



p-ISSN: 1907-8056
e-ISSN: 2527-5410

journal homepage: journal.trunojoyo.ac.id/agrointek

AGROINTEK

Jurnal Teknologi Industri Pertanian



PROGRAM STUDI TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN | FAKULTAS PERTANIAN | UNIVERSITAS TRUNOJOYO MADURA
Kampus UTM, Telang, PO. BOX 2 Kamal – Bangkalan, Email: tip.fp@trunojoyo.ac.id

Nomor 01.110/AGROINTEK/11/2021

Monday, 29 November 2021

Dear Nurhidajah Nurhidajah

MANUSCRIPT #12194

Your manuscript entitled EFEKTIVITAS BERBAGAI PELARUT ORGANIK PADA EKSTRAKSI SENYAWA FUNGSIONAL BERAS HITAM has been **accepted** for publication in Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian. We thank you for your contribution in Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian and encourage you to submit other articles to the journal.

Yours Sincerely,

The image shows a handwritten signature in black ink, appearing to read "Umi Purwandari", written over the journal's logo. The logo consists of a stylized orange and red 'A' and 'R' shape, with the word "AGROINTEK" in bold capital letters below it, followed by the smaller text "Jurnal Teknologi Industri Pertanian".

Prof. Umi Purwandari
Editor in chief
Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian



journal homepage: journal.trunojoyo.ac.id/agrointek |
agrointek@trunojoyo.ac.id

SURAT PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa saya setuju artikel dengan judul Efektivitas Berbagai Pelarut Organik pada Ekstraksi Senyawa Fungsional Beras Hitam untuk diterbitkan pada Agrointek.

Artikel tersebut merupakan karya tulis ilmiah asli dari Tim Penulis dan belum pernah dan tidak sedang dalam proses untuk diterbitkan di media publikasi manapun.

Artikel tersebut harap diterbitkan dengan urutan penulis sebagai berikut :

1. Nurhidajah
(nurhidajah@unimus.ac.id)
Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang, Indonesia
2. Ali Rosidi
(alirhesa@yahoo.co.id)
Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang, Indonesia
3. Yunan Kholidatuddin Sya'di
(sya'di.yk@unimus.ac.id)
Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang, Indonesia
4. Diode Yonata
(yonata@unimus.ac.id)
Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang, Indonesia

Penulis Utama dari artikel adalah Nurhidajah. Penulis Korespondensi dari artikel ini adalah Nurhidajah. Untuk proses revisi selanjutnya dilakukan oleh Penulis Utama

Selama proses telaah artikel, revisi, dan **belum ada keputusan penerbitan**, Tim Penulis tidak akan menerbitkan artikel tersebut dalam jurnal lain.

Semarang, 01 Oktober 2021
Atas Nama Tim Penulis,


(Nurhidajah)



EFEKTIVITAS BERBAGAI PELARUT ORGANIK PADA EKSTRAKSI SENYAWA FUNGSIONAL BERAS HITAM

Nurhidajah^{1*}, Ali Rosidi², Yunan Khalifatuddin Sya'di¹, Diode Yonata¹

¹Teknologi Pangan, Universitas Muhammadiyah Semarang

²Ilmu Gizi, Universitas Muhammadiyah Semarang

Article history

Diterima:

xx bulan tahun

Diperbaiki:

xx bulan tahun

Disetujui:

xx bulan tahun

Keyword

Black rice; functional compounds; extraction; organic solvent;

ABSTRACT

Functional compounds from black rice were extracted conventionally using organic solvents, namely ethanol-distilled water and ethanol-distilled water-acid (acetic acid and a mixture of lactic acid and acetic acid) along with distilled water as control. The effectiveness of each solvent was determined by analysis of functional compounds contents (anthocyanin content, flavonoids, total phenolic, and antioxidant activity), pH value, and the resulting color characteristics. The ethanol-distilled water-citric acid solvent produced significantly higher levels of anthocyanin, total phenolic, and antioxidant activity, with the lowest extraction pH, but produced fewer flavonoids. Red-purple black rice extract has the lowest brightness. The ethanol-distilled water-citric acid solvent has the best effectiveness in the extraction of black rice functional compounds.

