

## STABILITAS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BEKATUL BERAS MERAH TERHADAP OKSIDATOR DAN PEMANASAN PADA BERBAGAI pH

[Stability of Antioxidant Activity of Red Rice Bran Extract Subjected to Oxidator and Heating in Various pH]

I Wayan Rai Widarta<sup>1)\*</sup> dan I Wayan Arnata<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Jurusan Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Denpasar

<sup>2)</sup> Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Denpasar

Diterima 05 November 2013 / Disetujui 11 Juli 2014

### ABSTRACT

Rice bran is acknowledged as the highest nutritious part of rice grain as well as rich in bioactive phytochemicals. Coloured rices are reported as potent sources of antioxidants therefore are regarded as viable source of antioxidants for functional foods. The aim of this study was to extract the bioactive component of red rice bran, and further the component was subjected to antioxidant activity and stability tests. The research design was a factorial randomized complete design with two factors. The first factor was the pH of the maceration that consisted of 3 levels, i.e. 1, 2.5, and 4. The second factor was the ratios of bran and solvent that consisted of 4 levels, namely: 1:4, 1:6, 1:8, and 1:10. Total phenol, total anthocyanin and antioxidant activity were measured. The results showed that extraction at the pH of 1 and under the optimized conditions of a material-solvent ratio of 1:10 (wt./vol.) produced the most potent extract. This treatment resulted in 5.45 mg/100 g of total anthocyanins, 743.51 mg/100 g of total phenolics, 92.19% of antioxidant activity, and 441.74 mg/L of IC<sub>50</sub>. Reduction of the antioxidant activities as a result of heating of the red rice bran extract was greater than that of oxidator.

**Keywords:** antioxidant, extraction of bioactive component, red rice bran, stability

### ABSTRAK

Bekatul beras merah mengandung komponen bioaktif dalam jumlah yang tinggi termasuk didalamnya senyawa fenolik. Tujuan dari penelitian ini adalah mengekstrak komponen bioaktif bekatul beras merah dan menguji stabilitas aktivitas antioksidannya. Penelitian dirancang menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan 2 faktor. Faktor pertama adalah pH maserasi yang terdiri dari 3 taraf yaitu: 1, 2.5, dan 4. Faktor kedua adalah rasio bekatul dengan pelarut etanol yang terdiri dari 4 taraf yaitu: 1:4, 1:6, 1:8, dan 1:10. Parameter ekstraksi yang diamati meliputi total fenolik, total antosianin, aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstraksi pada pH 1 dan rasio bekatul dengan pelarut 1:10 memberikan hasil terbaik dengan nilai total antosianin, total fenolik, dan aktivitas antioksidan masing-masing adalah 5.45 mg/100 g bekatul, 743.51 mg/100 g bekatul, dan 92.19% dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 441.74 mg/L. Reduksi aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah oleh pemanasan lebih besar dibandingkan oleh oksidator.

**Kata kunci:** antioksidan, bekatul beras merah, ekstraksi komponen bioaktif, stabilitas

### PENDAHULUAN

Bekatul merupakan limbah proses penggilingan padi yang jarang dimanfaatkan sebagai produk pangan oleh masyarakat. Menurut BPS (2012), produksi padi di Indonesia pada tahun 2011 mencapai 65.76 juta ton. Apabila dalam proses penyosohannya menghasilkan 8% bekatul, maka bekatul yang dihasilkan sebesar 5.2 juta ton. Hal ini menunjukkan bahwa bekatul memiliki potensi yang sangat besar apabila dapat dimanfaatkan secara optimal.

Muntana dan Prasong (2010) melaporkan bahwa umumnya senyawa fitokimia terakumulasi pada perikarp dan testa atau bekatul. Pada beras merah bagian ini mengandung pigmen yang berhubungan dengan warna merah, ungu, dan hitam. Dan dan Sharma (2011) juga melaporkan bahwa antioksidan seperti

fenolik terkonsentrasi pada fraksi aleuron bekatul. Komposisi komponen bioaktif dari bekatul berbeda-beda tergantung pada derajat polish, perbedaan varietas, genetik dan penyimpanan (Walter dan Marchesan, 2011). Sompong *et al.* (2011) melaporkan bahwa beras merah memiliki kandungan antosianin yang tinggi. Muntana dan Prasong (2010) melaporkan bahwa komposisi total fenolik bekatul beras Thailand pada beberapa varietas diantaranya beras merah dan hitam adalah masing-masing sebesar 1.0103-1.0494 dan 1.0810-1.2239 mg GAE/g dalam ekstrak metanol. Penelitian mengenai kandungan komponen bioaktif bekatul beras merah lokal masih belum banyak diteliti. Komposisi komponen bioaktif yang terdapat pada bekatul beras merah perlu diteliti agar nilai tambah bekatul beras merah menjadi lebih tinggi dan dapat dimanfaatkan sebagai pangan fungsional. Penelitian mengenai efek fisiologis bekatul telah dilakukan oleh Tazakori *et al.* (2007) yang melaporkan bahwa selain mampu menurunkan lipida darah dan

\*Penulis Korespondensi:  
E-mail: rai\_widarta@yahoo.com

meningkatkan HDL, bekatul juga dapat menurunkan tingkat glukosa darah pada pasien diabetes tipe II.

