hitam dapat dilihat pada **Tabel 2**. Komponen senyawa terbanyak pada ekstrak hitam adalah *hexadecanoic acid* dengan % kandungan (nilai *retention area*) sebesar 24,83%. Merujuk situs *pubcem* dan *webbook National Institute of Standards and Technology* (NIST) diketahui senyawa *hexadecanoic acid* memiliki beberapa nama sinonim yaitu *n-hexadecanoic acid*, *palmitic acid* dan *pentadecanecarboxylic acid*. Salah satu asam lemak jenuh yang banyak ditemukan pada beras hitam adalah *hexadecanoic acid* (Kang et al., 2011). *N-hexadecanoic acid* memiliki aktivitas biologis yang cukup baik, *n-hexadecanoic acid* yang terkandung dalam ekstrak etanol daun *Ipomoea eriocarpa* dapat digunakan sebagai agen antioksidan dan antibakteri alami dalam industri farmasi masa depan (Ganesan et al., 2022). *n-hexadecanoic acid* memiliki aktivitas antiandrogenik, antioksidan, hemolitik, penghambatan 5-alpha-reduktase, hipokolesterolemia, nematisida, aktivitas pestisida dan bahkan juga digunakan sebagai bahan penyedap makanan (Jananie et al., 2011). *Hexadecanoic acid* dari alga *T. ornata* memiliki aktivitas antioksidan sehingga dapat digunakan sebagai senyawa antikanker potensial di masa depan (Bharath et al., 2021).

SIMPULAN

Ekstrak beras hitam memiliki potensi antioksidan dengan metode FRAP dan DPPH dihasilkan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 181, 83 ppm dan 97,34 ppm. Flavonoid dan steroid terkandung dalam ekstrak beras hitam. Hasil Identifikasi dengan GC-MS menunjukkan bahwa dalam ekstrak beras hitam terdapat senyawa aktif dengan kandungan terbesar berupa *hexadecanoic acid*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alappat B., Alappat J. (2020). Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics. *Molecules*, 25 (23), 5500. doi: 10.3390/molecules25235500
- Alkadi, Hourieh. (2020). A Review on Free Radicals and Antioxidants. *Infectious Disorders - Drug Targets (Formerly Current Drug Targets - Infectious Disorders)*, 20 (1), 16-26.
- Amin A., Khairi N., Hendrarti W. (2022). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang, Daun, dan Akar Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 4 (5), 473-480.
- Arifa A.H., Elvira Syamsir E., Budijanto S. (2021). Karakterisasi fisikokimia beras hitam (*Oryza sativa* L.) dari Jawa Barat, Indonesia. *Agritech*, 41 (1), 15-24. DOI: <http://doi.org/10.22146/agritech.53307>
- Baliyan S., Mukherjee R., Priyadarshini A., Vibhuti A., Gupta A., Pandey R.P., Chan C.M. (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27, 1326.

- Bharath B., Perinbam K., Devanesan S., AlSalhi M.S., Saravanan M. (2021). Evaluation of the anticancer potential of hexadecanoic acid from brown algae *Turbinaria ornata* on HT-29 colon cancer cells. *Journal of Molecular Structure*, 1235, 130229. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130229>
- Daeli E., Ardriaria M., Candra A. (2020). Pengaruh pemberian nasi beras merah (*Oryza nivara*) dan nasi beras hitam (*Oryza sativa* L. Indica) terhadap perubahan kadar gula darah dan trigliserida tikus wistar (*Rattus norvegicus*) diabetes melitus tipe 2. *Journal of Nutrition and Health*, 6 (2), 42-56. <https://doi.org/10.14710/jnh.6.2.2018.42-56>
- Farasat M., Khavari-Nejad R.A., Nabavi S.M., Namjooyan F. (2014). Antioxidant activity, total phenolics and flavonoid contents of some edible green seaweeds from Northern Coasts of the Persian Gulf. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(1), 163-170.
- Ganesan T., Subban M., Christopher Leslee D.B., Kuppannan S.B., Seedeivi P. (2022). Structural characterization of n-hexadecanoic acid from the leaves of *Ipomoea eriocarpa* and its antioxidant and antibacterial activities. *Biomass Conversion and Biorefinery*. DOI:10.1007/s13399-022-03576-w
- González P., Lozano P., Ros G., Solano F. (2023). Hyperglycemia and Oxidative Stress: An Integral, Updated and Critical Overview of Their Metabolic Interconnections. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9352. doi: 10.3390/ijms24119352
- Hernawan E., 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*, 15 (1), 79-91. DOI: <http://dx.doi.org/10.36465/jkbth.v15i1.154>
- Hetharia G.E., Briliannita A., Astuti M., Marsono Y. (2020). Antioxidant extraction based on black rice (*Oryza Sativa* L. *Indica*) to prevent free radical. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 823(1):012002. DOI:10.1088/1757-899X/823/1/012002
- Hu Y., Zheng Z., Zhai D., Liang P., Wang Z., Jiang C., Guo Y., Chen H., Shen C., Wu Y., Liu L., Yi Y., Zhu H., Liu Q. (2024). A mini-review: Exploring the application prospects of the three major rules in the field of antioxidants. *Journal of Molecular Structure*, 1304, 137746. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.137746>
- Iqbal S., Sivaraj C., Gunasekaran K. (2017). Antioxidant and anticancer activity of methanol extract of seed of *Datura stramonium* L. *Free Radicals Antioxidants*, 7(2), 184-189. DOI: 10.5530/fra.2017.2.28
- Janie R.K., Priya V., Vijayalakshmi K. (2011). Determination of bioactive components of *Cynodon dactylon* by GC-MS analysis. *New York Science Journal*, 4,4, 16-20
- Jun M., Fu H.Y., Hong J., Wang X., Yang CS., Ho C.T. (2006). Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobateohwi*). *Journal of Food Science*, 68(6), 2117 - 2122. DOI:10.1111/j.1365-2621.2003.tb07029.x
- Kang M.Y., Kim J.H., Rico C.W., Nam S.H. (2011). A comparative study on the physicochemical characteristics of black rice varieties. *International Journal of Food Properties*, 14(6), 1241-1254. <https://doi.org/10.1080/10942911003637350>
- Kaurinovic B., Vastag D. (2019). Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants. In E.

