

IDENTIFIKASI KANDUNGAN ASAM FENOLAT DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BERAS KETAN MERAH (*ORYZA SATIVA* VAR. *GLUTINOSA*)

*Identification of Phenolic compounds and Antioxidant Activity of Red Glutinous Rice (*Oryza sativa* var. *glutinosa*)*

Hera Sisca Prasmita*, Jhauharotul Muchlisyyah, Tri Dewanti Widyaningsih,
Sabrina W. Purbasari
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian – Fakultas Teknologi Pertanian - Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145
*Penulis Korespondensi: email: herasisca87@gmail.com

ABSTRAK

Beras ketan (*Oryza sativa* var. *glutinosa*) yang umum dikenal dan dimanfaatkan masyarakat saat ini adalah beras ketan putih dan beras ketan hitam, sedangkan beras ketan merah sangat jarang diketahui oleh sebagian besar masyarakat. Masyarakat di daerah tertentu seperti di Pakis, kabupaten Pacitan telah lama mengenal, menanam, dan mengolah beras ketan merah menjadi *snack* seperti tape ketan merah, rengginang ketan merah, dan lain sebagainya. Diduga ketan merah sama seperti beras berpigmen lainnya mengandung asam fenolat dan senyawa bioaktif lainnya serta memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi kandungan asam fenolat pada ketan pecah kulit, ketan sosoh dan bekatulnya. Setiap sampel diekstrak kandungan fenolat bebas, fenolat terikat dan fenolat terkonjugasi kemudian hasil ekstraksi dianalisis total fenolat metode *folin-ciocalteau* serta aktivitas antioksidan metode DPPH. Penelitian ini bersifat deskriptif kuantitatif, dengan tiga kali ulangan. Pada semua sampel, baik pada ketan pecah kulit, ketan sosoh (bagian endosperm) maupun bekatul (bran) mengandung lebih banyak total fenolat terikat dan terkonjugasi (bebas-terikat) daripada fenolat bebas. Aktivitas antioksidan ekstrak senyawa fenolat tertinggi terdapat pada ketan merah pecah kulit meliputi semua jenis fenolat yaitu ekstrak fenolat bebas IC_{50} 4.52 mg/ml, fenolat terkonjugasi 3 IC_{50} 9.92 mg/ml, dan fenolat terikat IC_{50} 30.65 mg/ml

Kata kunci : Antioksidan, Asam Fenolat, Beras Ketan Merah, Deskriptif Kualitatif

ABSTRACT

*The most common Glutinous rice (*Oryza sativa* var. *glutinosa*) is white glutinous rice and black glutinous rice, but red glutinous rice rather infrequently. However, only few people have known about red glutinous rice, local glutinous cultivars in Pakis, Pacitan, East Java. People in there are used to cultivating red glutinous rice for long time ago and processing into various kinds of snack, such as tape, rengginang. Like the other pigmented rice, red glutinous rice contained phenolic and other bioactive compounds which contained antioxidant activity. This study investigated the phenolic compounds of unpolished red glutinous rice, polished red glutinous rice and bran red glutinous rice. Free phenolic compounds was extracted from each samples, as well as the bound-free phenolic and bound phenolic, then analyzed total phenolic and antioxidant activity by using DPPH method. This research was quantitative descriptive with triplicate measurements. The total phenolic content (TPC) of both bound phenolic acids extract and free/conjugated phenolic acids extract were higher than free phenolic acids extract in all samples, including unpolished red glutinous rice, polished red glutinous rice and bran red glutinous rice. Antioxidant capacity of all kinds of phenolic acids extract was highest in unpolished red glutinous rice, that is free phenolic acids extract IC_{50} 4.52 mg/ml, free/conjugated phenolic acids extract 3 IC_{50} 9.92 mg/ml and bound phenolic acids extract IC_{50} 30.65 mg/ml*

Keywords: Antioxidant, Descriptive Qualitative, Phenolic Acid, Red Glutinous rice

