

**PENETAPAN KADAR ANTOSIANIN TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK AIR, METANOL, ETANOL 70% TAPE KETAN HITAM**

***DETERMINATION OF ANTHOCYANIN AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF WATER, METHANOL, ETHANOL 70% EXTRACT BLACK GLUTINOUS RICE***

**Elvi Trinovani<sup>1</sup>, Mimin Kusmiyati<sup>1</sup>, Yayat Sudaryat<sup>1</sup>, Muhamad Iqbal Rhamadianto<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>*Jurusan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Bandung*

*\*Email Corresponding: [iqbalbubun@gmail.com](mailto:iqbalbubun@gmail.com)*

***Submitted: 20 October 2022    Revised: 06 December 2022    Accepted: 15 December 2022***

**ABSTRAK**

Tape ketan hitam merupakan bahan pangan berkhasiat yang mengandung senyawa antosianin. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kadar total antosianin dan aktivitas antioksidan tape ketan hitam dari ekstrak air, metanol dan etanol 70%. Kandungan total antosianin ditentukan menggunakan metode pH differensial pada pH 1,0 dan pH 4,5 dengan hasil rata-rata kadar antosianin total dari ekstrak tape ketan hitam dengan pelarut aquadest sebesar 3,6598 mg/100g, pelarut metanol p.a sebesar 4,1191 mg/100g, dan pelarut etanol 70% sebesar 8,4190 mg/100g. Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dan standar yang digunakannya adalah kuersetin. Hasil penelitian menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak air, metanol p.a, dan etanol 70% secara berturut-turut adalah 119,6697 ppm; 94,6237 ppm; dan 88,4847 ppm. Hasil ini menunjukkan ekstrak tape ketan hitam dengan pelarut etanol 70% menunjukkan kadar total antosianin dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut metanol p.a dan air.

**Kata kunci :** Tape ketan hitam, antioksidan, DPPH, antosianin, metode differensial, air, metanol p.a , etanol 70%

**ABSTRACT**

*Fermented black glutinous rice is nutritious that contains anthocyanin compounds. The purpose of this study was to determine the total anthocyanin levels and antioxidant activity of fermented black glutinous rice from water, methanol, and 70% ethanol extracts. The total content of anthocyanins was determined using the differential pH method at pH 1.0 and pH 4.5 with the average yield of total anthocyanin levels from fermented black glutinous rice extract with aquadest solvent was 3.6598 mg/100g, methanol solvent was 4.1191 mg/100g, and ethanol solvent was 70% of 8.4190 mg/100g. The antioxidant activity test is carried out using the DPPH method and the standard it uses is quercetin. The results showed that the IC<sub>50</sub> value of water extract, methanol, and ethanol 70% respectively was 119,6697 ppm; 94,6237 ppm; and 88,4847 ppm. These results showed that the extract of fermented black sticky rice with 70% ethanol as a solvent showed higher total anthocyanin levels and antioxidant activity compared to methanol and water solvents.*

**Keywords:** *Fermented black glutinous rice, antioxidant, DPPH, anthocyanins, differential pH method, aquadest, methanol p.a, ethanol 70%*

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara agraris yang menghasilkan berbagai macam hasil pertanian. Salah satu hasil pertanian Indonesia yang dibudidayakan secara luas yaitu beras ketan hitam (*Oryza sativa* Linn. var. *glutinosa*) (Fauziyah & Nurjannah, 2020). Olahan beras ketan hitam yang sering ditemukan pada masyarakat yaitu tape ketan hitam (Hidayat *et al.*, 2020).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Trinovani *et al.* (2020), beras ketan hitam menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi berasal dari antosianin. Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Suasana *et al.* (2016) menggunakan mencit sebagai hewan uji menunjukkan ekstrak etanol beras ketan hitam dengan dosis 195 mg/kg BB mampu menurunkan kadar glukosa darah sebesar 170 mg/dL. Hasil ini lebih baik dibandingkan dengan glibenklamid yang hanya mampu menurunkan kadar glukosa darah 160 mg/dL.

Tape ketan hitam mengandung total fenol dan merupakan salah satu sumber bahan pangan yang mengandung 29 jenis polifenol (Fauziyah & Inlan, 2019). Senyawa fenolik memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan menyumbang elektron pada radikal bebas (Chopipah *et al.*, 2021). Tape ketan berbahan dasar ketan hitam memiliki kandungan flavonoid yang tinggi karena mengandung pigmen antosianin pada beras ketan hitam yang termasuk dalam golongan flavonoid (Hambali *et al.*, 2015).