© hak cipta dilindungi undang-undang

*Penulis korespondensi
Email : nurhidajah@unimus.ac.id
DOI

PENDAHULUAN

Beras hitam merupakan jenis beras berpigmen, yang banyak mengandung komponen gizi dan bioaktif. Senyawa bioaktif beras hitam memiliki efek kesehatan yang telah terkonfirmasi, dan potensial dikembangkan sebagai pangan fungsional (Ito et al., 2019). Antosianin merupakan senyawa utama dalam beras hitam. Pigmen alami golongan flavonoid tersebut bertanggung jawab atas warna hitam pada beras (Nakagawa & Maeda, 2017). Antosianin pada beras hitam diketahui lebih tinggi dari beras berpigmen lainnya (Fatchiyah et al., 2020).

Pigmen antosianin beras hitam memiliki warna yang beragam, mulai dari merah hingga ungu. Semakin tinggi antosianin beras hitam, warna pigmen cenderung merah-keunguan dengan intensitas kecerahan yang rendah. Pigmen alami ini larut dalam air dan stabilitasnya sangat tergantung pada pH, sehingga pelarut memainkan peranan penting pada proses ekstraksi (do Carmo Brito et al., 2017; Ito et al., 2019; Liu et al., 2018). Metanol dan asam klorida umumnya digunakan untuk mengekstrak antosianin. Namun, keamanan pelarut menjadi perhatian karena toksisitas yang sangat tinggi.

Pelarut etanol menjadi pilihan terbaik, mengingat toksisitasnya lebih rendah. Kelarutan molekul antosianin berbanding lurus dengan konsentrasi etanol. Ketika konsentrasi etanol semakin meningkat, senyawa pengotor pada beras **di amati** ikut terisolasi, sehingga kualitas dan kuantitas antosianin menurun. Etanol 5% diketahui konsentrasi yang optimal dalam menghasilkan ekstrak tinggi antosianin. Pelarut etanol dapat dikombinasikan dengan penambahan asam organik, dengan tujuan menurunkan pH pelarut (Jha et al., 2017; Le et al., 2019). Pelarut dengan pH yang rendah cenderung

lebih mudah merusak membran sel, pada saat yang sama senyawa antioksidan larut air lainnya seperti flavonoid, hingga fenol akan terisolasi secara signifikan, yang diikuti dengan peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak (Chaudhary & Mukhopadhyay, 2012).

Beberapa penelitian telah melaporkan efektivitas pelarut organik (etanol-akuades-asam), seperti pelarut etanol-akuades-asam asetat (ET-AK-AA) pada ekstraksi senyawa fungsional buah kersen (Kopjar et al., 2014), etanol-akuades-asam laktat (ET-AK-AL) pada ekstraksi senyawa fungsional jagung ungu (Fernandez-Aulis et al., 2019) dan etanol-akuades-asam sitrat (ET-AK-AA) pada ekstraksi senyawa fungsional wortel hitam (Espinosa-Acosta et al., 2018). Studi terkait efektivitas berbagai pelarut organik (ET-AK-AA, ET-AK-AL dan ET-AK-AA) terhadap senyawa fungsional beras hitam belum pernah dilaporkan. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui pelarut organik terbaik (ET-AK-AA, ET-AK-AL dan ET-AK-AA) dalam proses ekstraksi senyawa fungsional beras hitam dengan parameter kadar antosianin, flavonoid, total fenolik, aktivitas antioksidan, warna (L^* , a^* , b^* , H° dan C) dan pH ekstrak.

METODE

Bahan penelitian meliputi beras hitam varietas Jeliteng yang berasal dari petani beras organik wilayah Karanganyar, Jawa Tengah. Asam asetat (Lotte BP Chemicals Co., Ltd.), asam laktat (Foodchem International Corporation), asam sitrat (PT Gunacipta Multirasa) dan akuades. Bahan kimia meliputi etanol, $C_2H_5NaO_2$, KCl, $AlCl_3$, CH_3COOK , $C_{15}H_{10}O_7$ (quercecin), Folin-Ciocalteu, dan Na_2CO_3 pro analisis dari Merck, reagen 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan $C_7H_6O_5$ (asam galat) pro analisis dari Sigma-Aldrich.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *rotary vacuum evaporator* (Biobase RE-52A), timbangan digital (Kengko), pH meter (Hanna HI-2211), *Chromameter Minolta* (CR-310), spektrofotometer UV-Vis (Aamtast-AMV09), dan mikropipet (Endo Pro).