- Shalaby (Ed.), *Antioxidants*, 127-140. IntechOpen.
- Khoo H.E., Azlan A, Tang S.T., Lim S.M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1361779. doi: 10.1080/16546628.2017.1361779
- Kumar Deepak., Mehra, Kumar G., Koli G.K., Tiwari P.K., Kumar B. (2020). Pigmented rice: A miracle food for Modern-day world. *Food and Scientific Reports*, 1(10), 83-86.
- Liu W., Feng Y., Yu S., Fan Z., Li X., Li J., Yin H. (2021). The flavonoid biosynthesis network in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12824),1-18. <https://doi.org/10.3390/ijms222312824>
- Mackon E., Guibeline Charlie Jeazet Dongho Epse Mackon G.C.J.D.E., Yao Y., Guo Y., Ma Y., Dai X., Jandan T.H., Liu P. (2021). recent insights into anthocyanin pigmentation, synthesis, trafficking, and regulatory mechanisms in rice (*Oryza sativa* L.) Caryopsis. *Biomolecules*, 11(3), 394. <https://doi.org/10.3390/biom11030394>
- Mackon E., Guibeline Charlie Jeazet Dongho Epse Mackon G.C.J.D.E., Yao Y., Guo Y., Ma Y., Dai X., Jandan T.H., Liu P. (2023). Integrative HPLC profiling and transcriptome analysis revealed insights into anthocyanin accumulation and key genes at three developmental stages of black rice (*Oryza sativa*. L) caryopsis. *Frontiers Plant Science*, 14, 1211326. doi: 10.3389/fpls.2023.1211326
- Maesaroh K., Kurnia D., Anshori J.A. (2018). Perbandingan metode uji aktivitas antioksidan DPPH, FRAP dan FIC terhadap asam askorbat, asam galat dan kuersetin. *Chimica et Natura Acta*, 6 (2), 93-100.
- Nassour R., Ayash A., Al-Tameemi K. (2020). Anthocyanin pigments: Structure and biological importance. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 13(4), 45-57.
- Panda D.K., Jyotirmayee B., Mahalik G. (2022). Black rice: A review from its history to chemical makeup to health advantages, nutritional properties and dietary uses. *Plant Sci. Today*. 9 (SP3): 01–15. DOI: <https://doi.org/10.14719/pst.1817>
- Pangerang F. (2021). Kandungan gizi dan aktivitas antioksidan beras merah dan beras hitam padi ladang lokal dari Kabupaten Bulungan, Provinsi Kalimantan Utara. *Journal of Tropical AgriFood*, 3(2), 93-100. DOI: <http://dx.doi.org/10.35941/jtaf.3.2.2021.8475.93-100>
- Pornngarm L, Warathit S, Sariya M. (2019). “Anthocyanins and proanthocyanidins in natural pigmented rice and their bioactivities” in *Phytochemicals in Human Health*. Eds. Venketeshwer R., Dennis M., Leticia R. (Rijeka: IntechOpen;). DOI: 10.5772/intechopen.86962
- Prasetyo B.F., Purwono R.M., Novarino A.V. (2021). Potensi antioksidan menggunakan metode DPPH ekstrak beras hitam (*Oryza Sativa* L Indica) dan penghambatan *tyrosinase*. *Jurnal Health Sains*, 2 (9), 1132-1140.
- Rahmawati F., Yang J.J., Bavelina I.R. (2022). Potensi Antijamur Ekstrak Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC) terhadap *Candida albicans*. *Prolife*, 9(3), 610–62.
- Seawan N., Vichit W., Thakam A., Thitipramote N., Chaiwut P., Pintathong P., Thitilertdech N. (2014). Antioxidant capacities, phenolic, anthocyanin and proanthocyanidin contents of pigmented rice extracts obtained by microwave-assisted method. *Suranaree Journal of Science and Technology*, 21(4), 301–306.

- Sharma O.P., Bhat T.K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- Tan P., Mayulu N., Kawengian S. (2016). Gambaran aktivitas dan stabilitas antioksidan ekstrak beras hitam (*Oryza sativa* L.) kultivar Enrekang Sulawesi Selatan. *Jurnal e-Biomedik*, 4 (1), 184-187.
- Tena N., Martín J., Asuero A.G. (2020). State of the art of anthocyanins: antioxidant activity, sources, bioavailability, and therapeutic effect in human health. *Antioxidants*, 9(5), 451. doi: 10.3390/antiox9050451
- Tyagi A., Shabbir U., Chen X., Chelliah R., Elahi F., Ham H.J., Oh D.H. (2022). Phytochemical profiling and cellular antioxidant efficacy of different rice varieties in colorectal adenocarcinoma cells exposed to oxidative stress. *PLoS One*, 2022, 7(6), e0269403. doi: 10.1371/journal.pone.0269403
- Yuliantari N.W.A., Widarta I.W.R., Permana I.D.G.M. (2017). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan Ultrasonik. *Scientific Journal of Food Technology*, 4(1), 35-42.