Antosianin merupakan zat warna alami yang termasuk dalam golongan flavonoid yang memiliki tiga atom karbon yang dihubungkan oleh satu atom oksigen untuk mengikat dua cincin aromatik benzena (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>) pada struktur utamanya (Hambali *et al.*, 2015). Adanya ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur antosianin memungkinkan antosianin berperan sebagai senyawa alami yang menghancurkan dan menangkal radikal bebas (antioksidan) pada manusia (Barrowclough, 2015). Semakin banyak gugus hidroksil fenolik dalam struktur antosianin, semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Han *et al.*, 2017).

Antioksidan merupakan senyawa yang membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas (Irianti *et al.*, 2017). Manusia memiliki antioksidan yang dihasilkan sendiri oleh tubuh yang dinamakan antioksidan endogen. Jumlah antioksidan dalam tubuh akan berkurang seiring dengan kondisi tubuh setiap manusia yang tidak akan sebanding dengan jumlah radikal bebas yang terbentuk. Oleh karena itu tubuh membutuhkan antioksidan eksogen (Sayuti & Rina, 2015).

Antosianin dapat larut dalam pelarut polar (Du *et al.*, 2015). Stabilitas antosianin dalam pelarut polar yang bersifat netral atau basa dapat ditingkatkan dengan penambahan asam organik seperti asam asetat, asam sitrat dan asam klorida (Sipahli *et al.*, 2017). Kadar total fenolik tertinggi didapatkan dari pelarut metanol pada ekstrak patikan kebo (Ismail *et al.*, 2019). Pada proses ekstraksi, bahan aktif akan terlarut oleh zat pelarut yang sesuai dengan sifat kepolarannya. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga pada ekstraksi diperlukan pelarut yang bersifat polar (Alara *et al.*, 2021).

Pengambilan senyawa aktif pada bahan alam dapat dilakukan menggunakan ekstraksi yaitu maserasi. Maserasi sebagai metode yang sesuai untuk membuat ekstrak tape ketan hitam karena metode ini termasuk ke dalam ekstraksi dingin yang tidak memerlukan pemanasan. Prinsip dari maserasi yaitu perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai. Selama proses perendaman terjadi inhibisi pelarut ke dalam sampel, sehingga terjadi pemecahan dinding sel dan membran sel. Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan tekanan di luar sel dengan di dalam sel, sehingga menjadikannya metabolit sekunder yang berada dalam sitoplasma tertarik dan larut pada pelarut organik yang digunakan (Chairunnisa *et al.*, 2019).

Terdapat beberapa faktor utama yang dapat mempengaruhi antioksidan, diantaranya adalah pengeringan bahan, waktu, jenis pelarut, rasio bahan pelarut, pH, dan suhu (Rebollo-Hernanz *et al.*, 2021; Rauf, 2017). Pengujian aktivitas antioksidan yang sering digunakan adalah metode DPPH karena sederhana, cepat, mudah, peka dan hanya memerlukan sedikit sampel (Setiawan *et al.*, 2018).

Berdasarkan uraian di atas, tape ketan hitam mengandung senyawa antosianin yang berperan penting dalam kesehatan manusia. Berkaitan dengan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian terhadap kandungan antosianin total dan aktivitas antioksidan tape ketan hitam

sehingga dapat dilakukan pemanfaatannya sebagai alternatif obat herbal untuk menyembuhkan berbagai penyakit dapat dilakukan secara optimal. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut terhadap kadar antosianin total dan aktivitas antioksidan pada ekstrak tape ketan hitam.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan, yaitu neraca analitik (Mettler Toledo), Spektrofotometer UV-Vis (Spectroquant – Shimadzu UV 1700 Spectrophotometer), *Rotary vacuum evaporator* (Buchi), pH meter (Mettler Toledo), *Freeze dryer*, Lemari asam, dan Mikropipet (Eppendorf).

Bahan yang digunakan terdiri dari beras ketan hitam, Tape ketan hitam, Metanol p.a (Merck), Etanol 70% (Merck), HCl (Merck), KCl (Merck), NaOH (Merck), Natrium asetat (Merck), Kuersetin (Merck), DPPH, dan *aqua dest* (Brataco).

### Prosedur Penelitian

#### 1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman beras ketan hitam (*Oryza sativa* Linn. var. *glutinosa*) dilakukan di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Padjajaran.