Proses Ekstraksi Komponen Fungsional Beras Hitam

Ekstraksi komponen fungsional beras hitam mengacu pada penelitian Patchiyah et al. (2020) dan Wartini et al. (2020) yang dimodifikasi. Beras hitam digiling hingga diperoleh tepung kasar, kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca. Pelarut etanol-akuades (ET-AK), pelarut ET-AK-AA, ET-AK-AL, ET-AK-AA dan akuades (AK) sebagai kontrol disiapkan. Konsentrasi etanol yang digunakan adalah 55% dalam akuades, kemudian ditambahkan asam organik (AA, AL dan AS) masing-masing 3% (b/v) dari total pelarut (ET-AK). Perbandingan beras hitam : pelarut adalah 1:10 (b/v). Proses ekstraksi dilakukan selama 24 jam pada suhu ruang ($\pm 27^{\circ}\text{C}$), dalam botol kaca kedap cahaya. Ekstrak kasar kemudian disaring, filtrat yang diperoleh selanjutnya diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60 °C hingga diperoleh hasil akhir berupa ekstrak kental ($\pm 10\%$ dari total pelarut).

Analisis Antosianin

Metode pH differensial digunakan dalam penetapan kadar antosianin ekstrak (Yamuangmorn et al., 2018). Sebanyak 1 ml ekstrak dipipet ke dalam dua tabung reaksi kedap cahaya. Tabung reaksi pertama ditambahkan 1 ml *buffer potassium klorida* (pH 10), dan tabung reaksi kedua ditambahkan 1 ml *buffer dosium asetat* (pH 4,5). Masing-masing larutan di inkubasi selama 15 menit pada

suhu ruang ($27 \pm 1^{\circ}\text{C}$), dan selanjutnya absorbansi dibaca pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm.

Nilai akhir absorbansi diperoleh dengan mengurangkan selisih absorbansi pada panjang gelombang 520 nm dan 700 nm larutan pH 1 dengan selisih absorbansi yang sama pada larutan pH 4,5. Kadar antosianin diperoleh dengan mengkalikan nilai absorbansi dengan berat molekul *cyanidin-3-glucoside* (448,8 g/mol) dan jumlah pengenceran, kemudian dibagi dengan koefisien absorbtivitas molar *cyanidin-3-glucoside* (26.900 l/mol cm) dan lebar kuvet (1 cm). Kadar antosianin ekstrak beras hitam dinyatakan dalam mg/100 g.

Commented [m1]: Adakah kriteria, sehingga ukuran butiran cenderung seragam?

Analisis Flavonoid

Metode Cai et al. (2016) sedikit modifikasi digunakan dalam penetapan kadar flavonoid ekstrak. Sampel ekstrak sebanyak 0,5 ml, ditambahkan 1,5 ml etanol *pro analisis*, 0,1 ml AlCl₃ 10% (b/v), 0,1 ml CH₃COOK 1 M dan 2,8 ml aquades. Larutan dihomogenisasi dan diinkubasi pada suhu ruang ($27 \pm 1^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit. Absorbansi sampel dibaca pada panjang gelombang 415 nm. Larutan blanko menggunakan akuades, dan kurva standar menggunakan larutan querctein dalam akuades pada konsentrasi 20 – 100 ppm. Kadar flavonoid ekstrak beras dinyatakan sebagai mg QE/100 g.

Commented [m2]: Mohon diperjelas kode masing-masing. AA, AS, AL

Analisis Total Fenolik

Total fenolik ekstrak beras hitam ditentukan menggunakan metode *Folin-Ciocalteu* (Pedro et al., 2016), dengan sedikit modifikasi. Sampel ekstrak sebanyak 0,5 ml, dan reagen *Folin ciocalteu* 10% (v/v) sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi gelap. Larutan diinkubasi selama 5 menit, dan ditambahkan 4 ml Na₂CO₃ 7,5% (b/v),

Commented [m3]: cek

campuran diinkubasi kembali selama 60 menit pada suhu ruang ($27 \pm 1^{\circ}\text{C}$). Larutan blanko disiapkan menggunakan etanol, kurva standar menggunakan asam galat dalam etanol dengan konsentrasi 100-500 ppm. Selanjutnya, absorbansi diukur menggunakan spektofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 765 nm. Kadar total fenol ekstrak beras hitam dinyatakan sebagai mg GAE/ 100 g.

