

KADAR ANTOSIANIN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN *FLAKE* BERAS MERAH DAN BERAS KETAN HITAM DENGAN VARIASI SUHU PEREBUSAN

(Anthocyanin content and antioxidant activity of red rice and black glutinous rice flake with variation in boiling temperature)

Hany Setiawati^a, Yustinus Marsono^{a*}, Anita Maya Sutedja^a

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

* Penulis korespondensi
Email: yustimar49@yahoo.co.id

ABSTRACT

Red rice and black glutinous rice contain high starch and satiety thus suitable for use as raw material for produce breakfast cereal flakes. Anthocyanin compounds found in red rice and black glutinous rice flakes can be damaged during the process. Stage of making a flake that can reduce levels of anthocyanins of red and black glutinous rice is boiling and drying. The design of the study is a randomized block design nested pattern, consisting of two factors. The first factor is the type of rice (the nest) namely red rice (M) and black glutinous rice (H). The second factor is boiling temperature (which is nested) are T_1 (70°C), T_2 (80°C) and T_3 (90°C). Parameters tested the levels of anthocyanin content, total phenolic content and antioxidant activity. The data obtained were subsequently analyzed by ANOVA at $\alpha = 5\%$. If there is a real effect, then continued with LSD test with $\alpha = 5\%$. The test results showed that the difference in boiling temperatures is caused a decrease in the levels of anthocyanin black glutinous rice flake, total phenolic content of red rice flakes and black glutinous rice and ferric reducing capacity of red rice and black rice flakes. The difference in boiling temperature had no significant effect on levels of anthocyanin of red rice flakes and radical DPPH scavenging activity of red rice and black glutinous rice flakes. The best treatment are flake with 80°C boiling temperature (T_2). Red and black glutinous rice flake with T_1 treatment has anthocyanin content are $5,9 \pm 1,5$ and $211,8 \pm 22,2$ $\mu\text{g/g}$, total phenolic are $291,8 \pm 15,0$ and $488,3 \pm 8,4$ $\mu\text{g/g}$, ferric reducing activity are $3,9 \pm 0,1$ and $4,9 \pm 0,3$ mg/g and radical scavenging activity are $49,51 \pm 2,14\%$ dan $46,73 \pm 1,44\%$.

Keywords: red rice, black glutinous rice, flake, boiling, anthocyanin, antioxidant

ABSTRAK

Beras merah dan beras ketan hitam mengandung pati tinggi dan bersifat mengenyangkan sehingga sesuai digunakan untuk bahan baku pembuatan sereal sarapan *flake*. Senyawa antosianin yang terdapat dalam *flake* beras merah dan ketan hitam dapat mengalami kerusakan selama proses. Tahapan pembuatan *flake* yang dapat menurunkan kadar antosianin beras merah dan ketan hitam adalah perebusan dan pengeringan. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) tersarang yang terdiri atas dua faktor. Faktor pertama adalah jenis beras (yang menjadi sarang) yaitu beras merah (M) dan beras ketan hitam (H). Faktor kedua adalah suhu perebusan (yang tersarang) yaitu T_1 (70°C), T_2 (80°C) dan T_3 (90°C). Parameter yang diuji yaitu kadar antosianin, kadar total fenolik serta aktivitas. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisa dengan ANOVA pada $\alpha = 5\%$. Data yang menunjukkan pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji LSD pada $\alpha = 5\%$. Hasil pengujian menunjukkan bahwa perbedaan suhu perebusan menyebabkan penurunan kadar antosianin *flake* beras ketan hitam, kadar total fenolik *flake* beras merah dan beras ketan hitam serta kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} *flake* beras merah dan ketan hitam. Perbedaan suhu perebusan tidak berpengaruh nyata pada kadar

antosianin *flake* beras merah dan kemampuan mereduksi radikal DPPH *flake* beras merah dan ketan hitam. Perlakuan terbaik yang dipilih adalah *flake* dengan suhu perebusan 80°C (T₁). *Flake* beras merah dan ketan hitam dengan perlakuan T₁ memiliki kadar antosianin 5,9±1,5 dan 211,8±22,2 µg/g, kadar total fenolik 291,8±15,0 dan 488,3±8,4 µg/g, kemampuan mereduksi ion Fe³⁺ 3,9±0,1 dan 4,9±0,3 mg/g sampel dan kemampuan menangkap radikal DPPH sebesar 49,51±2,14% dan 46,73±1,44%.

Kata kunci: beras merah, beras ketan hitam, *flake*, perebusan, antosianin, antioksidan

PENDAHULUAN

Rendahnya pemanfaatan beras merah dan beras ketan hitam disebabkan karena proses pemasakannya membutuhkan waktu yang lama. Hal ini dikarenakan beras merah dan beras ketan hitam masih memiliki lapisan di luar endosperma yaitu lapisan *aleurone* (Rahmat, 2010). Lapisan *aleurone* menghambat penyerapan air selama proses perebusan. Beras merah dan beras ketan hitam juga memiliki rasa yang khas (*nutty flavor*) yang menyebabkan orang tidak menyukainya.