Awika *et al.* (2004) melaporkan bahwa ekstrabilitas senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar tergantung pada banyak faktor diantaranya: polaritas dan pH pelarut serta struktur kimia dari senyawa fenolik. Pelarut etanol dipilih dalam penelitian ini karena bersifat tidak toksik dan mencegah terjadinya hidrolisis (parsial atau total) pada antosianin yang terasilasi (Sari *et al.* 2005). Total fenolik yang dihasilkan pada proses ekstraksi juga dipengaruhi oleh rasio antara bahan baku dengan pelarut yang digunakan (Devi dan Arumugan, 2007).

Aktivitas antioksidan dari komponen bioaktif sangat dipengaruhi oleh temperatur dan pH serta oksidator seperti  $H_2O_2$ . Menurut Settharaksa *et al.* (2012) melaporkan bahwa peningkatan waktu pemanasan dapat menurunkan total fenol dan aktivitas antioksidannya, sedangkan Keser *et al.* (2012) melaporkan bahwa keberadaan  $H_2O_2$  dapat menurunkan aktivitas antioksidan.

Karakteristik fungsional yang dimiliki bekatul merupakan potensi untuk pemanfaatannya sebagai *food ingredient*. Aplikasi ekstrak bekatul beras merah pada produk pangan membutuhkan stabilitas yang baik. Penelitian ini perlu dilakukan untuk memperoleh kondisi ekstraksi yang tepat sehingga ekstrak bekatul beras merah yang dihasilkan memiliki komposisi komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan yang tinggi dengan meneliti pengaruh pH, pada pemanasan suhu  $100^\circ C$  dan oksidator terhadap stabilitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah yang diperoleh.

## BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul (dedak halus) dari varietas beras merah cendana yang diperoleh dari pabrik penyosohan beras di Kecamatan Penebel, Kabupaten Tabanan, Bali.

### Ekstraksi komponen bioaktif bekatul beras merah

Pada tahapan ini dilakukan ekstraksi komponen bioaktif bekatul beras merah dengan perlakuan pH pelarut dan perbandingan bekatul dengan pelarut. Proses ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol (Rattanachitthawat *et al.* 2010, yang dimodifikasi). Sebanyak 20 g bekatul beras merah yang lolos ayakan 60 mesh dilarutkan dengan pelarut etanol 96% dengan pH sesuai perlakuan (pH 1, 2,5, dan 4). Pengaturan pH dilakukan dengan penambahan HCl (Merck) 37% ke dalam pelarut etanol 96% hingga diperoleh pH yang diinginkan. Perbandingan bahan dengan pelarut adalah 1:4, 1:6, 1:8, 1:10 (b/v) kemudian di kocok menggunakan *shaker* (Eyela SI-300) selama 30 jam pada suhu kamar. Selanjutnya disaring dengan kertas saring Whatman no 1. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dalam rotari evaporator vakum merk IKA RV10 pada suhu  $30^\circ C$  sehingga diperoleh ekstrak kasar bekatul beras merah. Parameter yang diamati meliputi total antosianin, total fenolik, dan aktivitas antioksidan. Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) Faktorial. Ekstrak

dengan aktivitas antioksidan tertinggi pada tahap ini, selanjutnya dicari nilai  $IC_{50}$ .

### Pengujian kestabilan aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah terhadap pH pada pemanasan $100^\circ C$

Aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah dalam 3 tingkatan keasaman (pH 1, 2,5 dan 4) diamati perubahannya selama 12 jam pemanasan pada suhu  $100^\circ C$ . Ekstrak yang digunakan pada tahap ini adalah ekstrak bekatul beras merah yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dari tahapan penelitian sebelumnya. Larutan ekstrak yang akan diuji dipersiapkan dengan melarutkan 0.3 g ekstrak pekat bekatul beras merah ke dalam buffer sodium posfat 0.1 M pH 1, 2,5, dan 4 masing-masing hingga volume 50 ml. Stabilitas panas diuji dengan pemanasan pada suhu  $100^\circ C$  selama 12 jam. Dalam interval waktu 2 jam sekali diukur aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk grafik perubahan aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah.

### Pengujian kestabilan ekstrak bekatul beras merah terhadap pH dengan adanya oksidator ( $H_2O_2$ )

Pengaruh oksidator diuji dengan menambahkan 1 mL  $H_2O_2$  (Merck) 30% ke dalam 10 mL larutan ekstrak yang telah dipersiapkan sebelumnya dengan kondisi pH berbeda-beda (pH 1, 2,5 dan 4). Ekstrak yang digunakan pada tahap ini adalah ekstrak kasar bekatul beras merah yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dari tahapan penelitian sebelumnya. Pengukuran aktivitas antioksidan diamati setiap 2 jam selama 12 jam penyimpanan pada suhu ruang. Untuk setiap pengujian diatas, pengamatan diulang 3 kali dan reduksi aktivitas antioksidan dihitung sebagai perbandingan antara selisih aktivitas antioksidan awal dengan aktivitas antioksidan setelah waktu tertentu dibagi dengan aktivitas antioksidan awal dinyatakan dalam persen. Pengujian dilakukan dengan 3 kali ulangan. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk grafik perubahan aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah.