Analisis Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan beras hitam ditentukan menurut Pedro et al. (2016), dengan beberapa modifikasi. Disiapkan 0,2 ml sampel dalam tabung reaksi, ditambahkan 1,5 ml DPPH 0,2 mM dalam etanol, dan ditambahkan etanol sebanyak 1,8 ml. Tabung reaksi ditutup, dihomogenisasi dan diinkubasi selama 60 menit pada suhu ruang ($27 \pm 1^{\circ}\text{C}$). Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam diperoleh dengan mengurangi absorbansi blanko terhadap sampel, kemudian dibandingkan dengan absorbansi blanko dan dinyatakan dalam % penghambatan.

Analisis pH

Nilai pH ekstrak beras hitam diperoleh dari hasil pembacaan menggunakan alat pH meter *Hanna HI-2211*.

Analisis Warna

Pengukuran karakteristik warna ekstrak beras hitam menggunakan *Chromameter Minolta CR-310*, alat dikalibrasi terlebih dahulu dengan pelat keramik putih standar ($L^* = 94,95$; $a^* = 0,14$; dan $b^* = 0,12$) sebelum pengukuran. Sudut hue (H°) dan chroma (C°) dihitung

dengan rumus $H^\circ = \tan^{-1} \frac{a^*}{b^*}$ dan $C^\circ = (a^2 + b^2)^{1/2}$. Nilai H° digunakan untuk mengidentifikasi warna (merah, kuning, hijau atau biru), sedangkan C° membedakan tingkat kecerahan warna (Caparino et al., 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Antosianin dan nilai pH Ekstrak Beras Hitam

Antosianin ekstrak beras hitam berkisar antara 44,85 – 101,84 mg/100g. Penggunaan pelarut ET-AK lebih efektif dibandingkan pelarut AK, dimana kadar antosianin ekstrak meningkat sebesar 35,49 % (15,90 mg/100g). Penambahan asam organik pada pelarut ET-AK, secara signifikan berpengaruh positif terhadap antosianin ekstrak. Kadar antosianin ekstrak meningkat sebesar 34,47 – 41,03 mg/100g. Efektivitas pelarut diurutkan berdasarkan kadar antosianin dari yang tertinggi hingga terendah yaitu pelarut ET-AK-AA, diikuti ET-AK-AL, ET-AK-AA, kemudian ET-AK dan terakhir pelarut AK.

Peningkatan antosianin berkorelasi negatif dengan nilai pH ekstrak. Hal ini bisa dilihat pada Tabel 1. Semakin tinggi penurunan pH ekstrak, antosianin yang dihasilkan meningkat secara nyata. Pelarut AK menghasilkan antosianin paling rendah, dengan nilai pH ekstrak 6,81. Kadar antosianin tertinggi diperoleh ketika pH ekstrak sekitar 2,47 yaitu pada pelarut ET-AK-AA. Senyawa antosianin umumnya lebih mudah diisolasi pada pH < 6 (Liu et al., 2018). Stabilitas senyawa antosianin ekstrak beras hitam semakin meningkat ketika pH pelarut menurun hingga pH 2 - 3,2 (He et al., 2017), karena mempertahankan bentuk *flavylium* (Le et al., 2019; Yang et al., 2010).

Proses ekstraksi pada pH yang rendah juga lebih memudahkan pelarut

Commented [m4]: perlu diperjelas. Pengukuran pH saat kapan? Saat ditambah pelarut atau belum.

Karena metode harus memberikan gambaran yang jelas tentang metoda yang dilakukan

untuk berdifusi ke dalam matrik, sehingga proses hidrolisis antosianin akan lebih optimal (Kurtulbaş et al., 2020). Namun pada larutan yang terlalu asam ($\text{pH} < 2,0$), gugus hidroksil fenolik pada molekul antosianin dapat rusak sehingga stabilitasnya akan menurun (He et al., 2017). Ekstraksi beras hitam pada $\text{pH} 2,47$ hingga $3,67$ dapat diusulkan untuk menghasilkan ekstrak dengan antosianin yang tinggi.

Kadar Flavonoid Ekstrak Beras Hitam

Studi ini menemukan bahwa jenis pelarut secara statistik mempengaruhi jumlah flavonoid yang diekstraksi dari beras hitam ($p<0,05$). Kadar flavonoid ekstrak berkisar antara $0,16 - 0,35$ mg QE/g. Beda hal nya dengan antosianin, kadar flavonoid ekstrak beras hitam cenderung menurun seiring dengan penurunan nilai pH pelarut. Kondisi ini sejalan dengan penelitian sebelumnya (Kong et al., 2010), yang melaporkan bahwa ada korelasi yang positif antara

kondisi pH dengan kadar flavonoid pada ekstrak jambu biji.