Keunggulan beras merah dan beras ketan hitam terletak pada kandungan antosianin yang terletak pada lapisan *aleurone*nya (Yodmanee *et al.*, 2011). Kadar antosianin pada beras merah berkisar antara 0,33 – 1,39 mg/100 g, sedangkan kadar antosianin pada beras ketan hitam berkisar antara 109,52 – 256,61 mg/100 g (Sompong *et al.*, 2011). Antosianin merupakan senyawa yang baik untuk kesehatan karena memiliki aktivitas antioksidan (Abdel-Aal *et al.*, 2006). Antioksidan dapat mencegah masalah kesehatan dengan cara meredam radikal bebas yang menyebabkan kerusakan komponen sel yang berakibat pada timbulnya berbagai penyakit kronik degeneratif seperti kanker, arteriosklerosis, dan katarak (Webb, 2006).

Beras merah dan beras ketan hitam yang merupakan penghasil kalori dan bersifat *bulky* sangat sesuai digunakan untuk bahan baku pembuatan sereal sarapan. Sereal sarapan yang saat ini paling diminati adalah sereal sarapan *ready to eat* karena kepraktisan dan kemudahan dalam mengkonsumsi (Felicia, 2006). *Flake*

merupakan salah satu jenis sereal sarapan *ready to eat* dengan kadar air rendah dan tekstur renyah. Proses pembuatan *flake* sangat sederhana yaitu melalui tahap perebusan, pemipihan dan pengeringan (Matz, 1991). Pengolahan beras merah dan beras ketan hitam menjadi produk *flake* diharapkan dapat meningkatkan konsumsi kedua macam beras tersebut.

Senyawa antosianin yang terdapat dalam *flake* beras merah dan beras ketan hitam dapat mengalami kerusakan selama proses. Penelitian yang dilakukan oleh Hiemori *et al.* (2009) menunjukkan bahwa kadar antosianin beras selama pemasakan menurun dari 630 µg/g menjadi berkisar antara 130,67 – 221,50 µg/g. Suhu selama proses juga mempengaruhi seberapa besar penurunan antosianin dan aktivitas antioksidan produk. Suhu proses merupakan salah satu faktor yang menyebabkan ketidakstabilan antosianin (Laleh *et al.*, 2006). Tahapan pembuatan *flake* yang melibatkan panas dan dapat menurunkan kadar antosianin beras merah dan beras ketan hitam adalah tahapan perebusan dan pengeringan.

Suhu perebusan yang digunakan dalam pembuatan *flake* beras merah dan beras ketan hitam adalah 70,80 dan 90°C, disesuaikan dengan suhu gelatinisasi hingga puncak gelatinisasi keduanya yaitu 75,1-93,5°C untuk pati beras merah dan 71,2-94,0°C untuk pati beras ketan hitam (Indrasari *et al.*, 2008). Perebusan memungkinkan kerusakan dan kehilangan antosianin yang lebih tinggi dibandingkan dengan pengeringan karena bahan kontak langsung dengan medium pemanas (air) dan antosianin dapat mengalami *leaching* sehingga ikut terbuang bersama air

rebusan. Hal ini yang mendorong dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh suhu perebusan terhadap kadar antosianin dan aktivitas antioksidan *flake* beras merah dan *flake* beras ketan hitam serta menentukan suhu perebusan terbaik sehingga diperoleh *flake* dengan kadar antosianin dan aktivitas antioksidan yang tinggi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada pembuatan *flake* adalah beras merah (Finna dibeli di Finna Gift Shop), beras ketan hitam (Finna dibeli di Finna Gift Shop), air mineral merek (Aqua) dan kalsium laktat (Merck).

Bahan yang digunakan untuk analisa *flake* adalah larutan HCl 1 N, metanol, kertas saring whatman no. 42, buffer KCl 0,025 M (pH 1), buffer Na-asetat 0,4 M (pH 4,5), asam galat (0 – 4 mg/10 mL), reagen Folin-Ciocalteu, larutan Na-karbonat (75g/L), larutan 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), buffer asetat 300 mM (pH 3,6), larutan 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) 10mM, larutan FeCl₃.6H₂O 20 mM dan larutan FeSO₄.7H₂O (0 – 0,1 mmol/10mL).