### Analisis total fenol

Total fenol dianalisis dengan metode Folin-Ciocalteu (Garcia *et al.* 2007). Reagen Folin-Ciocalteu (Merck) didilusi dengan air 1:9 (v/v). Kedalam 1.25 mL reagen ini ditambahkan 50  $\mu L$  sampel ekstrak kasar dari masing-masing hasil ekstraksi pH 1, 2,5 dan 4 dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:4, 1:6, 1:8, dan 1:10. Setelah itu diinkubasi selama 2 menit pada suhu ruang, kemudian ditambahkan 1 ml sodium karbonat (75 g/L). Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit pada suhu  $50^\circ C$  dan didinginkan dengan cepat dalam wadah yang berisi air es. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 760 nm dalam 15 menit. Hasil pembacaan dibandingkan dengan kurva standar menggunakan asam galat (Merck).

### Analisis total antosianin

Penentuan kadar total antosianin dengan metode pH differential (Giusti dan Wrolstad, 2001). Sampel ekstrak kasar dilarutkan dalam dua larutan buffer yang berbeda: sebanyak 1 mL sampel ekstrak kasar bekatul beras merah diencerkan

dengan buffer potasium klorida (pH 1) hingga volumenya menjadi 10 mL, dan sampel yang lain diencerkan dengan buffer sodium asetat (pH 4.5) selanjutnya dibiarkan selama 15 menit kemudian masing-masing dibaca pada panjang gelombang 510 dan 700 nm.

$$\text{Total antosianin (mg/L)} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon \times L}$$

Dimana,  $A = \{(A_{510} - A_{700})_{pH1} - (A_{510} - A_{700})_{pH4.5}\}$ ,  $\epsilon$  = Koefisien ekstingsi molar (cyanidin-3-glikosida: 26900 L/mol cm),  $L$  = lebar kuvet (1 cm),  $MW$  = berat molekul cyanidin-3-glikosida 449.2 g/mol,  $DF$  = Faktor pengenceran.

#### Analisis aktivitas antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dengan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sompong *et al.* 2011). Sebanyak 1.5 mL DPPH (Merck) (4.73 mg DPPH dalam 100 ml etanol) dilarutkan dalam tabung reaksi dengan 300  $\mu$ L ekstrak bekatul dari masing-masing hasil ekstraksi pH 1, 2.5 dan 4 dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:4, 1:6, 1:8, dan 1:10. Larutan dikocok dan diinkubasi selama 40 menit dalam gelap dan suhu ruang. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 515 nm terhadap kontrol (sebagai 100%) menggunakan spektrofotometer (Genesys 10S UV-Vis). Etanol digunakan sebagai blanko. Per-sentase kemampuan menangkap radikal bebas dihitung dengan rumus:

Kemampuan menangkal radikal (%) =

$$\frac{[\text{Absorbansi}_{515 \text{ nm kontrol}} - \text{Absorbansi}_{515 \text{ nm sample}}]}{\text{Absorbansi}_{515 \text{ nm kontrol}}} \times 100$$

#### Pengukuran IC<sub>50</sub>.

IC<sub>50</sub> adalah konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Sampel yang digunakan pada tahap ini adalah ekstrak bekatul beras merah yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dari tahapan penelitian sebelumnya. Konsentrasi sampel divariasikan mulai dari 0, 100, 200, 300, 400, dan 500 mg/L, selanjutnya diukur aktivitas antioksidannya. Nilai IC<sub>50</sub> dapat diperoleh dengan persamaan regresi linier (Pourmorad *et al.* 2006).

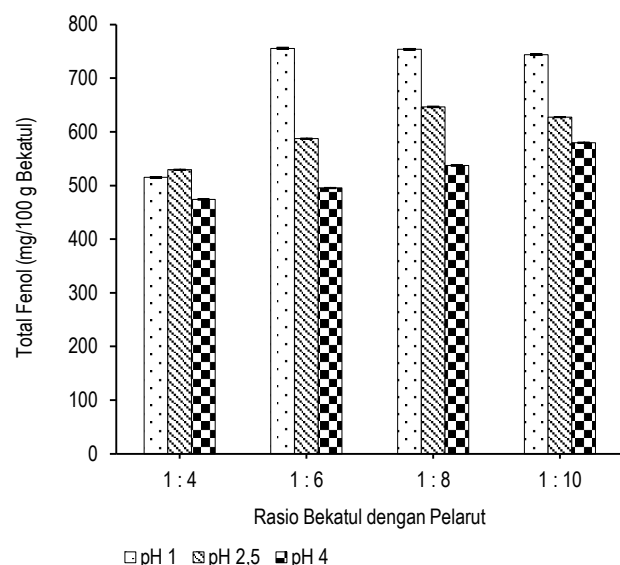
## HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Kadar total fenolik ekstrak bekatul beras merah

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa interaksi perlakuan pH dan rasio antara bahan dengan pelarut berpengaruh nyata terhadap kadar total fenolik ( $p < 0.05$ ) sedangkan pengaruh pH dan rasio bahan dengan pelarut berpengaruh sangat nyata ( $p < 0.01$ ) terhadap total fenolik. Nilai rata-rata total fenolik (mg/100 g bekatul) dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa fenolik lebih mudah terekstrak pada pelarut yang memiliki nilai pH rendah dengan perbandingan bahan dengan pelarut yang lebih besar hingga pada titik perbandingan 1:6. Pada perbandingan ini terlihat bahwa senyawa fenolik tersebut telah terekstrak secara