PENDAHULUAN

Beras ketan (*Oryza sativa var. glutinosa*) adalah jenis beras yang tumbuh di Asia Tenggara dan Asia Timur. Beras ketan di Indonesia merupakan salah satu bahan pangan penting yang digunakan dalam pembuatan aneka olahan makanan seperti lemper, tape, bubur ketan, dodol, brem, dan rengginang (Ernayanti, 2003; Rasyid, 2004; Sukenti *et al.*, 2016). Pemanfaatan beras ketan dalam makanan pada umumnya dalam bentuk tepung, dalam bentuk pecah kulit dan ketan sosoh. Beras ketan memiliki perbedaan warna diantaranya putih, hitam, dan merah (Suhartatik *et al.*, 2013; Balai Besar Penelitian Tanaman Padi, 2015; Rohaeni dan Hastini, 2015; Sattaka *et al.*, 2017).

Beras ketan merah tergolong varietas ketan lokal daerah tertentu yang relatif langka. Masyarakat di daerah Pakis, kabupaten Pacitan telah lama menanam dan mengolah beras ketan merah menjadi berbagai olahan makanan dimana beras ketan merah ini diduga juga berpotensi seperti halnya beras ketan hitam yaitu sebagai sumber karbohidrat, antioksidan, senyawa bioaktif dan serat yang penting bagi kesehatan (Kadirantau, 2000; Sompong *et al.*, 2011; Suhartatik *et al.*, 2013; Badan Perencanaan Pembangunan Daerah Pemerintah Provinsi Jawa Timur, 2015; Muchlisiyah *et al.*, 2016).

Adapun pada beras ketan umumnya mengandung asam fenolat, flavonoid, antosianin dan γ oryzanol (Gunaratne *et al.*, 2013; Pereira-Caro *et al.*, 2013; Phonsakhan dan Kong-Ngern, 2015; María *et al.*, 2016). Pada beras, asam fenolat terdapat pada lapisan aleuron (bran) dalam berbagai bentuk, diantaranya asam fenolat larut air dan asam fenolat tidak larut air. Asam fenolat larut air terdiri dari asam fenolat bebas (aglikon) dan asam fenolat terkonjugasi (sebagai ester, glikosida). Pada asam fenolat tidak larut air, asam fenolat terikat kovalen pada polimer dinding sel seperti selulosa, hemiselulosa (arabinosilan), lignin, pektin (Luo *et al.*, 2013).

Asam fenolat bebas dapat diekstrak dengan larutan solvolisis seperti air, metanol, etanol, dan aseton. Metanol 80% merupakan pelarut yang paling sering digunakan untuk mengekstrak fenolat bebas dari sampel beras. Fenolat terikat pada umumnya dapat diekstrak dengan basa kuat dari residu hasil ekstraksi asam fenolat bebas (Alves *et al.*, 2016).

Beras berpigmen memiliki kandungan komponen fenolat yang tinggi, sementara pada beras yang disosoh berkali-kali semakin sedikit (Paiva *et al.*, 2014; Walter *et al.*, 2013). Komponen asam fenolat terbukti berpotensi sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antikarsinogenik (Kaliora *et al.*, 2014; Ling *et al.*, 2001; Liu, 2007; Yawadio *et al.*, 2007; Shao dan Bao, 2015).