Pembuatan *Flake* Beras Merah dan *Flake* Beras Ketan Hitam

Beras merah dan beras ketan hitam dicuci sebanyak dua kali menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, pasir dan sekam yang masih terikut pada beras. Beras merah dan beras ketan hitam direndam dalam air yang mengandung 3% kalsium laktat. Perbandingan banyaknya beras dan air adalah 1:3. Perendaman beras dilakukan selama 6 jam lalu ditiriskan dengan saringan. Masing-masing beras ditimbang kemudian dibagi menjadi 3 perlakuan. Beras merah dan beras ketan hitam yang telah direndam kemudian direbus dengan perbandingan beras:air adalah 1:2. Perebusan dilakukan menggunakan beker yang dialasi kasa dan

alas besi diatas kompor pada suhu sesuai perlakuan selama 30 menit. Perebusan dilakukan dalam keadaan tertutup aluminium foil untuk mengurangi penguapan air. Pemipihan dilakukan setelah perebusan menggunakan alat *flaking roller*. Beras yang telah direbus dilewatkan pada kedua silinder berputar sehingga diperoleh bentuk yang pipih. Penuangan beras ke dalam *roller* dilakukan bergantian setiap perlakuan dan beras dituang dengan jumlah yang sama setiap pemipihan agar homogen. Beras yang telah dipipihkan ditempatkan pada loyang yang sudah dialasi dengan kain. Loyang yang digunakan adalah loyang berlubang. Beras merah dan beras ketan hitam yang telah dipipihkan selanjutnya dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* dengan suhu 70°C. Pengeringan dilakukan selama 4 jam hingga mencapai kadar air 3-5% (Felicia, 2006).

Pembuatan Ekstrak *Flake* Beras Merah dan Beras Ketan Hitam

Flake dihancurkan menggunakan mortar dan penumbuk. *Flake* beras merah dan beras ketan hitam yang telah dihancurkan selanjutnya ditimbang secara analitis sebanyak 1 gram dalam tabung *sentrifuge* kemudian tabung *sentrifuge* dibungkus dengan *aluminium foil*. Sampel ditambahkan dengan pelarut metanol-HCl 1 N dengan perbandingan 85:15 (v/v). Sampel yang telah ditambah dengan pelarut selanjutnya diletakkan dalam *waterbath* pada kecepatan 125 rpm selama 4 jam pada suhu 25°C. Sampel disimpan dalam *freezer* pada 4°C selama 48 jam. Sampel disentrifugasi dan disaring menggunakan kertas saring Whatman dan hasil filtrasinya ditampung di dalam tabung *vacutainer* yang telah dibungkus dengan *aluminium foil*. Ekstrak *flake* selanjutnya dapat dianalisa.

Kadar Total Antosianin

Pengujian kadar total antosianin dilakukan dengan dua metode yaitu metode standar dan metode pH *differential*. Pengujian kadar total antosianin dengan

metode standar digunakan untuk menentukan kadar antosianin dalam sampel ekstrak *flake* yang dinyatakan dalam μg cyanidin 3-glucoside ekuivalen/100 g sampel (Sompong *et al.*, 2011). Cyanidin 3-glucoside digunakan sebagai standar karena merupakan senyawa antosianin yang paling dominan terdapat dalam beras merah dan beras ketan hitam. Pengujian kadar total antosianin dengan metode pH *differential* bertujuan untuk mengetahui jumlah total monomer antosianin dalam sampel ekstrak *flake* beras merah dan beras ketan hitam. Prinsip pengujian kadar total antosianin dengan metode pH *differential* adalah perubahan struktur antosianin akibat perubahan pH yang dinyatakan dengan perbedaan absorbansi (Giusti dan Wrolstad, 2001). Antosianin pada pH 1 membentuk struktur oxonium yang berwarna orange hingga ungu sedangkan pada pH 4,5 membentuk struktur hemiketal yang tidak berwarna.

Kadar Total Fenol

Pengujian total polifenol bertujuan untuk mengukur total fenolik dalam ekstrak *flake* beras merah dan beras ketan hitam dengan metode *Folin-Ciocalteu*. Prinsip pengujian total fenolik adalah oksidasi reagen *molybdotungstate* oleh senyawa fenol menghasilkan produk berwarna (Yodmanee *et al.*, 2011).

Kemampuan Menangkal Radikal Bebas DPPH

Prinsip pengujian *radical scavenging activity* dengan metode DPPH adalah mengukur kemampuan antioksidan menangkap radikal DPPH (Prior *et al.*, 2005). Prinsip uji DPPH didasarkan pada reaksi penangkapan atom hidrogen oleh DPPH dari senyawa antioksidan. Reagen DPPH berperan sebagai radikal bebas yang ditangkap oleh senyawa antioksidan yang terkandung dalam sampel. DPPH akan tereduksi menjadi senyawa difenil pikrilhidrazin (DPPH-H). Reduksi DPPH menjadi DPPH-H menyebabkan perubahan warna pada reagen DPPH dari ungu menjadi kuning. Warna berubah dari ungu

menjadi kuning karena absorptivitas molar dari radikal DPPH pada 517 nm berkurang dari 9660 – 1640 saat elektron yang tidak berpasangan pada radikal DPPH menjadi berpasangan dengan hidrogen dari antioksidan untuk membentuk DPPH-H tereduksi (Yodmanee *et al.*, 2011).

Kemampuan Mereduksi Ion Besi

Prinsip uji FRAP adalah mengukur kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi kompleks Fe(III)-TPTZ (2,4,6-tripyridyl-striazine) menjadi Fe(II)-TPTZ pada reagen FRAP (Sompong *et al.*, 2011).