#### 2. Pembuatan Ekstrak Tape Ketan Hitam

Pembuatan ekstrak tape ketan hitam dilakukan dengan metode maserasi selama 2 x 24 jam dan pengadukan setiap 6 jam selama 5 menit. Ditimbang sebanyak 100gram tape ketan hitam dan diekstraksi menggunakan 3 pelarut berbeda, yaitu air, metanol p.a, dan etanol 70% masing-masing dengan perbandingan 1:10. Maserat yang diperoleh, dipisahkan dengan penyaringan. Selanjutnya, ekstrak dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C dilanjutkan dengan proses *freeze drying* pada suhu -40°C. Rendemen ekstrak dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Bobot ekstrak tape ketan hitam yang diperoleh (gram)}}{\text{Bobot tape ketan hitam sebelum diekstraksi (gram)}} \times 100\%$$

#### 3. Identifikasi Antosianin dengan Reaksi Warna

##### a. Identifikasi dengan HCl

Ekstrak tape ketan hitam dipanaskan dengan HCl 2M sebanyak 1 mL selama  $\pm$  5 menit pada suhu 100°C. Hasil positif antosianin ditunjukkan dengan warna merah tetap.

##### b. Identifikasi dengan NaOH

Ekstrak tape ketan hitam ditambahkan NaOH 2M tetes demi tetes. Hasil positif antosianin ditunjukkan dengan warna merah yang berubah menjadi hijau biru hingga perlahan memudar.

#### 4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) Ekstrak Tape Ketan Hitam

Ditimbang sebanyak 25 mg ekstrak hasil maserasi, lalu dilarutkan dalam 5 mL pelarut. Setelah itu, diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm (Suzery *et al.*, 2010).

#### 5. Penetapan Kadar Total Antosianin dengan Metode pH Differential

Penetapan kadar total antosianin dilakukan menggunakan perbedaan pH, yakni pada pH 1,0 dan pH 4,5. Maka dari itu, dibuat alikuot larutan antosianin pada kedua pH tersebut yang selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi pada masing-masing larutannya (Suzery *et al.*, 2010).

- a. Pembuatan Larutan pH 1,0 (*Buffer* KCl pH 1,0) dan pH 4,5 (*Buffer* Na-asetat pH 4,5)
 

*Larutan pH 1,0*. Dilarutkan sebanyak 1,490 gram KCl dengan aquadest dalam gelas kimia dan digenapkan volumenya hingga 100 mL dalam labu ukur 100 mL. Larutan KCl ditambahkan HCl 0,2 N hingga mencapai pH  $1,0 \pm 0,1$ .

*Larutan pH 4,5*. Dilarutkan sebanyak 1,490 gram Natrium asetat dengan aquadest dalam gelas kimia dan digenapkan volumenya hingga 100 mL dalam labu ukur 100 mL. Larutan Natrium asetat ditambahkan HCl 0,2 N hingga mencapai pH  $4,5 \pm 0,1$ .
- b. Pengukuran Kadar Total Antosianin
 

Sampel ekstrak tape ketan hitam diencerkan dengan masing-masing pelarut (air, metanol p.a, dan etanol 70%). Masing-masing larutan ekstrak diencerkan 25 kali menggunakan *buffer* KCl pH 1,0 dan *buffer* Na-asetat pH 4,5, lalu dikocok hingga larut. Dilakukan *operating time* selama 30-60 menit. Setiap larutan, diukur absorbansinya pada panjang  $\lambda_{maks}$  dan pada  $\lambda 700$  nm. Dihitung kadar total antosianin berdasarkan data absorbansi sampel yang sudah dilarutkan (A) dengan menggunakan rumus berikut:

$$A = (A_{\text{vis-}\lambda_{\text{maks}}} - A_{\lambda 700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{\text{vis-}\lambda_{\text{maks}}} - A_{\lambda 700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

Kandungan total pigmen antosianin pada sampel dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Total pigmen antosianin} = \frac{\text{Absorbansi}}{\epsilon \times L} \times \text{BM} \times \text{DF} \times \frac{1}{1000} \times 100\%$$

Keterangan:

- $\epsilon$  : Absorptivitas molar Sianidin-3-glukosida (26.900 L/mol.cm)
- L : Lebar kuvet (1 cm)
- BM : Berat molekul Sianidin-3-glukosida (449,2 g/mol)
- DF : Faktor pengenceran
- 100 : Faktor konversi perhitungan dalam mg/100g sampel

## 6. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

- a. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM
 

Ditimbang serbuk DPPH sebanyak 15,7 mg dan dilarutkan menggunakan metanol p.a, lalu digenapkan volumenya hingga 100 mL dalam labu ukur 100 mL (Pujiastuti & Islamiyati, 2021).
- b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) DPPH
 

Larutan DPPH 0,4 mM dipipet sebanyak 1 mL dan ditambahkan metanol p.a hingga 5 mL. Selanjutnya, dikocok hingga tercampur homogen dan larutan didiamkan selama 30 menit pada tempat gelap. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet hingga seluruh bagian kuvet terisi, lalu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm.
- c. Pengukuran Standar Baku Kuersetin
 