Berdasarkan hasil penelitian Zaupa *et al.* (2015) dan Zhang *et al.* (2015), komponen fenolat yang terkandung baik pada beras berpigmen maupun tidak, diantaranya adalah asam protokatekin, asam sinapsat, asam vanilat, asam p-kaumarat, dan asam ferulat. Mengingat begitu besar potensi senyawa bioaktif ketan merah dan belum banyak penelitian mengenai karakteristik senyawa fenolik yang terkandung dalam ketan merah. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk identifikasi senyawa fenolat serta aktivitas antioksidan ketan merah pecah kulit, ketan sosoh, dan bekatul ketan merah.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gabah ketan merah yang didapatkan dari desa Pakis, kabupaten Pacitan, Jawa Timur. Gabah ketan merah kemudian disosoh sebanyak satu kali, sehingga didapatkan bulir utuh (pecah kulit). Penyosohan kedua dilakukan untuk mendapatkan endosperm (ketan sosoh), serta diperoleh sisa penyosohan yaitu bekatul. Bahan kimia yang digunakan HCL 1 M, HCL 4 M, metanol 80%, metanol 50%, air, akuades, *n-hexane*, etil asetat, NaOH 4 M, sodium karbonat, Buffer pH 1 teknis, Buffer pH 4,5 teknis, reagen *Folin-Ciocalteu* 10%, standar asam galat, DPPH, standar asam askorbat.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, erlenmeyer 250 ml dan 100 ml, spatula kaca, spatula besi, corong gelas, corong pemisah 100 ml, gelas ukur 50 ml dan 100 ml, beaker glass 50 ml dan 500 ml, labu ukur 10 ml, pipet tetes, pipet volume 1 ml dan 10 ml, bola hisap, mortar, rak tabung reaksi, botol kaca berwarna gelap, alumu-

nium foil, kertas saring kasar, kertas saring halus, blender Philips, ayakan 80 mesh, pH meter Rex model pHs-3C, centrifuge (Hettich zentrifugen), spektrofotometer UV-VIS, kuvet, tube, timbangan analitik (Denver instrument M310), vortex, rotary vacuum evaporator (IKA RV 10 digital), sentrifugasi dingin (Tony MX-305), shaker (Unimax 2010 Heidolph).

Metode

Penelitian ini bersifat deskriptif kuantitatif dan dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama adalah persiapan sampel untuk mendapatkan tepung ketan merah pecah kulit, tepung bekatul, dan tepung ketan merah sosoh. Tahap kedua adalah ekstraksi kandungan senyawa bioaktif fenolat bebas, fenolat terkonjugasi, fenolat terikat. Selanjutnya hasil ekstraksi fenolat dianalisis total fenolat dan diukur aktifitas antioksidannya metode DPPH.

Ekstraksi Fenolat Bebas

Senyawa fenolat bebas diekstraksi menggunakan metode *folin-ciocalteau* (Qiu *et al.*, 2010). Sampel tepung ketan merah ditimbang sebanyak 5 g, diekstraksi sebanyak dua kali dengan pelarut metanol 80% sebanyak 100 ml. Selanjutnya, campuran digoyangkan secara kontinyu menggunakan *shaker* selama 30 menit dalam suhu ruang. Sampel yang telah tercampur selanjutnya dipisahkan supernatannya menggunakan *sentrifuge* selama 10 menit pada suhu 4 °C. Supernatan selanjutnya dikumpulkan dan digabungkan, kemudian diatur pH sampel sebesar 1.5-2.0, menggunakan HCL 1 M. Tahapan selanjutnya adalah pemekatan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 °C (80 rpm, 100 mBar). Selanjutnya dilakukan penghilangan fraksi nonpolar menggunakan pelarut *n-hexane* sebanyak 10 ml. Tahapan lanjutannya adalah proses ekstraksi menggunakan etil asetat 45 ml sebanyak tiga kali. Sampel ekstraksi pertama hingga ketiga digabungkan untuk kemudian dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 °C (80 rpm, 100 mBar). Ekstrak kemudian dilarutkan dengan pelarut metanol 50% sebanyak 5 ml dan digunakan sebagai ekstrak kasar fenolat bebas.