Analisis Statistik

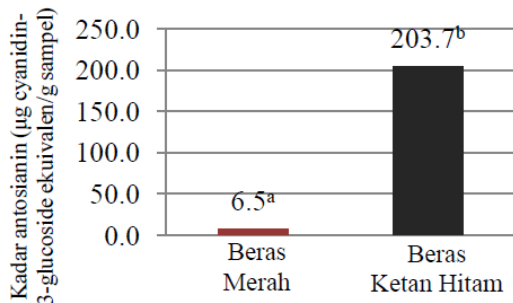
Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak kelompok (RAK) tersarang yang terdiri atas dua faktor. Faktor pertama adalah jenis beras (yang menjadi sarang) yaitu beras merah (M) dan beras ketan hitam (H). Faktor kedua adalah suhu perebusan (yang tersarang) yaitu T_1 (70°C), T_2 (80°C) dan T_3 (90°C). Parameter yang diuji yaitu kadar antosianin, kadar total fenolik serta aktivitas. Data yang diperoleh selanjutnya dianalisa dengan ANOVA pada $\alpha = 5\%$. Data yang menunjukkan pengaruh nyata dilanjutkan dengan uji LSD pada $\alpha = 5\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian pada Gambar 1. menunjukkan rata-rata kadar antosianin *flake* beras merah dan beras ketan hitam. Hasil ANOVA menunjukkan ada pengaruh jenis beras dan suhu perebusan terhadap kadar antosianin *flake* beras merah dan ketan hitam. Hasil pengujian kadar total antosianin dengan metode standar diketahui bahwa perbedaan jenis beras dan suhu perebusan berpengaruh nyata pada kadar antosianin *flake*. Kadar antosianin *flake* beras ketan hitam jauh lebih tinggi dibandingkan pada *flake* beras merah. Hasil penelitian pada Gambar 2 menunjukkan rata-rata kadar antosianin *flake* beras merah dan beras ketan hitam pada suhu perebusan yang berbeda-beda. Kadar antosianin *flake* beras merah tidak

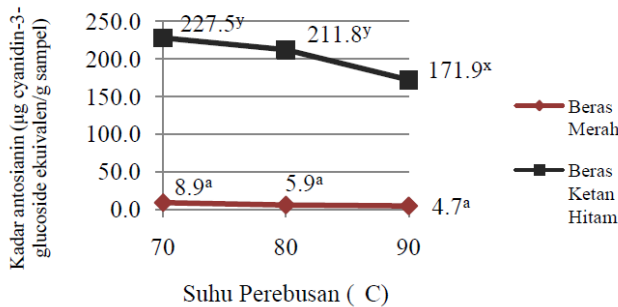
menunjukkan perbedaan nyata pada suhu perebusan yang berbeda-beda.

Gambar 1. Grafik Kadar Total Antosianin



Bahan Baku *Flake*

Flake Beras Merah dan Ketan Hitam (Metode Standar)

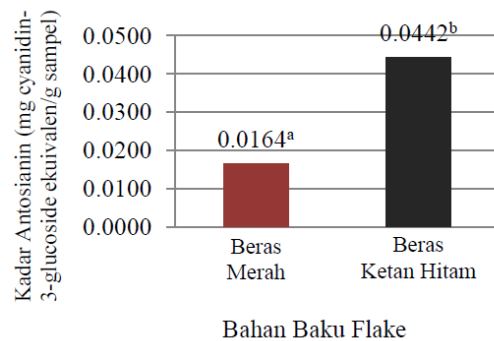


Gambar 2. Kadar Antosianin *Flake* Beras Merah dan Ketan Hitam pada Suhu Perebusan yang Berbeda (Metode Standar)

Kadar antosianin *flake* beras merah berkisar antara 4,7 – 8,9 µg *cyanidin-3-glucoside* ekuivalen/g sampel. Kadar antosianin *flake* beras ketan hitam menunjukkan perbedaan nyata dengan suhu perebusan yang berbeda. Kadar antosianin *flake* beras ketan hitam dengan perlakuan HT₁ (70°C) dan HT₂ (80°C) tidak menunjukkan beda nyata dan menunjukkan beda nyata dengan kadar antosianin *flake* beras ketan hitam pada perlakuan HT₃ (90°C). Semakin tinggi suhu perebusan maka semakin tinggi pula panas dari medium pemanas (air) yang terpenetrasi ke dalam bahan. Hal ini menyebabkan semakin banyak antosianin yang terdegradasi dan mengalami polimerisasi sehingga kadar antosianin yang terukur semakin rendah.

Hasil penelitian pada Gambar 3. menunjukkan rata-rata kadar antosianin *flake* beras merah dan beras ketan hitam. Hasil pengujian pada Tabel 1 menunjukkan kadar total antosianin pada *flake* beras merah dan ketan hitam akibat pengaruh suhu perebusan. Hasil pengujian kadar antosianin *flake* beras merah dan beras ketan hitam menunjukkan adanya perbedaan nyata karena perbedaan jenis beras. Kadar antosianin *flake* beras merah lebih rendah dibandingkan dengan kadar antosianin *flake* beras ketan hitam. Hasil ini sebanding dengan kadar total antosianin yang diuji dengan metode standar. Kadar antosianin *flake* beras ketan hitam sebesar 203,7 µg/g sampel sedangkan *flake* beras merah sebesar 6,5 µg/g sampel.