Kadar flavonoid ekstrak beras hitam terendah terdapat pada pelarut ET-AK-AS dengan $\text{pH } 2,47$. Kadar flavonoid meningkat secara linier seiring dengan meningkatnya pH, namun pada pH terlalu tinggi (AK) kadar flavonoid menurun namun tidak signifikan. Flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak ET-AK dengan $\text{pH } 6,36$. Pelarut dengan nilai $\text{pH } \pm 6$ merupakan kondisi optimal dalam menghasilkan ekstrak tinggi flavonoid (Wong et al., 2015). Pada pH tersebut, polaritas senyawa flavonoid akan meningkat seiring dengan meningkatnya disosiasi gugus -OH terutama yang bersifat asam. Kondisi ini secara signifikan akan meningkatkan kelarutan senyawa flavonoid. Namun secara tidak langsung pH yang terlalu tinggi memicu terjadinya proses oksidasi sehingga terjadi penurunan kadar flavonoid ekstrak (Mylonaki et al., 2008).

Tabel 1. Komponen fungsional dan nilai pH ekstrak beras hitam

Pelarut	Antosianin (mg/100g)	Flavonoid (mg QE/g)	Total Fenolik (mg GAE/g)	AA* (%) penghambatan)	pH
AK	$44,85 \pm 0,84^a$	$0,35 \pm 0,01^a$	$1,35 \pm 0,09^a$	$38,41 \pm 0,33^a$	$6,81 \pm 0,03^a$
ET-AK	$60,81 \pm 0,55^b$	$0,36 \pm 0,02^a$	$2,37 \pm 0,09^b$	$45,65 \pm 0,49^b$	$6,37 \pm 0,05^d$
ET-AK-AA	$95,28 \pm 1,22^c$	$0,27 \pm 0,01^c$	$2,72 \pm 0,19^c$	$48,06 \pm 0,21^c$	$3,67 \pm 0,06^c$
ET-AK-AL	$98,38 \pm 0,83^d$	$0,24 \pm 0,02^b$	$2,79 \pm 0,16^c$	$49,79 \pm 0,46^d$	$3,42 \pm 0,04^b$
ET-AK-AS	$101,84 \pm 0,90^e$	$0,16 \pm 0,02^a$	$2,92 \pm 0,09^c$	$50,36 \pm 0,41^e$	$2,47 \pm 0,02^a$

Keterangan:

1. Semua nilai merupakan nilai $\text{mean} \pm$ standar deviasi dari 5 ulangan
2. Nilai superskrip yang berbeda antar kolom menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan dengan tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji beda ANOVA, dan uji lanjut menggunakan LSD.

Commented [m5]: beri keterangan kode-kodenya

Total Fenolik Ekstrak Beras Hitam

Tabel 1 menunjukkan bahwa jenis pelarut berpengaruh nyata terhadap total fenolik ekstrak beras hitam ($p>0,05$). Total fenolik ekstrak berkisar antara $1,35 - 2,92$ mg GAE/g. Pelarut ET-AK

menghasilkan total fenolik ekstrak yang lebih baik dibandingkan pelarut AK. Total fenolik ekstrak meningkat secara signifikan ketika pelarut ET-AK ditambahkan asam organik. Total fenolik ekstrak diamati terus meningkat ketika pH

ekstrak semakin turun, namun tidak signifikan.

Total fenolik yang terhidrolisis selama proses ekstraksi sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut. Umumnya, senyawa fenolik meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut seperti yang dilaporkan penelitian sebelumnya (Chua et al., 2008; Goli et al., 2005). Pernyataan ini semakin diperkuat oleh hasil penelitian Halee et al. (2018), dimana pelarut air menghasilkan total fenolik ekstrak bekatal beras hitam yang lebih tinggi dibandingkan etanol.