optimum karena dengan perbandingan yang lebih besar yaitu 1:8 dan 1:10 tidak akan menghasilkan peningkatan total fenolik yang signifikan. Kondisi ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Devi dan Arumugan (2007) bahwa peningkatan rasio bahan dengan pelarut akan meningkatkan nilai total fenolik hingga rasio 1:10 dimana total fenolik yang dihasilkan tidak menunjukkan perbedaan secara nyata. Menurut Dewi *et al.* (2007) menyatakan bahwa penggunaan pelarut yang diasamkan dengan HCl lebih disarankan karena HCl dapat mendestruksi sel tumbuhan sehingga senyawa antioksidan yang terdapat dalam sel dapat terekstrak dengan baik. Kadar total fenolik yang dihasilkan dalam penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian Devi dan Arumugan (2007) yaitu 187.9 mg/100 g bekatul yang telah difatiskan dan lebih tinggi pula dari hasil penelitian Muntana dan Prasong (2010) yang melaporkan bahwa kadar total fenolik bekatul beras merah sebesar 101.03-104.94 mg/100 g. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan derajat sosoh dan kondisi penyimpanan. Menurut Walter dan Marchesan (2011), penyosohan secara signifikan dapat menurunkan kadar total fenolik yang terdapat pada lapisan terluar biji gabah dan menyebabkan kadar total fenolik yang lebih tinggi pada bekatulnya. Lebih lanjut dilaporkan bahwa kadar fenolik dapat mengalami penurunan selama penyimpanan. Reduksi senyawa fenolik lebih tinggi terjadi pada suhu penyimpanan 37°C dibandingkan 4°C.

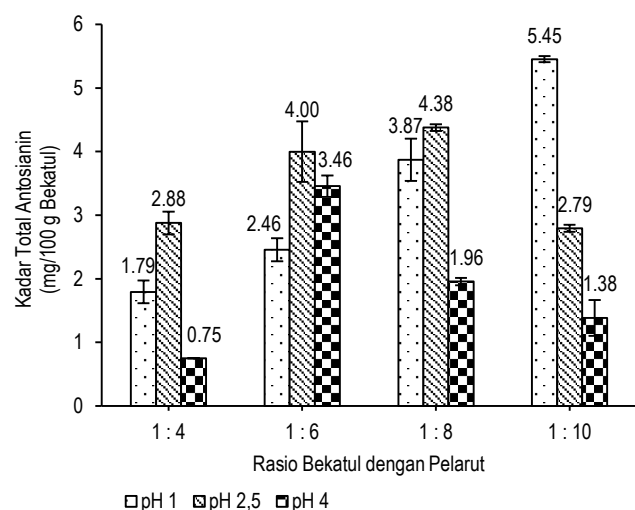


Gambar 1 Hubungan antara pH dan rasio antara bekatul dengan pelarut dengan total fenolik (mg/100 g) bekatul beras merah

#### Kadar total antosianin ekstrak bekatul beras merah

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa interaksi perlakuan pH dan rasio antara bahan dengan pelarut berpengaruh nyata terhadap kadar total antosianin ( $p < 0.05$ ). Nilai rata-rata total antosianin (mg/100 g bekatul) dapat dilihat pada Gambar 2. Hasil ekstraksi menunjukkan bahwa antosianin lebih mudah terekstrak pada pelarut yang memiliki nilai pH 1 dengan perbandingan bahan dengan pelarut yang lebih besar. Tanuwong dan Tawaruth (2010) melaporkan bahwa

keasman pelarut memberikan hasil yang lebih besar terhadap kadar total monomer antosianin. Menurut Moldovan *et al.* (2012), antosianin sangat dipengaruhi oleh pH, hal ini terkait dengan bentuk struktur kimianya. Contohnya kation flavilium yang dominan pada pH 1, sedangkan pada pH 2-4 yang dominan adalah *quinoidal blue base*. Tanuwong dan Tawaruth (2010) melaporkan bahwa pada durasi ekstraksi yang sama, pelarut yang diasamkan menghasilkan total monomer antosianin yang lebih besar dibandingkan pelarut yang tidak diasamkan. Hal ini disebabkan oleh stabilitas antosianin yang lebih tinggi dalam larutan asam. Kadar total antosianin pada penelitian ini lebih rendah dari bekatul sorgum hitam yang dilaporkan oleh Awika *et al.* (2004) yaitu 400 mg/100 g bahan.

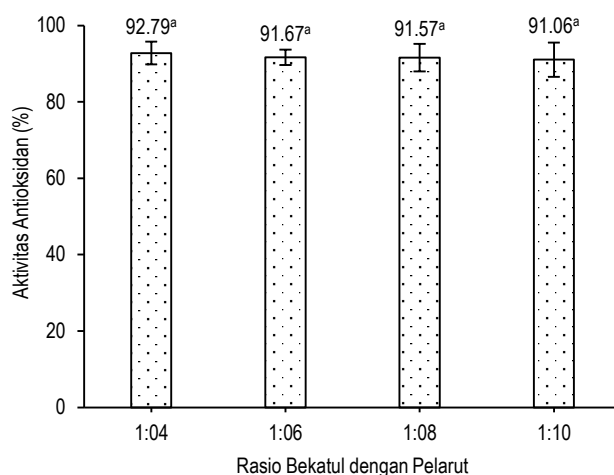


Gambar 2. Hubungan antara pH dan rasio antara bekatul dengan pelarut dengan total antosianin (mg/100 g) bekatul beras merah