Pengukuran standar baku kuersetin dilakukan dengan prosedur hasil penelitian Susiloningrum & Sari (2021). Ditimbang kuersetin sebanyak 25 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a hingga 25 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan kuersetin 1000 ppm sebagai larutan baku. Larutan baku 1000 ppm, diencerkan dengan dipipet sebanyak 1 mL dan dilarutkan menggunakan metanol p.a hingga 10 mL dalam labu ukur 10 mL, maka diperoleh konsentrasi larutan baku 100 ppm. Dibuat larutan standar kontrol positif kuersetin dengan variasi konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm dari larutan baku 100 ppm. Kemudian sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,4 mM ditambahkan larutan standar kontrol positif masing-masing hingga 5 mL pada labu ukur

5 mL. Campuran dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit pada tempat gelap serta terlindung cahaya. Dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 nm.

d. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tape Ketan Hitam

*Pembuatan larutan uji* dengan ditimbang masing-masing ekstrak sebanyak 25 mg, lalu dilarutkan dengan masing-masing pelarut hingga 25 mL. Diperoleh larutan induk 1000 ppm. Setiap larutan dibuat beberapa variasi konsentrasi (10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dan 30 ppm) masing-masing sebanyak 5 mL.

*Pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel* dilakukan dengan dipipet larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 mL dan ditambahkan 5 mL masing-masing konsentrasi larutan. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada  $\lambda_{maks}$  (Pujiastuti & Islamiyati, 2021; Susiloningrum & Sari, 2021). Diinterpretasikan nilai %inhibisi masing-masing sampel dengan persamaan berikut:

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

Dilanjutkan dengan regresi linier antara %inhibisi dan konsentrasi ekstrak tape ketan hitam, hingga diperoleh persamaan  $y = bx + a$ . Berdasarkan persamaan ini, dihitung nilai  $IC_{50}$  (Sepahpour *et al.*, 2018):

$$X = \frac{50 - a}{b}$$

### Analisis Data

Analisis data diolah menggunakan *software Microsoft Excel* dengan berdasarkan perhitungan data absorbansi larutan standar dan larutan sampel yang diperoleh dari pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Uji aktivitas antioksidan diinterpretasikan berdasarkan hasil perhitungan nilai  $IC_{50}$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan terhadap bahan baku yang digunakan untuk membuat tape ketan hitam, yaitu beras ketan hitam (*Oryza sativa* Linn. var. *glutinosa*). Bahan baku ini diperoleh dari desa binaan Poltekkes Kemenkes Bandung di desa Cililin, Kabupaten Bandung Barat. Determinasi dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan FMIPA Universitas Padjajaran menyatakan bahwa sampel yang digunakan adalah benar beras ketan hitam.

### 2. Pembuatan Ekstrak Tape Ketan Hitam

Pembuatan ekstrak tape ketan hitam menggunakan pelarut air, metanol p.a, dan etanol 70%. Ketiga pelarut tersebut bersifat polar dimana pemilihan pelarut didasarkan pada antosianin yang bersifat polar. Hal tersebut sesuai dengan prinsip “like dissolve like” (Verdiana *et al.*, 2018). Hasil maserasi dengan perbandingan 1:10 selama 2 x 24 jam diperoleh maserat yang masih berupa ekstrak cair. Ekstrak tersebut selanjutnya dikeringkan dengan metode *freeze drying*. Pada proses *freeze dry* diawali dengan sublimasi dan dilanjutkan dengan desorpsi, sehingga pada proses ini terjadi pengeringan air yang disublimasikan dari sampel setelah dibekukan. Pengeringan dengan metode *freeze drying* ini digunakan untuk sampel dengan sifat termolabil seperti antosianin (Gaidhani *et al.*, 2014). Rendemen ekstrak tape ketan hitam yang diperoleh tercantum pada **Tabel I**.

**Tabel I. Rendemen Ekstrak Tape Ketan Hitam**

Pelarut	Rendemen Ekstrak (%)
Air	16,43
Metanol p.a	25,30
Etanol 70%	32,17

Berdasarkan hasil rendemen ekstrak tape ketan hitam diketahui bahwa ekstrak dengan pelarut etanol 70% menghasilkan rendemen yang paling banyak. Hasil yang diperoleh, sesuai dengan penelitian (Kemit *et al.*, 2016; Pratiwi & Priyani 2019) menunjukkan pelarut etanol 70% memiliki kepolaran yang relatif sama dengan antosianin, sehingga lebih banyak menarik komponen bioaktif dalam tape ketan hitam.