Dalam penelitian ini, kecenderungan berbeda diamati dan ekstrak AK memiliki total fenol paling rendah, kemudian diikuti ekstrak ET-AK, sedangkan ET-AK yang diasamkan baik dengan asam asetat, asam laktat maupun asam sitrat menghasilkan total fenolik ekstrak yang lebih tinggi. Kondisi ini diduga kuat berkaitan dengan antosianin ekstrak. Antosianin sebagai pigmen larut air termasuk bagian dari senyawa fenolik, sehingga berkontribusi terhadap total fenolik ekstrak. Hasil ini sejalan dengan penelitian Kopjar et al. (2014), dimana pelarut AK menghasilkan total fenolik terendah, kemudian ET-AK, sedangkan total fenolik tertinggi dihasilkan oleh ekstrak ET-AK yang diasamkan.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Beras Hitam

Aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam setara dengan jumlah DPPH yang direduksi dalam larutan reaksi dan dinyatakan dalam % penghambatan. Ditemukan bahwa pelarut ET-AK menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding hanya pelarut AK. Etanol yang diasamkan secara signifikan berpengaruh positif terhadap aktivitas antioksidan ekstrak. Aktivitas antioksidan ekstrak tertinggi dihasilkan oleh ekstrak ET-AK-AS (50,33 % penghambatan), diikuti oleh ekstrak ET-AK-AL (49,77 % penghambatan).

Pelarut organik jauh lebih efektif dibandingkan pelarut AK untuk mengekstrak senyawa seperti polifenol, yang secara signifikan terkait dengan sifat antioksidan ekstrak (Sepahpour et al., 2018). Efektivitas pelarut ET-AK dibandingkan pelarut AK sebelumnya juga telah dilaporkan Alothman et al. (2009). Senyawa polifenol cenderung lebih mudah larut dalam pelarut yang kurang polar seperti ET-AK maupun ET-AK yang diasamkan, sedangkan pelarut AK lebih optimal untuk ekstraksi senyawa fenolik tertentu terutama antioksidan polar (Kong et al., 2010; O'sullivan et al., 2013; Sepahpour et al., 2018).

Tabel 2. Komponen fungisional ekstrak beras hitam

Pelarut	L	a	b	H°	C
Aq	$35,41 \pm 0,10^d$	$24,14 \pm 0,23^d$	$1,66 \pm 0,10^d$	$3,94 \pm 0,21^c$	$24,20 \pm 0,23_d$
Et-Aq	$31,68 \pm 0,08^c$	$19,17 \pm 0,17^c$	$0,73 \pm 0,05^c$	$2,17 \pm 0,14^b$	$19,18 \pm 0,18_c$
Et-Aq-As	$28,67 \pm 0,28^b$	$17,04 \pm 0,31^b$	$0,61 \pm 0,08^b$	$2,04 \pm 0,30^b$	$17,04 \pm 0,31^b$
Et-Aq-La	$28,22 \pm 0,24^b$	$16,78 \pm 0,06^b$	$0,60 \pm 0,03^b$	$2,03 \pm 0,10^b$	$16,79 \pm 0,06^b$
Et-Aq-Si	$27,10 \pm 0,88^a$	$16,46 \pm 0,18^a$	$0,30 \pm 0,02^a$	$1,03 \pm 0,08^a$	$16,47 \pm 0,17^a$

Keterangan:

1. Semua nilai merupakan nilai *mean* ± standar deviasi dari 5 ulangan
2. Nilai superskrip yang berbeda antar kolom menunjukkan ada perbedaan antar perlakuan dengan tingkat kepercayaan 95% berdasarkan uji beda ANOVA, dan uji lanjut menggunakan LSD.

Commented [m6]: mengapa beda kode? Beda perlakuan? Tidak konsisten

Karakteristik Warna

Ekstrak beras hitam yang diperoleh dengan berbagai jenis pelarut memberikan rentang nilai kroma (C) dan sudut rona (H°) yang bervariasi. Nilai H° ekstrak berada pada rentang $1,02^\circ - 3,95^\circ$ dengan nilai C pada kisaran $16,46 - 24,20$ yang memiliki nuansa ungu hingga merah muda. Penambahan asam pada media ekstraksi secara signifikan menurunkan nilai C ekstrak, sehingga ekstrak memiliki nilai L^* rendah yang menyiratkan warna lebih redup.

Menurut Coutinho et al. (2015), kondisi air yang asam sebagai media ekstraksi akan memicu terjadinya reaksi hidrasi sehingga warna cenderung memudar. Nilai a^* atau tingkat kemerahannya ekstrak juga cenderung menurun seiring dengan penurunan pH ekstraksi. Jika dihubungkan dengan kadar antosianin, ekstrak beras hitam dengan warna yang lebih gelap mengandung antosianin yang lebih tinggi. Warna merah ekstrak menurun secara signifikan dan berkorelasi positif dengan nilai pH pelarut yang digunakan.