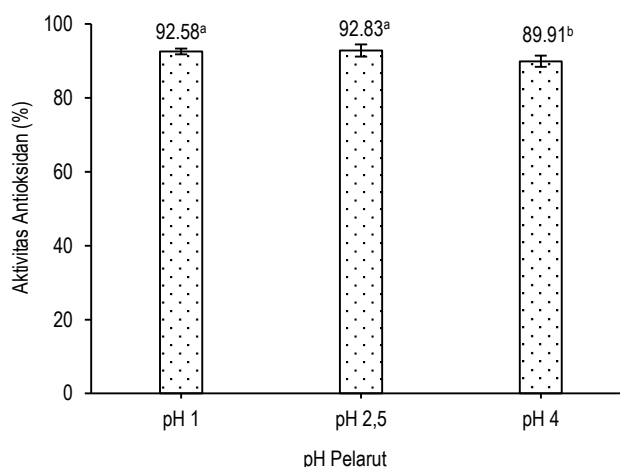
### Aktivitas antioksidan

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa perlakuan rasio antara bahan dengan pelarut dan interaksinya tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan bekatul beras merah ( $p > 0.05$ ) sedangkan perlakuan pH pelarut berpengaruh nyata. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan bekatul beras merah (%) dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4.

Gambar 4 menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan bekatul beras merah yang tinggi diperoleh pada ekstrak bekatul beras merah dengan pelarut pH 1 dan 2.5. Nilai rata-rata aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah hanya dipengaruhi oleh pH. Tingginya aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah yang diperoleh dari pelarut pH 1 dapat disebabkan oleh komposisi total fenolik pada hasil penelitian ini lebih tinggi dengan menggunakan pelarut pH 1 (Gambar 1), sedangkan aktivitas antioksidan yang tinggi dari ekstrak bekatul beras merah pada pelarut pH 2.5 disebabkan oleh komposisi total antosianin yang diperoleh dari penelitian ini paling tinggi pada pH 2.5 hingga rasio bahan:pelarut 1:8 (Gambar 2). Konsentrasi total fenolik dan antosianin yang tinggi dalam ekstrak mengakibatkan aktivitas antioksidan yang tinggi pula. Hal ini ditunjukkan dengan koefisien determinasinya masing-masing 0.619 dan 0.999.



Gambar 3. Hubungan antara rasio bahan dengan pelarut terhadap aktivitas antioksidan (%) bekatul beras merah



Gambar 4. Hubungan antara pH pelarut dengan aktivitas antioksidan (%) bekatul beras merah

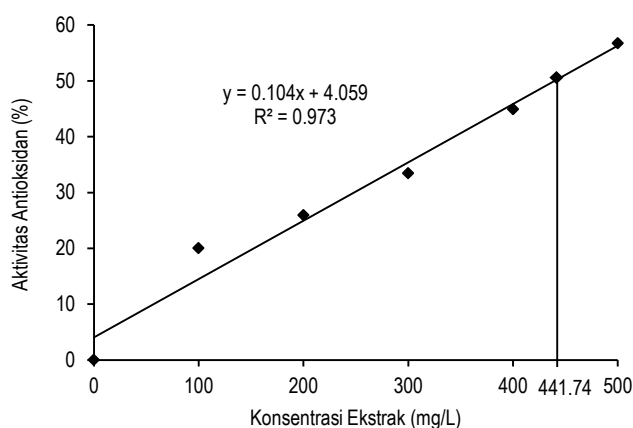
Menurut Wiboonsirikul *et al.* (2007), kadar total fenolik memiliki korelasi yang linier dengan aktivitas antioksidan. Zheng *et al.* (2011) juga melaporkan bahwa terdapat korelasi yang positif antara kadar total fenolik dengan penghambatan DPPH. Ekstrak tanaman dengan kadar total fenolik yang tinggi akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi pula. Sementara itu, Sutharut dan Sudarat (2012) juga melaporkan bahwa terdapat korelasi yang positif antara kadar total antosianin dengan aktivitas antioksidan pada varietas beras yang berpigmen.

### Nilai IC<sub>50</sub>

IC<sub>50</sub> adalah konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Konsentrasi sampel divariasikan selanjutnya diukur aktivitas antioksidannya. Selanjutnya nilai IC<sub>50</sub> dapat diperoleh dengan persamaan regresi linier (Pourmorad *et al.* 2006). Pengujian IC<sub>50</sub> pada penelitian ini dilakukan terhadap perlakuan terbaik yaitu pelarut pH 1 dengan rasio antara bahan dengan pelarut adalah 1:10. Penentuannya didasarkan atas aktivitas antioksidan yang tinggi dengan kadar

total fenolik dan antosianin yang paling tinggi pula. Adapun grafik hubungan konsentrasi ekstrak bekatul beras merah dengan aktivitas antioksidannya dapat dilihat pada Gambar 5.

Berdasarkan persamaan yang diperoleh  $y = 0.104x + 4.059$  dengan koefisien determinasi  $r^2 = 0.973$  maka dapat ditentukan nilai  $IC_{50}$  ekstrak bekatul beras merah adalah 441.74 mg/L. Nilai  $IC_{50}$  yang rendah menunjukkan kemampuan ekstrak terkuat untuk menangkap radikal DPPH (Sirikul *et al.* 2009). Nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan ekstrak metanol bekatul beras merah kultivar 21606 yang dilaporkan oleh Muntana dan Prasong (2010) yaitu sebesar 16.69 mg/L. Dibandingkan sumber antioksidan lain seperti meniran (*Phyllanthus niruri* LINN.) segar yang dilaporkan oleh Rivai *et al.* (2011) yang memiliki nilai  $IC_{50}$  yang besar yaitu 2186 mg/L. Begitu pula dengan nilai  $IC_{50}$  pada zaitun hitam dan jahe yaitu sebesar 690 mg/L dan 1800 mg/L (Qusti *et al.* 2010). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak bekatul beras merah merupakan sumber antioksidan yang potensial.