### 3. Identifikasi Antosianin dengan Reaksi Warna

Uji identifikasi dilakukan dengan reaksi warna menggunakan larutan HCl 2M yang bersifat asam dan larutan NaOH 2M yang bersifat basa. Berdasarkan hasil yang diperoleh sebagaimana yang tercantum pada Tabel II, diketahui bahwa ekstrak dengan 3 pelarut berbeda masing-masing positif mengandung antosianin. Hal ini ditandai dengan perubahan warna yang terjadi, dimana ketika ditambahkan HCl 2M menjadi warna merah dan ketika ditambahkan NaOH 2M warna memudar. Dalam (Pustiari *et al.*, 2016), dinyatakan bahwa perbedaan warna yang dihasilkan dari kedua pereaksi didasarkan pada pengaruh pH.

**Tabel II. Hasil Identifikasi Antosianin dengan Reaksi Warna**

Pelarut	Pereaksi	Warna	Hasil Identifikasi
Air	HCl 2M	Merah	+
	NaOH 2M	Warna memudar	+
Metanol p.a	HCl 2M	Merah	+
	NaOH 2M	Warna memudar	+
Etanol 70%	HCl 2M	Merah	+
	NaOH 2M	Warna memudar	+

### 4. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) Ekstrak Tape Ketan Hitam

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan sampel ekstrak diukur pada rentang gelombang *visible* atau sinar tampak 400-800 nm. Berdasarkan hasil pengukuran didapat panjang gelombang maksimum ekstrak tape ketan hitam dengan pelarut air, metanol p.a, dan etanol 70% secara berurutan, yakni 525 nm, 528 nm, dan 535 nm. Hasil ini menunjukkan bahwa panjang gelombang maksimum dari ketiga sampel ekstrak selaras dengan panjang gelombang maksimum antosianin secara teoritis yang berada pada rentang 505-545 nm (Zahroh & Agustini, 2021).

### 5. Penetapan Kadar Total Antosianin dengan Metode pH *Differential*

Penggunaan metode pH *differential* spektrofotometri pada penetapan kadar total antosianin didasarkan atas perubahan struktur antosianin dalam kondisi pH berbeda, yakni pH 1,0 dan pH 4,5. Dimana pH larutan sampel yang mengandung senyawa bioaktif antosianin berpengaruh terhadap warna yang dihasilkan secara reversibel. Kondisi pH yang semakin asam terlebih jika mendekati pH 1,0 menjadikan pigmen antosianin berbentuk kation flavilium yang berwarna, sehingga nilai absorbansinya lebih tinggi dan sebanding dengan kandungan antosianinnya (Almajid *et al.*, 2021). Berbeda halnya ketika pH larutan sampel adalah pH 4,5 maka struktur antosianin berbentuk hemitekal tidak berwarna.

Nilai kadar total antosianin diinterpretasikan melalui perhitungan selisih absorbansi sinar tampak pada pH larutan sampel yang berbeda. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimumnya guna mengukur absorbansi antosianin, serta dilanjutkan pengukuran pada panjang gelombang 700 nm guna mengoreksi endapan yang diduga masih terkandung dalam sampel. Dalam [Suzery et al. \(2010\)](#), diketahui jika sampel yang diukur jernih, maka perolehan absorbansi yang diukur pada panjang gelombang 700 nm adalah 0.

**Tabel III. Kadar Antosianin Total pada Ekstrak Tape Ketan Hitam**

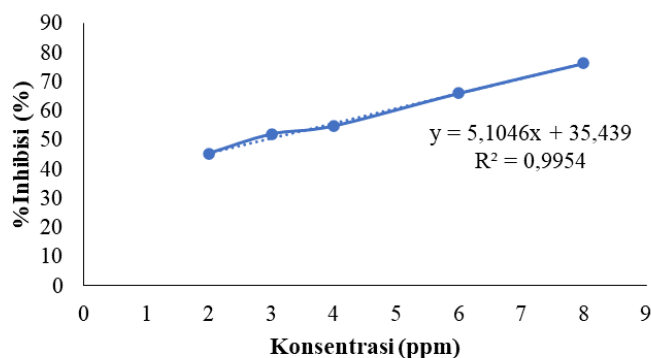
Pelarut	Kadar Total Antosianin (mg/100g)
Air	3,6598 ± 0,1342
Metanol p.a	4,1191 ± 0,1738
Etanol 70%	8,4190 ± 0,2299

Berdasarkan rata-rata pengukuran dan perhitungan matematis kadar total antosianin pada sampel ekstrak tape ketan hitam yang disajikan dalam [Tabel III](#), menunjukkan pada ekstrak dengan pelarut etanol 70% memiliki kandungan antosianin yang paling tinggi. Perolehan hasil analisis ini selaras dengan pernyataan dari [Le et al. \(2019\)](#), bahwa pelarut etanol 70% mampu menarik dan melarutkan antosianin lebih baik dibanding dengan pelarut air. Kadar total antosianin yang diperoleh berbanding lurus dengan aktivitas antioksidannya. Maka dari itu, berdasarkan hasil yang didapat sesuai dengan penelitian [Kemit et al. \(2016\)](#), pelarut etanol 70% menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling baik di antara pelarut air, aseton, maupun metanol p.a.