Gambar 3. Kadar Antosianin *Flake* Beras Merah dan Ketan Hitam (Metode pH differential)



Tabel 1. Kadar Antosianin *Flake* Beras Merah (M) dan Ketan Hitam (H) pada Suhu Perebusan yang Berbeda (Metode pH differential)

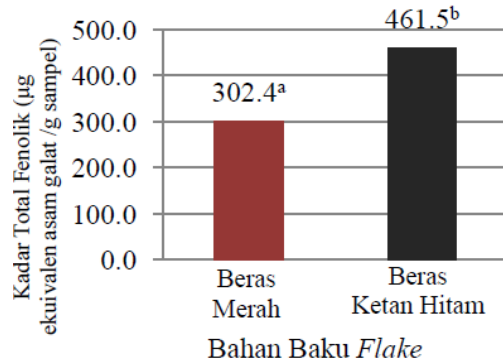
Suhu Perebusan	Kadar Monomer Antosianin (mg <i>cyanidin-3-glucoside</i> ekuivalen/g sampel)	
	M	H
T1 (70°C)	0,0197	0,0389
T2 (80°C)	0,0136	0,0537
T3 (90°C)	0,0159	0,0399

Perbedaan suhu perebusan tidak berpengaruh nyata pada kadar antosianinnya. Kadar antosianin yang terukur dengan metode pH differential dinyatakan dalam mg *cyanidin-3-glucoside* ekuivalen. Penurunan kadar antosianin yang terukur disebabkan oleh degradasi

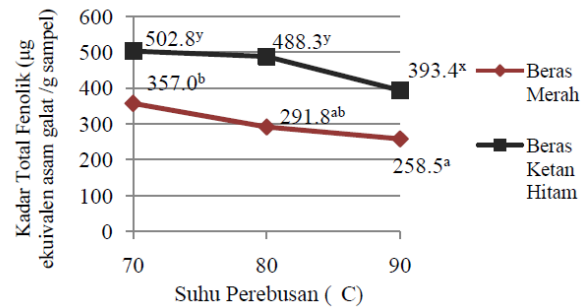
antosianin yang menghasilkan senyawa yang tidak lagi mampu membentuk struktur oxonium dan hemiketal akibat perubahan tingkat keasaman. Polimerisasi antosianin juga menyebabkan penurunan kadar antosianin yang terukur. Antosianin dalam bentuk polimer tidak dapat terukur dengan metode pH *differential* karena dapat menyerap cahaya pada pH 1 maupun pH 4,5 (Lee, 2005).

Hasil penelitian pada Gambar 4 menunjukkan rata-rata total fenolik *flake* beras merah dan beras ketan hitam. Hasil penelitian pada Gambar 5 menunjukkan kadar total fenolik akibat perbedaan suhu perebusan pada beras merah dan ketan hitam. Hasil pengujian kadar total fenolik menunjukkan bahwa kadar total fenolik pada beras ketan hitam lebih tinggi dibandingkan dengan beras merah. Senyawa fenolik umumnya terikat pada *pericarp* beras. Semakin gelap warna *pericarp*, beras mengandung lebih banyak fenolik. Total fenolik yang terukur juga termasuk antosianin dan senyawa fenolik lain pada beras yaitu asam fenolik. Asam fenolik yang terdapat pada beras merah dan ketan hitam antara lain *ferulic*, *caffeic* dan *protocatechuic acid* (Morimitsu *et al.*, 2002 dalam Walter dan Marchesan, 2011). Kadar antosianin beras ketan hitam lebih tinggi dibandingkan dengan beras merah. Asam fenolik pada beras dengan *pericarp* berwarna coklat muda berkisar antara 70-90% sedangkan pada beras dengan *pericarp* berwarna hitam sekitar 85% (Walter dan Marchesan, 2011). Suhu perebusan yang berbeda menyebabkan kadar antosianin berbeda nyata baik pada *flake* beras merah maupun *flake* beras ketan hitam. Penurunan kadar fenolik disebabkan karena degradasi antosianin akibat panas (Reblova, 2012). Degradasi antosianin *flake* beras merah dan beras ketan hitam pada suhu perebusan 90°C menunjukkan beda nyata dibandingkan dengan perlakuan suhu perebusan 70°C dan 80°C. Degradasi antosianin pada beras merah dan ketan hitam berpengaruh nyata terhadap kadar fenolik *flake* beras merah dan ketan hitam pada suhu perebusan 90°C

dibandingkan dengan perlakuan suhu perebusan 70°C dan 80°C.