Gambar 5. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak bekatul beras merah dengan aktivitas antioksidannya

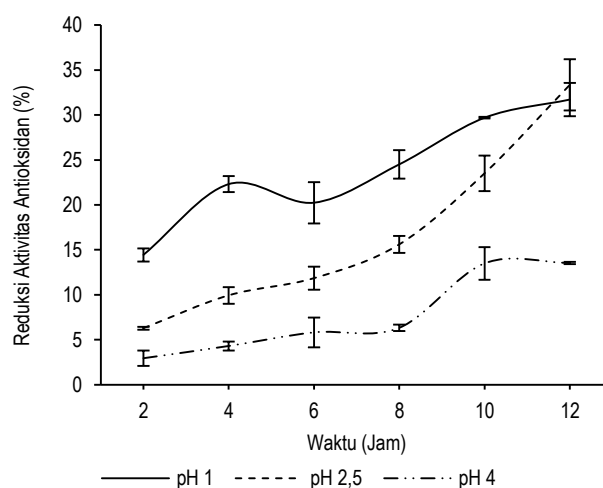
#### Stabilitas aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah terhadap pH pada pemanasan suhu 100°C

Antioksidan ekstrak bekatul beras merah sebelum pemanasan berkisar antara 91.67-92.70%, setelah 12 jam pemanasan aktivitasnya mengalami penurunan menjadi 60.98-80.10% pada berbagai pH. Stabilitas aktivitas antioksidan yang baik dari ekstrak bekatul beras merah terhadap pH selama pemanasan dapat dilihat dari reduksi atau penurunan aktivitas antioksidan yang rendah. Reduksi aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah terhadap pH selama proses pemanasan dapat dilihat pada Gambar 6.

Gambar 6 menunjukkan bahwa penurunan atau reduksi aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah yang dipanaskan pada suhu 100°C semakin meningkat dengan semakin lamanya waktu pemanasan. Reduksi aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah paling besar terjadi pada pH 1 dan 2.5 setelah 12 jam pemanasan yaitu 31.72 dan 33.36%. Dilihat dari standar deviasinya, kedua nilai ini memiliki perbedaan yang tidak signifikan. Sementara itu, reduksi aktivitas antioksidan terendah terjadi pada pH 4 setelah 12 jam pemanasan yaitu sebesar 13.54%. Hal ini menunjukkan bahwa stabilitas

antioksidan selama 12 jam pemanasan paling stabil pada pH 4 karena memiliki nilai reduksi aktivitas antioksidan paling rendah.

Asmarai *et al.* (1996) diacu dalam Tensiska *et al.* (2003) juga melaporkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak kasar dedak padi liar yang dipanaskan pada suhu 60 dan 100°C tidak menunjukkan perbedaan aktivitas antioksidan yang nyata dengan perlakuan tanpa pemanasan. Stabilitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah lebih tinggi pada pH 4 dibandingkan pH 1 dan 2.5 dapat disebabkan oleh pada pH 4 kelarutan prooksidan seperti besi yang mungkin terkandung didalam ekstrak lebih rendah dibandingkan pada pH 1 dan 2.5. Hal serupa juga dilaporkan oleh Decker *et al.* (2005) yang menyatakan bahwa pH dapat menyebabkan reaksi oksidasi oleh prooksidan (contohnya: kelarutan besi meningkat dengan menurunnya pH) sehingga lebih memungkinkan terjadinya reaksi oksidasi terhadap komponen bioaktif ekstrak bekatul beras merah pada pH rendah selama pemanasan. Menurut Anjum *et al.* (2007), bekatul kaya akan mineral salah satunya adalah besi yang kadarnya mencapai 3.98 mg/100 g. Champagne *et al.* (1985) melaporkan bahwa selain pengaruh pemanasan, kelarutan besi juga meningkat karena pH terutama pada pH <2 bahkan pada pH 0.6 kelarutannya mencapai 70%.



Gambar 6. Reduksi aktivitas antioksidan (%) ekstrak bekatul beras merah pada variasi pH selama 12 jam pemanasan pada suhu 100°C