KESIMPULAN

Pelarut ET-AK yang diasamkan cenderung menghasilkan ekstrak beras hitam dengan senyawa fungsional yang lebih baik dibanding pelarut AK maupun ET-AK, dengan kecendrungan warna lebih gelap. Pelarut organik paling efektif diperoleh dari ekstrak ET-AK-AS dengan kadar antosianin sebesar $101,84 \text{ mg}/100\text{g}$, $0,16 \text{ mg}/100\text{g}$ flavonoid, $2,92 \text{ mg GAE/g}$ total fenolik, aktivitas antioksidan paling tinggi (50,36 % penghambatan), dan pH

paling rendah (2,47). Ekstrak beras hitam yang dihasilkan memiliki karakteristik warna merah-keunguan dengan rincian nilai $L^*(27,10)$, $a^*(16,46)$, $b^*(0,30)$, $H^\circ(1,03)$ dan $C(16,47)$ paling rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah terlibat dan berkontribusi dalam penelitian ini, terutama atas pendanaan oleh KEMENDIKBUD – RISTEK melalui skema Penelitian PTUPT dengan kontrak No. 10/061026/PG/SP2H/JT/2021 Tahun 2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Alothman, M., Bhat, R., & Karim, A. A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115(3), 785–788. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.005>
- Cai, Z., Qu, Z., Lan, Y., Zhao, S., Ma, X., Wan, Q., Jing, P., & Li, P. (2016). Conventional, ultrasound-assisted, and accelerated-solvent extractions of anthocyanins from purple sweet potatoes. *Food Chemistry*, 197, 266–272. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.110>
- Caparino, O. A., Tang, J., Nindo, C. I., Sablani, S. S., Powers, J. R., & Fellman, J. K. (2012). Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine “Carabao” var.)

- powder. *Journal of Food Engineering*, 111(1), 135–148. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.01.010>
- Chaudhary, B., & Mukhopadhyay, K. (2012). *Syzygium cumini* (L.) skeels: a potential source of nutraceuticals. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2(1), 46–53. www.ijpbs.com
- Chua, M. T., Tung, Y. T., & Chang, S. T. (2008). Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of *Cinnamomum osmophloeum*. *Bioresource Technology*, 99(6), 1918–1925. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.03.020>
- Coutinho, I. B., Freitas, A., Maçanita, A. L., & Lima, J. C. (2015). Effect of water content on the acid-base equilibrium of cyanidin-3-glucoside. *Food Chemistry*, 172, 476–480. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.060>
- do Carmo Brito, B. de N., da Silva Pena, R., Santos Lopes, A., & Campos Chisté, R. (2017). Anthocyanins of jambolão (*Syzygium cumini*): extraction and pH-dependent color changes. *Journal of Food Science*, 82(10), 2286–2290. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13847>
- Espinosa-Acosta, G., Ramos-Jacques, A. L., Molina, G. A., Maya-Cornejo, J., Esparza, R., Hernandez-Martinez, A. R., Sánchez-González, I., & Estevez, M. (2018). Stability analysis of anthocyanins using alcoholic extracts from black carrot (*Daucus carota ssp. Sativus* var. *Atrorubens* alef.). *Molecules*, 23(11). <https://doi.org/10.3390/molecules23112744>
- Fatchiyah, F., Ratih, D., Sari, T., Safitri, A., & Cairns, J. R. (2020). Phytochemical compound and nutritional value in black rice from Java Island, Indonesia. In *Systematic Reviews in Pharmacy* (Vol. 11, Issue 7).
- Fernandez-Aulis, F., Hernandez-Vazquez, L., Aguilar-Osorio, G., Arrieta-Baez, D., & Navarro-Ocana, A. (2019). Extraction and identification of anthocyanins in corn cob and corn husk from cacahuacintle maize. *Journal of Food Science*, 84(5), 954–962. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14589>
- Goli, A. H., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistacia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92(3), 521–525. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.020>
- Halee, A., Supavititpatana, P., Ruttarattanamongkol, K., Jittrepotch, N., Rojsuntornkitti, K., & Kongbangkerd, T. (2018). Effects of solvent types and citric acid concentrations on the extraction of antioxidants from the black rice bran of *Oryza sativa* L. CV. Hom Nin. *Journal of Microbiology*,