Gambar 4. Kadar Total Fenolik *Flake* Beras Merah dan Ketan Hitam



Gambar 5. Kadar Total Fenolik *Flake* Beras Merah dan Ketan Hitam pada Suhu Perebusan yang Berbeda

Tabel 2. Kemampuan Mereduksi Ion Fe³⁺ *Flake* Beras Merah (M) dan Ketan Hitam (H)

Jenis Beras	Kemampuan Mereduksi Ion Fe ³⁺	
	(mg Fe ²⁺ ekuivalen/g sampel)	
M	4,1326	
H	5,0660	

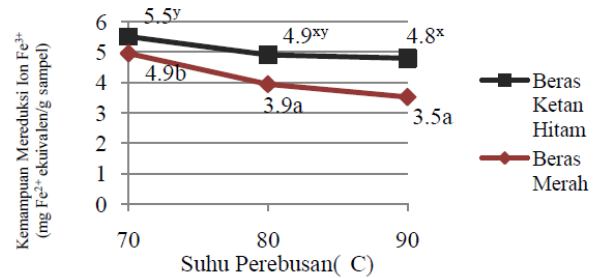
Hasil penelitian pada Tabel 2. menunjukkan kemampuan menangkap radikal DPPH *flake* beras merah dan ketan hitam. Hasil ANOVA menunjukkan tidak ada pengaruh jenis beras dan suhu perebusan terhadap kemampuan menangkap radikal DPPH *flake* beras merah dan ketan hitam. Jenis beras tidak berpengaruh nyata pada kemampuan menangkap radikal DPPH. Menurut Sompong *et al.* (2011), beras dengan warna yang berbeda tidak menunjukkan aktivitas antioksidan yang berbeda secara signifikan. Hal ini

disebabkan karena aktivitas pendonoran hidrogen pada radikal DPPH melibatkan banyak senyawa pada beras antara lain antosianin, asam fenolik, vitamin bahkan hasil degradasi antosianin yaitu *protocatechuic acid* (PCA) juga dapat berperan dalam penghambatan senyawa radikal DPPH. Perbedaan suhu perebusan tidak berpengaruh nyata pada aktivitas antioksidan dengan metode DPPH disebabkan karena penurunan kadar antosianin pada *flake* beras merah maupun beras ketan hitam diduga sebanding dengan peningkatan kadar *protocatechuic acid* yang juga berperan dalam aktivitas penghambatan DPPH. Perebusan beras pada suhu 100°C selama 30 menit dapat menurunkan kadar *cyanidin-3-glucoside* menjadi 20% sedangkan kadar *protocatechuic acid* meningkat menjadi 60% (Hiemori *et al.*, 2009). Hal ini menyebabkan tidak adanya pengaruh perbedaan suhu perebusan terhadap kadar antosianin *flake* beras merah dan ketan hitam.

Hasil ANOVA menunjukkan ada pengaruh suhu perebusan terhadap kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} *flake* beras merah dan ketan hitam, namun perbedaan jenis beras tidak menunjukkan pengaruh terhadap kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} . Hasil pengujian pada Tabel 3 menunjukkan kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} pada *flake* beras merah dan beras ketan hitam tidak menunjukkan beda nyata. Hasil pengujian pada Gambar 6 menunjukkan pengaruh suhu perebusan terhadap kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} . Perbedaan jenis beras tidak menyebabkan perbedaan nyata terhadap kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} .

Tabel 3. Kemampuan Menangkap Radikal DPPH *Flake* Beras Merah (M) dan Ketan Hitam (H) pada Suhu Perebusan yang Berbeda

Suhu Perebusan	Aktivitas Antioksidan (%)	
	M	H
T1 (70°C)	43,64	46,73
T2 (80°C)	49,51	46,73
T3 (90°C)	46,94	46,41



Gambar 6. Kemampuan Mereduksi Ion Fe^{3+} *Flake* Beras Merah dan Ketan Hitam pada Suhu Perebusan yang Berbeda

Menurut Ebrahimzadeh *et al.* (2008), tidak semua ekstrak dengan kadar fenol dan flavonoid yang tinggi menunjukkan aktivitas pengkelatan Fe^{2+} yang tinggi pula. Tidak semua senyawa fenolik baik antosianin maupun asam fenolik dapat mereduksi ion Fe^{3+} . Hal ini menyebabkan *flake* beras ketan hitam dengan kadar antosianin dan fenolik yang lebih tinggi dari *flake* beras merah tidak secara langsung memiliki kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} yang lebih tinggi pula. Pengaruh suhu perebusan terhadap kemampuan mereduksi ion *ferris* menunjukkan perbedaan nyata pada suhu perebusan yang berbeda. Kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} *flake* beras merah dengan perlakuan suhu perebusan 70°C berbeda nyata dengan perlakuan suhu perebusan 80 dan 90°C. Kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} *flake* beras ketan hitam dengan perlakuan suhu perebusan 70°C berbeda nyata dengan perlakuan suhu perebusan 90°C. Penurunan kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} akibat pengaruh suhu disebabkan oleh degradasi dan polimerisasi senyawa antosianin. Degradasi antosianin menjadi *protocatechuic acid* menurunkan kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} karena *protocatechuic acid* yang merupakan salah satu jenis asam fenolik lebih efektif dalam aktivitas pendonoran hidrogen dan reaksi penghambatan radikal (Pokorny *et al.*, 2001). Polimerisasi antosianin juga menurunkan kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} karena gugus orto hidroksi yang berperan dalam pengkelatan telah berikatan dengan gugus fungsional dari senyawa lain.