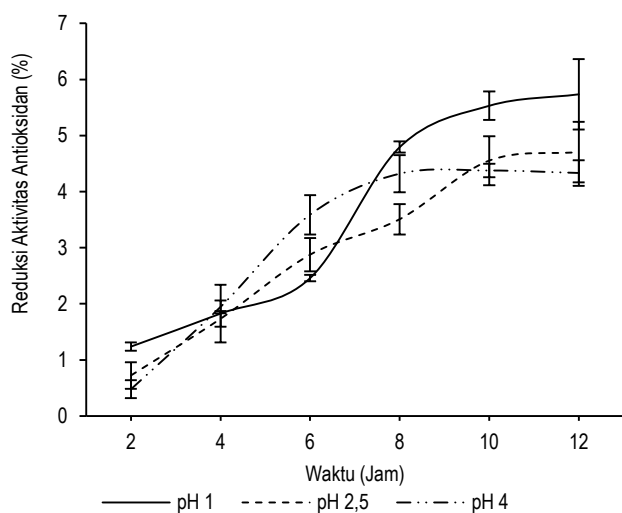
#### Stabilitas aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah terhadap pH dengan adanya oksidator H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah sebelum penyimpanan dengan keberadaan oksidator berkisar antara 91.20-92.49%, setelah 12 jam penyimpanan aktivitasnya mengalami penurunan menjadi 87.18-88.16% pada berbagai pH. Adanya 1% oksidator (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 30%) dalam larutan ekstrak bekatul beras merah pada buffer pH 1, 2.5 dan 4 menurunkan stabilitas antioksidan hingga 12 jam masing-masing sebesar 5.74, 4.70 dan 4.33%. Reduksi aktivitas antioksidan (%) ekstrak bekatul beras merah terhadap pH dengan adanya oksidator selama 12 jam penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 7.

Gambar 7 menunjukkan bahwa semakin lama waktu larutan ekstrak terpapar dengan oksidator, aktivitas antioksidan

semakin menurun dengan kata lain reduksi atau penurunan aktivitas antioksidan yang semakin meningkat. Menurut Rein (2005), oksidator dapat menstimulasi terjadinya proses degradasi antosianin secara langsung dan tidak langsung.

Reduksi aktivitas antioksidan lebih tinggi pada pH 1 dibandingkan pH 2.5 dan 4. Hal ini dapat disebabkan oleh dengan adanya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sebagai oksidator dapat mengakibatkan degradasi antosianin dan senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan dalam ekstrak bekatul beras merah. Disamping itu, pada pH 1 kelarutan prooksidan seperti besi yang mungkin terkandung didalam ekstrak meningkat sehingga laju reaksi oksidasi menjadi tinggi. Nikkiah *et al.* (2010) melaporkan bahwa keberadaan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dapat mengakibatkan degradasi antosianin dan senyawa fenolik. Dibandingkan dengan pengaruh pemanasan, senyawa antioksidan pada ekstrak bekatul beras merah lebih tahan terhadap oksidator H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Hal ini dilihat dari % penurunan aktivitas antioksidan lebih besar terjadi akibat pemanasan dibandingkan oksidator H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.



Gambar 7. Reduksi aktivitas antioksidan (%) ekstrak bekatul beras merah akibat oksidator selama 12 jam pada variasi pH

## KESIMPULAN

Tingkat keasaman pelarut yang rendah dan rasio antara bahan dengan pelarut yang tinggi dapat meningkatkan perolehan total fenolik dan total antosianin ekstrak bekatul beras merah, sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah tidak dipengaruhi oleh rasio bahan dengan pelarut dan aktivitas antioksidan yang tinggi diperoleh pada tingkat keasaman pelarut yang rendah. Ekstraksi komponen bioaktif bekatul beras merah dengan pelarut yang diasamkan pada pH 1 dan rasio bahan : pelarut = 1:10 (b/v) mampu menghasilkan total fenolik, total antosianin dan aktivitas antioksidan yang tertinggi yaitu: 743.51 mg/100g bekatul, 5.45 mg/100g bekatul, 92.19% dan IC<sub>50</sub> sebesar 441.74 mg/L. Aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terhadap pH selama pemanasan pada suhu 100°C dan oksidator H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mengalami penurunan selama 12 jam masa inkubasi. Reduksi aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras merah oleh pemanasan lebih besar dibandingkan

oleh oksidator. Ekstrak bekatul beras merah dalam buffer pH 4 lebih stabil terhadap proses pemanasan maupun oksidator H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Oleh karena itu, aplikasi ekstrak bekatul beras merah ini sangat baik digunakan sebagai ingredien dalam pengolahan pangan yang bersifat agak asam (pH 4) seperti sirup, jam, dan lain-lainnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Udayana yang telah memberikan pendanaan terhadap penelitian ini melalui dana Hibah Bersaing 2013 dengan No kontrak: 175.19/UN14.2/PNL.01.03.00/2013.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anjum FM, Pasha I, Bugti MA, Butt MS. 2007. Mineral composition of different rice varieties and their milling fractions. *Pak J Agri Sci* 44: 332-336.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. 2012. Tanaman pangan. [www.bps.go.id/tnmn\\_pgn.php](http://www.bps.go.id/tnmn_pgn.php). [24 September 2013].
- Awika JM, Rooney LW, Waniska RD. 2004. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chem* 90: 293-301. DOI: 10.1016/j.foodchem.2004.03.058.
- Champagne ET, Rao RM, Liuzzo JA, Robinson JW, Gale RJ, Miller F. 1985. Solubility behaviors of the minerals, proteins, and phytic acid in rice bran with time, temperature, and pH. *Cereal Chem* 62: 218-222.
- Dar BN, Sharma S. 2011. Total phenolic content of cereal brans using conventional and microwave assisted extraction. *Am J Food Technol* 6: 1045-1053. DOI: 10.3923/ajft.2011.1045.1053.
- Decker EA, Warner K, Ricards MP, Shahidi F. 2005. Measuring antioxidant effectiveness in food. *J Agr Food Chem* 53: 4303-4310. DOI: 10.1021/jf058012x.
- Dewi JR, Estiasih T, Murtini ES. 2007. Aktivitas antioksidan dedak sorgum lokal varietas coklat (*sorghum bicolor*) hasil ekstraksi berbagai pelarut. *J Teknol Pertanian* 8: 184-192.
- Devi RR, Arumughan C. 2006. Phytochemical characterization of defatted rice bran and optimization of a process for their extraction and enrichment. *Bioresource Technol* 98: 3037-3043. DOI: 10.1016/j.biortech.2006.10.009.
- Garcia CA, Gavino G, Mosqueda MB, Hevia P, Gavino VC. 2007. Correlation of tocopherol, tokotrienol,  $\gamma$ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. *J Food Chem* 102: 1228-1232. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.07.012.
- Giusti MM, Wrolstad RE. 2001. Unit F1.2: Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV-visible Spectroscopy. In "Current Protocols in Food Analytical Chemistry". pp. 1-13. Wrolstad, R.E., ed. John Wiley and Sons. New York, USA.