- Biotechnology and Food Sciences*, 8(2), 765–769. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2018.8.2.765-769>
- He, S., Lou, Q., Shi, J., Sun, H., Zhang, M., & Li, Q. (2017). Water extraction of anthocyanins from black rice and purification using membrane separation and resin adsorption. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(4). <https://doi.org/10.1111/jfpp.13091>
- Ito, V. C., Zielinski, A. A. F., Demiate, I. M., Spoto, M., Nogueira, A., & Lacerda, L. G. (2019). Gamma radiation effects on physicochemical, microbiological and antioxidant properties of black rice (*Oryza Sativa L.*) flour during storage. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*, 11(3), 163–174. <https://doi.org/10.34302/crpjfst/2019.11.3.14>
- Jha, P., Das, A. J., & Deka, S. C. (2017). Optimization of ultrasound and microwave assisted extractions of polyphenols from black rice (*Oryza sativa* cv. Poireton) husk. *Journal of Food Science and Technology*, 54(12), 3847–3858. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2832-0>
- Kong, K. W., Ismail, A., Tan, C. P., & Rajab, N. F. (2010). Optimization of oven drying conditions for lycopene content and lipophilic antioxidant capacity in a by-product of the pink guava puree industry using response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology*, 43(5), 729–735. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.10.011>
- Kopjar, M., Orsolic, M., & Pilizota, V. (2014). Anthocyanins, phenols, and antioxidant activity of sour cherry puree extracts and their stability during storage. *International Journal of Food Properties*, 17(6), 1393–1405. <https://doi.org/10.1080/10942912.2012.714027>
- Kurtulbaş, E., Pekel, A. G., Bilgin, M., Makris, D. P., & Şahin, S. (2020). Citric acid-based deep eutectic solvent for the anthocyanin recovery from *Hibiscus sabdariffa* through microwave-assisted extraction. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00606-3>
- 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(7), 1–15. <https://doi.org/10.3390/pr7070468>
- Liu, Y., Liu, Y., Tao, C., Liu, M., Pan, Y., & Lv, Z. (2018). Effect of temperature and pH on stability of anthocyanin obtained from blueberry. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 1744–1753. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9789-1>

- Mylonaki, S., Kiassos, E., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2008). Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 392(5), 977–985. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2353-9>
- Nakagawa, K., & Maeda, H. (2017). Investigating pigment radicals in black rice using HPLC and multi-EPR. *Journal of Oleo Science*, 66(5), 543–547. <https://doi.org/10.5650/jos.ess16245>
- O'sullivan, A. M., O'callaghan, Y. C., O'gr, M. N., Ha, M., Kerry, J. P., & O'brien, N. M. (2013). The effect of solvents on the antioxidant activity in Caco-2 cells of Irish brown seaweed extracts prepared using accelerated solvent extraction (ASE). *Journal of Functional Foods*, 5, 940–948. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.09.049>
- Pedro, A. C., Granato, D., & Rosso, N. D. (2016). Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice (*Oryza sativa L.*) by modeling and assessing their reversibility and stability. *Food Chemistry*, 191, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.045>
- 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>
- Wartini, N. M., Wrasiati, L. P., Widnyani, I. A. A., Putra, G. P. G., & Wijaya, I. M. A. S. (2020). Production of natural dyes from black rice bran extract on solid to solvent ratio and various of pH solvent. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 472(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/472/1/012008>
- Wong, W. H., Lee, W. X., Ramanan, R. N., Tee, L. H., Kong, K. W., Galanakis, C. M., Sun, J., & Prasad, K. N. (2015). Two level half factorial design for the extraction of phenolics, flavonoids and antioxidants recovery from palm kernel by-product. *Industrial Crops and Products*, 63, 238–248. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.049>
- Yamuangmorn, S., Dell, B., & Prom-u-thai, C. (2018). Effects of cooking on anthocyanin concentration and bioactive antioxidant capacity in glutinous and non-glutinous purple rice. *Rice Science*, 25(5), 270–278. <https://doi.org/10.1016/j.rsci.2018.04.004>
- Yang, L., Cao, Y. L., Jiang, J. G., Lin, Q. S., Chen, J., & Zhu, L. (2010). Response surface optimization of

Penulis
11

et al./AGROINTEK

X(X): p-p

ultrasound-assisted flavonoids extraction from the flower of Citrus aurantium L. var. amara Engl.

Journal of Separation Science, 33(9), 1349–1355.

<https://doi.org/10.1002/jssc.200900776>