Hasil ANOVA menunjukkan tidak ada pengaruh jenis beras dan suhu perebusan terhadap kemampuan menangkap radikal DPPH *flake* beras merah dan ketan hitam. Hasil pengujian pada Tabel 4 menunjukkan kemampuan menangkap radikal DPPH *flake* beras merah dan ketan hitam. Jenis beras tidak berpengaruh nyata pada kemampuan menangkap radikal DPPH. Menurut Sompong *et al.* (2011), beras dengan warna yang berbeda tidak menunjukkan aktivitas antioksidan yang berbeda secara signifikan. Hal ini disebabkan karena aktivitas pendonoran hidrogen pada radikal DPPH melibatkan banyak senyawa pada beras antara lain antosianin, asam fenolik, vitamin bahkan hasil degradasi antosianin yaitu *protocatechuic acid* (PCA) juga dapat berperan dalam penghambatan senyawa radikal DPPH. Aktivitas penghambatan radikal DPPH oleh PCA lebih besar dibandingkan dengan trolox dan BHT (Li *et al.*, 2011). Perbedaan suhu perebusan tidak berpengaruh nyata pada aktivitas antioksidan dengan metode DPPH disebabkan karena penurunan kadar

antosianin pada *flake* beras merah maupun beras ketan hitam diduga sebanding dengan peningkatan kadar *protocatechuic acid* yang juga berperan dalam aktivitas penghambatan DPPH. Perebusan beras pada suhu 100°C selama 30 menit dapat menurunkan kadar *cyanidin-3-glucoside* menjadi 20% sedangkan kadar *protocatechuic acid* meningkat menjadi 60%. Hal ini menyebabkan tidak adanya pengaruh perbedaan suhu perebusan terhadap kadar antosianin *flake* beras merah dan ketan hitam.

Hasil pengujian kadar antosianin, total fenolik dan aktivitas antioksidan secara keseluruhan memiliki kecenderungan bahwa suhu perebusan 70°C dan 80°C dapat menghasilkan produk *flake* dengan kadar antosianin, total fenolik dan aktivitas antioksidan yang tinggi. Pemilihan satu suhu perebusan yang terbaik dilakukan dengan mempertimbangkan sifat fisikokimia dan organoleptik produk.

Tabel 4. Kandungan Senyawa Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan *Flake* Beras Merah dan Beras Ketan Hitam pada Suhu Perebusan yang Berbeda

Perlakuan	Parameter				
	Kadar Antosianin Standar ($\mu\text{g/g}$)	Kadar Antosianin pH differential (mg/g)	Kadar Total Fenolik ($\mu\text{g/g}$)	FRAP (mg/g)	DPPH (%)
MT1	8,9294 ^a	0,0197 ^a	357,0033 ^b	4,9484 ^b	43,64 ^a
MT2	5,9350 ^a	0,0136 ^a	291,8194 ^{ab}	3,9384 ^a	49,51 ^a
MT3	4,6835 ^a	0,0159 ^a	258,4843 ^a	3,5111 ^a	46,94 ^a
HT1	227,5331 ^y	0,0389 ^x	502,8053 ^y	5,5037 ^y	46,73 ^x
HT2	211,8332 ^y	0,0537 ^x	488,3451 ^y	4,9068 ^{xy}	46,73 ^x
HT3	171,8692 ^x	0,0399 ^x	393,3986 ^x	4,7875 ^x	46,41 ^x

Chandra (2011) dalam penelitiannya memperoleh hasil bahwa *flake* beras merah dengan suhu perebusan 80°C dan suhu pengeringan 70°C yang memiliki kadar air 5,35%, kekerasan 170,06 N, daya rehidrasi 198,37%, lightness 48,90; chroma 21,44; hue 39,88; nilai organoleptik rasa, rasa berpati, dan mouthfeel sebesar 5,60; 5,12 dan 5,55, protein 8,97%, abu 2,11%, lemak 2,40% dan karbohidrat 81,17%. *Flake* beras ketan hitam dengan perlakuan suhu

perebusan 80°C lebih disukai secara organoleptik, daya rehidrasi tinggi dan tekstur tidak terlalu keras dibandingkan dengan perlakuan suhu perebusan 70°C (Gunawan, 2012). Perlakuan suhu perebusan yang dipilih untuk pembuatan *flake* beras merah dan ketan hitam adalah suhu perebusan 80°C. Suhu perebusan ini dipilih karena kadar antosianin, total fenolik dan aktivitas antioksidannya tidak berbeda nyata dengan perlakuan suhu perebusan

70°C namun *flake* lebih disukai secara organoleptik dan sifat fisikokimia.