- Keser S, Celik S, Turkoglu S, Yilmaz Ö, Turkoglu I. 2012. Hydrogen peroxide radical scavenging and total antioxidant activity of hawthorn. *Chem J* 02: 9-12.
- Moldovan B, David L, Chişbora C, Cimpoi C. 2012. degradation kinetics of anthocyanins from European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit extracts. Effects of temperature, ph and storage solvent. *Molecules* 17: 11655-11666. DOI: 10.3390/molecules171011655.
- Muntana N, Prasong S. 2010. Study on total phenolic contents and their antioxidant activities of Thai white, red and black rice bran extracts. *Pak J Biol Sci* 13: 170-174.
- Nikkah E, Khaiamy M, Heidary R, Azar AS. 2010. The effect of ascorbic acid and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on the stability of anthocyanin pigments in berries. *Turk J Biol* 34: 47-53. DOI: 10.3906/biy-0805-14.
- Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajd N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *Afr J Biotechnol* 5: 1142-1145.
- Qusti SY, Abo-khatwa AN, Bin Lahwa MA. 2010. Screening of antioxidant activity and phenolic content of selected food items cited in the holly quran. *Eu J Biol Sci* 2: 40-51.
- Rattanachitthawat S, Suwannalert P, Riengrojpitak S, Chaiyasut C, Pantuwatana S. 2010. Phenolic content and antioxidant activities in red unpolished Thai rice prevents oxidative stress in rats. *J Med Plants Res* 4: 796-801.
- Rein M. 2005. Copigments Reaction and Color Stability of Berry Anthocyanins. [Disertasi]. Finland: Faculty of Agriculture and Forestry, University of Helsinki.
- Rivai H, H Nurdin, H Suyani, A Bakhtiar. 2011. Pengaruh cara pengeringan terhadap mutu herba meniran (*Phyllanthus niruri* LINN.). *Majalah Farmasi Indonesia* 22: 73-76.
- Sari P, Fitriyah A, Mukhamad K, Unus, Mukhamad F, Triana L. 2005. Ekstraksi dan stabilitas antosianin dari kulit buah duwet (*Syzgium cumini*). *J Teknol Industri Pangan* 16: 142-149.
- Settharaksa S, Jongjareonrak A, Hmadhlu P, Chansuwan W, Siripongvutikorn S. 2012. Flavonoid, phenolic contents and antioxidant properties of Thai hot curry paste extract and its ingredients as affected of pH, solvent types and high temperature. *Int Food Res J* 19: 1581-1587.
- Sirikul A, Moongngarm A, Khaengkhan P. 2009. Comparison of proximate composition, bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran and defatted rice bran from organic rice and conventional rice. *As J Food Ag-Ind* 2: 731-743.
- Sompong R, Siebenhandl-Ehn S, Linsberger-Martin G, Berghofer E. 2011. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *J Food Chem* 124: 132-140. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.05.115.
- Sutharut JdanSudarat J. 2012. Total anthocyanin content and antioxidant activity ofgerminated colored rice. *Int Food Res J* 19: 215-221.
- Tananuwong K, Tewaruth W. 2010. Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. *J Food Sci Tech* 43: 476-481. DOI: 10.1016/j.lwt.2009.09.014.
- Tazakori Z, Dehghan MH, Iranparvar M, Zare M, Foladi N, Mohmmadi R. 2007. Effect of rice brand powder on blood glucose levels and serum lipid parameters in diabetes patient II. *Res J Biol Sci* 2: 252-255.
- Tensiska, Wijaya CH, Andarwulan N. 2003. Aktivitas antioksidan ekstrak buah andaliman (*Zanthoxylum achantopodium* DC) dalam beberapa sistem pangan dan kestabilan aktivitasnya terhadap kondisi suhu dan pH. *J Teknol Industri Pangan* 16: 29-39.
- Walter M, Marchesan E. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of rice. *Braz Arch Biol Technol* 54: 371-377. DOI: 10.1590/S1516-89132011000200020.
- Wiboonsirikul J, Kimura Y, Kadota M, Morita H, Tsuno T, Adachi S. 2007. Properties of extracts from defatted rice bran by its subcritical water treatment. *J Agr Food Chem* 55: 8759-8765. DOI: 10.1021/jf072041l.
- Zheng J, Ding C, Wang L, Li G, Shi J, Li H, Wanga H, Suo Y. 2011. Anthocyanins composition and antioxidant activity of wild *Lycium ruthenicum* Murr. from Qinghai-Tibet Plateau. *Food Chem* 126: 859-865. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.11.052.