#### 6. Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH

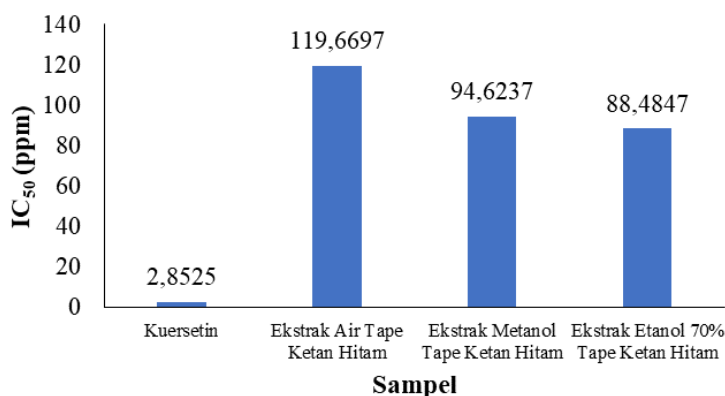
Pada prinsipnya, pengukuran aktivitas antioksidan dengan adanya penurunan intensitas warna atau absorbansi larutan DPPH yang sebanding dengan peningkatan konsentrasi senyawa. Antosianin sebagai antioksidan mampu mendonorkan atom hidrogennya terhadap DPPH, sehingga menyebabkan perubahan warna menjadi ungu kekuningan ([Hidayah et al., 2014](#)). Perubahan warna yang terjadi memberikan perubahan absorbansi pada panjang gelombang maksimum DPPH, sehingga dapat diketahui nilai  $IC_{50}$  ([Wahid et al., 2017](#)).

Pada pengujian aktivitasnya, digunakan larutan kuersetin dalam DPPH 0,4 mM sebagai baku standar. Panjang gelombang maksimum larutan kuersetin yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang sinar tampak diperoleh sebesar 515 nm. Hasil ini sesuai dengan pernyataan [Molyneux \(2004\)](#), bahwa radikal DPPH bersifat stabil dan memiliki rentang panjang gelombang maksimum antara 515-520 nm. Selanjutnya, berdasarkan hasil pengukuran absorbansi larutan standar dengan variasi konsentrasi 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm menghasilkan persamaan regresi linear  $y = 5,1046x + 35,439$ . Dari persamaan tersebut, diketahui bahwa nilai  $IC_{50}$  untuk standar kuersetin yang digunakan adalah 2,8525 ppm. Nilai  $IC_{50}$  kuersetin yang diperoleh membuktikan dan sesuai dengan hasil penelitian [Maulana et al. \(2019\)](#), menyatakan kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena  $IC_{50} < 50$  ppm.



**Gambar 1.** Kurva baku standar kuersetin

Dilanjutkan dengan pengukuran absorbansi larutan sampel yang dilarutkan dalam DPPH 0,4 mM menghasilkan warna ungu tua menjadi kuning setelah diinkubasi. Perolehan nilai absorbansinya berbanding terbalik dengan konsentrasi larutan sampel yang digunakan. Dimana semakin tinggi konsentrasi, nilai absorbansinya semakin rendah. Terjadinya penurunan absorbansi ini disebabkan oleh adanya reduksi radikal dari DPPH yang bereaksi dengan sampel (antioksidan). Nilai absorbansi selanjutnya dikonversikan menjadi %inhibisi dengan perhitungan matematis. Berdasarkan hasil yang didapat, menginterpretasikan peningkatan konsentrasi larutan sampel berbanding lurus dengan nilai % inhibisinya.



**Gambar 2.** Nilai IC<sub>50</sub> pada sampel

Berdasarkan data yang terdapat pada **Gambar 2**, diketahui bahwa ekstrak dengan pelarut etanol 70% memiliki aktivitas antioksidan paling baik. Hal ini ditandai dengan nilai IC<sub>50</sub> terkecil, yaitu sebesar 88,4847 ppm dengan kategori kuat karena berada pada rentang 50-100 ppm (Molyneux, 2004). Nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak tape ketan hitam menggunakan pelarut etanol 70% ini sejalan dengan penelitian [Verdiana et al. \(2018\)](#) yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada pelarut etanol 70% dan yang paling rendah pada pelarut aquadest. Terjadinya hal ini disebabkan oleh adanya nilai reduksi yang rendah pada ekstrak ketika mengandung sistem air pada proses uji antioksidan menggunakan DPPH ([Molyneux, 2004](#)). Berdasarkan hasil ini diketahui bahwa aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak tape ketan hitam pada tiga pelarut berbeda lebih kecil dibandingkan dengan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam baku standar kuersetin.



## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diketahui rata-rata kadar total antosianin pada ekstrak tape ketan hitam dengan pelarut air, metanol p.a, dan etanol 70% secara berurut sebesar 3,6598 mg/100g; 4,1191 mg/100g; dan 8,4190 mg/100g. Diketahui pula bahwa ekstrak tape ketan hitam memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> secara berurut sebesar 119,6697 ppm; 94,6237 ppm; dan 88,4847 ppm. Maka dari itu, ekstrak tape ketan hitam dengan pelarut etanol 70% memiliki kadar total antosianin dan aktivitas antioksidan paling baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alara, O., R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C., I., 2021. Extraction of Phenolic Compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011>
- Almajid, G., A., A., Rusli, R., Priastomo, M., 2021. Pengaruh Pelarut, Suhu, dan pH Terhadap Pigmen Antosianin dari Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*). *Proceeding Mulawarman Pharm. Conf.* 14, 179–185. <https://doi.org/10.25026/mpc.v14i1.557>
- Barrowclough, R. A., 2015. The Effect of Berry Consumption on Cancer Risk. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, 2(1), 1–9. <https://doi.org/10.15406/jnhfe.2015.02.00039>
- Chairunnisa, S., Wartini, N., M., Suhendra, L., 2019. Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *J. Rekayasa dan Manaj. Agroindustri* 7, 551. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>
- Chopipah, S., Solihat, S. S., Nuraeni, E. N. I., 2021. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid pada Daun Benalu, Katuk, Johar, dan Kajajahi : *Review*. 1(2)
- Du, H., Wu, J., Ji, K. X., Zeng, Q. Y., Bhuiya, M. W., Su, S., Shu, Q. Y., Ren, H. X., Liu, Z. A., Wang, L. S., 2015. Methylation mediated by an anthocyanin, O-methyltransferase, is involved in purple flower coloration in *Paeonia*. *Journal of Experimental Botany*, 66(21), 6563–6577. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv365>
- Fauziyah, N., Inlan, N., R., 2019. *Snack Bar Tape Ketan Hitam Sumber Antiosianin dan Serat Efektif Mengurangi Lingkar Pinggang*. Poltekkes Kemenkes Bandung. Bandung. 32-33
- Fauziyah, N., Nurjannah F., 2020. *Makanan Fungsional Tape Ketan Hitam Mencegah Sindroma Metabolik*. Poltekkes Kemenkes Bandung. Bandung. 43-44
- Gaidhani, K.A., Harwalkar, M., Nirgude, P.S., 2014. World Journal of Pharmaceutical Research Seed Extracts. *World J. Pharm. Res.* 3, 5041–5048.
- Hambali, M., Mayasari, F., Noermansyah, F., 2015. Ekstraksi Antosianin dari Ubi Jalar dengan Variasi Konsentrasi Solven, dan Lama Waktu Ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia*, 20(2), 25–35
- Han, F., Ju, Y., Ruan, X., Zhao, X., Yue, X., Zhuang, X., Qin, M., & Fang, Y. (2017). Color, Anthocyanin, and Antioxidant Characteristics of Young Wines Produced from Spine grapes (*Vitis davidii* Foex) in China. *Food and Nutrition Research*, 61(1). <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1339552>
- Hidayah, T., Winarni Pratjojo, NuniWidiarti, 2014. Uji Stabilitas Pigmen dan Antioksidan Ekstrak Zatwarna Alami Kulit Buah Naga. *Indones. J. Chem. Sci.* 3, 135–140.
- Hidayat, N., Sulistyono, P., Anton, R., Marwati, Aswita, E., 2020. *Teknologi Fermentasi*. 47-48
- Irianti, T., Mada, U. G., Ugm, S., Mada, U. G., Nuranto, S., Mada, U. G., Kuswandi, K., Mada, U. G., 2017. *Antioksidan*.
- Ismail, A., Mohamed, M., Kwei, Y. F., Yin, K., B., 2019. Euphorbia hirta Methanolic Extract Displays Potential Antioxidant Activity for the Development of Local Natural Products. *Pharmacognosy Research*, 11(1). [https://doi.org/10.4103/pr.pr\\_113\\_18](https://doi.org/10.4103/pr.pr_113_18)
- Kemit, N., Widarta, I.W.R., Nocianitri, K.A., 2016. Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill). *J. Ilmu Teknol. Pangan* 5, 130–141.