KESIMPULAN

Suhu perebusan menyebabkan penurunan kadar antosianin flake beras ketan hitam, kadar total fenolik dan kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} flake beras merah dan ketan hitam. Suhu perebusan tidak berpengaruh nyata pada kadar antosianin flake beras merah dan kemampuan menangkap radikal DPPH flake beras merah dan ketan hitam. Flake beras merah dan ketan hitam perlakuan terbaik adalah flake beras merah dan ketan hitam dengan perlakuan suhu perebusan 80°C yang memiliki kadar antosianin berturut-turut sebesar $5,9 \pm 1,5$ dan $211,8 \pm 22,2$ μg *cyandin-3-glucoside* ekuivalen/g sampel, kadar total fenolik berturut-turut sebesar $291,8 \pm 15,0$ dan $488,3 \pm 8,4$ μg ekuivalen asam galat/g sampel, kemampuan mereduksi ion Fe^{3+} berturut-turut sebesar $3,9 \pm 0,1$ dan $4,9 \pm 0,3$ mg Fe^{2+} ekuivalen/g sampel dan kemampuan menangkap radikal DPPH berturut-turut sebesar $49,51 \pm 2,14\%$ dan $46,73 \pm 1,44\%$.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Aal, E. M., J.C. Young dan I. Rabalski. 2006. Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple, and Red Cereal Grains. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 4696-4704.
- Chandra, L. 2012. Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Flake Beras Merah dengan Variasi Suhu Perebusan dan Suhu Pengeringan. Thesis-S1, Fakultas Teknologi Pertanian UKWMS, Surabaya.
- Ebrahimzadeh, M.A., F. Pourmorad dan A.R. Bekhradnia. 2008. Iron Chelating Activity, Phenol and Flavonoid Content of Some Medicinal Plants from Iran. *African Journal of Biotechnology*, 7(18), 3188-3192.
- Felicia, A. 2006. Pengembangan Produk Sereal Sarapan Siap Santap Berbasis Sorghum. Thesis S-1, Fakultas Teknologi Pertanian IPB, Bogor.
- Giusti, M. dan R.E. Wrolstad. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. F1.2.1-F1.2.13.
- Gunawan, G. 2012. Sifat Fisikokimia dan Organoleptik Flake Beras Ketan Hitam dengan Variasi Suhu Perebusan dan Suhu Pengeringan. Thesis-S1, Fakultas Teknologi Pertanian UKWMS, Surabaya.
- Hiemori, M., E. Koh dan A.E. Mitchell. 2009. Influence of Cooking on Anthocyanins in Black Rice (*Oryza sativa* L. japonica var SBR). *J. Agric. Food Chem.*, 57 (5), 1908-1914.
- Indrasari, S.D., E.Y. Purwani, P. Wibowo, dan Jumali. 2008. J. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan, 27 (3), 127-134.
- Laleh, G.H., H. Frydoonfar, R. Heidary, R. Jameei, dan S. Zare. 2006. The Effect of Light, Temperature, pH and Species on Stability of Anthocyanin Pigments in Four Berberis Species. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5 (1), 90-92.
- Lee, J., R.W. Durst, dan R.E. Wrolstad. 2005. Determination of Total Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269-1278.
- Li, X., X. Wang, D. Chen dan S. Chen. 2011. Antioxidant Activity and Mechanism of *Protocatechuic acid* in Vitro. <http://www.functionalfoodscenter.net/files/46832219.pdf> (19 September 2012).

- Matz, S.A. 1991. *Cereals as Food and Feed*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Pokorny, J., N. Yanisliewa, dan M. Gordon. 2001. *Antioxidants in Food: Practical Application*. http://www.123foodscience.com/food_chemistry/Sources_of_natural_antioxidants.pdf (8 Mei 2012).
- Prior, R.L., X. Wu, dan K. Schaich. 2005. *Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements*. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 4290-4302.
- Rahmat, R. 2010. *Stabilisasi Mutu Beras Pecah Kulit Melalui Penerapan Teknologi Penyimpanan Hermetik*. <http://www.majalahpangan.com/2010/04/stabilisasi-mutu-beras-pecah-kulit-melalui-penerapan-teknologi-penyimpanan-hermetik/> (6 Maret 2012).
- Sompong, R., S. Siebenhandl-Ehn, G. Linsberger-Martin, dan E. Berghofer. 2011. *Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka*. *Elsevier Appl. Sci. Pbl.*, 124, 132-140.
- Reblova, Z. 2012. *Effect of Temperature on the Antioxidant Activity of Phenolic Acids*. *Czech. J. Food Sci.*, 30 (2), 171-177.
- Walter, M. dan E. Marchesan. 2011. *Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Rice*. *J. Braz. Arch. Biol. Technol.*, 54 (2), 371-377.
- Webb, G.P. 2006. *Dietary Supplements and Functional Foods*. United Kingdom: Blackwell Publishing, Ltd.
- Yodmanee, S., T.T. Karrila, dan P. Pakdeechanuan. 2011. *Physical, Chemical and Antioxidant Properties of Pigmented Rice Grown in Southern Thailand*. *International Food Research Journal*, 18 (3), 901-906.