- Le, X.T., Huynh, M.T., Pham, T.N., Than, V.T., Toan, T.Q., Bach, L.G., Trung, N.Q., 2019. Optimization of Total Anthocyanin Content, Stability and Antioxidant Evaluation of The Anthocyanin Extract from Vietnamese *Carissa carandas* L. Fruits. *Processes* 7, 1–15. <https://doi.org/10.3390/pr7070468>
- Maulana K, A., Naid, T., Dharmawat, D.T., Pratama, M., 2019. Analisa Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam) dengan Metode Frap (Ferric Reducing Antioxidant Power). *Bionature* 20, 27–33. <https://doi.org/10.35580/bionature.v20i1.9757>
- Molyneux P, 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Anti-Oxidant Activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.* 26, 211–219.
- Pratiwi, S.W., Priyani, A.A., 2019. Pengaruh Pelarut dalam Berbagai pH pada Penentuan Kadar Total Antosianin dari Ubi Jalar Ungu dengan Metode pH Diferensial Spektrofotometri. *EduChemia (Jurnal Kim. dan Pendidikan)* 4, 89. <https://doi.org/10.30870/educhemia.v4i1.4080>
- Pujiastuti, E., Islamiyati, R., 2021. Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Air Ranting Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* blume) dengan Peredaman Radikal Bebas DPPH. *Cendekia J. Pharm.* 5, 135–144.
- Pustiari, P.A., Leliqia, N.P.E., Wijayanti, N.P.A.D., 2016. Penentuan Rendemen Antosianin Total Ekstrak Kulit Buah Manggis. *Univ. Udayana* 1, 9–12.
- Rauf, A., 2017. Aktivitas Antioksidan Dan Penerimaan Panelis Teh Bubuk Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill.) Berdasarkan Letak Daun Pada Ranting. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Pertanian Universitas Riau*, vol. 4, no. 2, Oct. 2017, pp. 1-12.
- Rebollo-Hernanz, M., Cañas, S., Taladrid, D., Segovia, Á., Bartolomé, B., Aguilera, Y., Martín-Cabrejas, M., A., 2021. Extraction of phenolic compounds from cocoa shell: Modeling using response surface methodology and artificial neural networks. *Separation and Purification Technology*, 270. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118779>
- Sayuti & Yenrina. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press. Padang
- Sepahpour, S., Selamat, J., Manap, M., Y., A., Khatib, A., Razis, A., F., A., 2018. Comparative Analysis Of Chemical Composition, Antioxidant Activity and Quantitative Characterization Of Some Phenolic Compounds In Selected Herbs And Spices In Different Solvent Extraction Systems. *Molecules* 23, 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules23020402>
- Setiawan, F., Yunita, O., Kurniawan, A., 2018. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), 82– 89.
- Sipahli, S., Mohanlall, V., Mellem, J. J., 2017. Stability and degradation kinetics of crude anthocyanin extracts from *H. sabdariffa*. *Food Science and Technology*, 37(2), 209–215. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.14216>
- Suasana, D., Ayu, W. D., Ibrahim, A., 2016. Aktivitas Ekstrak Etanol Beras Ketan Hitam (*Oryza Sativa* L. Var *Glutinosa*) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit (*Mus musculus*). *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia Ke-50*, 53(9), 147–155
- Susiloningrum, D., Sari, D.E.M., 2021. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp) dengan Variasi Konsentrasi Pelarut. *Cendekia J. Pharm.* 5, 117–127.
- Suzery, M., Lestari, S., Cahyono, B., 2010. Penentuan Total Antosianin dari Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Metode Maserasi dan Sokshletasi. *J. Sains Dan Mat.* 18, 1–6.
- Trinovani, E., Afifah, Riska, R., Fauziyah, R., N., 2020. Determination Of Antochyanin Total Levels And Antioxidant Activities In Black Glutinous Rice Extract and Fermented Black Glutinous Rice Extract. *IMJ-07-05-2020-452*
- Verdiana, M., Widarta, I.W.R., Permana, I.D.G.M., 2018. Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *J. Ilmu dan Teknol. Pangan* 7, 213. <https://doi.org/10.24843/itepa.2018.v07.i04.p08>
- Wahid, A., Diah, M., Rama, M., 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* LAM). *J. Akad. Kim* 6(2), 125–131.
- Zahroh, F., Agustini, R., 2021. Penentuan Kandungan Total Antosianin Yeast Beras Hitam (*Oryza sativa* L. Indica) Menggunakan Metode pH Diferensial. *Unesa J. Chem.* 10, 200–208. <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n2.p200-208>