Ekstraksi Fenolat Terkonjugasi

Senyawa fenolat bebas terikat di ekstraksi menggunakan metode yang

dimodifikasi dari Li *et al.* (2008). Sampel tepung ketan merah ditimbang sebanyak 5 g, diekstraksi sebanyak dua kali dengan pelarut metanol 80% sebanyak 100 ml, dengan perbandingan berat sampel dan volume pelarut 1:20. Setelah didapatkan konsentrat supernatan, selanjutnya ditambahkan 40 ml NaOH 4M untuk menghidrolisis sampel selama 1 jam di bawah gas nitrogen. Selanjutnya campuran diatur pH antara 1.5-2.0 menggunakan HCl. Larutan selanjutnya dipisahkan dari senyawa nonpolar menggunakan pelarut *n-hexane* sebanyak 10 ml. Selanjutnya, dilakukan ekstraksi menggunakan etil asetat 45 ml sebanyak tiga kali. Sampel ekstraksi pertama hingga ketiga digabungkan selanjutnya dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 °C (80 rpm, 100 mBar). Ekstrak kering dilarutkan dengan pelarut metanol 50% sebanyak 5 ml dan digunakan sebagai ekstrak kasar fenolat bebas terikat. Residu ekstrak selanjutnya diukur kandungan total fenolat (TPC) dengan metode *Folin-Ciocalteau*.

Ekstraksi Fenolat Terikat

Residu dari ekstraksi fenolat bebas terikat dicuci menggunakan akuades untuk selanjutnya digunakan dalam ekstraksi senyawa fenolat terikat (Zhang *et al.*, 2010). Residu ditimbang berat awalnya, dihidrolisis dengan 5 ml NaOH 4M pada temperatur ruang selama satu jam dan di hidrolisis di bawah gas nitrogen. Setelah proses digesti selesai, campuran diatur pH antara 1.5-2.0 menggunakan HCl, kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 10 menit. Supernatan ditambahkan pelarut *n-hexane* sebanyak 10 ml, kemudian dipisahkan dari fraksi nonpolar menggunakan corong pemisah. Selanjutnya dilakukan ekstraksi dengan etil asetat sebanyak 10 ml sebanyak tiga kali. Sampel ekstraksi pertama hingga ketiga digabungkan selanjutnya dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 °C (80 rpm, 100 mBar). Ekstrak kering dilarutkan dengan pelarut metanol 50% sebanyak 5 ml dan digunakan sebagai ekstrak kasar fenolat terikat.

Penentuan Total Fenolat

Penentuan total senyawa fenolat dengan metode *Folin-Ciocalteu* (Shen *et al.*, 2009) menggunakan asam galat sebagai standar. Ekstrak sampel sebanyak 0.01 g

ditambahkan metanol 0.5 ml, akuades 2.5 ml, dan larutan *Folin-ciocalteau* 0.1 ml, kemudian divortex dengan kecepatan 10000 rpm selama 3 menit. Pada larutan ditambahkan 1 ml Na_2CO_3 (75 gr/l), diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap pada suhu ruang, absorbansi ditera menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 764 nm. Asam galat digunakan sebagai standar dan kurva kalibrasi dibuat dengan asam galat konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40 ppm.

Penentuan Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Kapasitas penangkapan radikal bebas DPPH ditentukan dengan metode yang dimodifikasi dari Sharma dan Bhat (2009). Sebanyak 100 mg sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml, kemudian ditambahkan pelarut metanol 80%. Selanjutnya dibuat seri pengenceran larutan ekstrak, kemudian sebanyak 1 ml sampel masing-masing konsentrasi diambil dan dimasukkan tabung reaksi. Proses selanjutnya ditambahkan DPPH 0.2 mM sebanyak 1 ml. Sampel di inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dan kondisi gelap. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer λ 517 nm, dan sampel diukur secara duplo.

Analisis Data

Data-data yang telah diperoleh pada saat melakukan penelitian diolah menggunakan metode analisis deskriptif kuantitatif, yaitu dengan membandingkan menggunakan literatur yang telah ada untuk dapat disimpulkan hasil penelitian tersebut. Pembuktian dilakukan menggunakan ANOVA *single factor* dengan selang kepercayaan $p < 0.05$, jika terjadi beda nyata kemudian dilakukan Uji BNT.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Hasil Ekstraksi Senyawa Fenolat

Senyawa fenolat yang terkandung dalam gabah beras ketan terbagi menjadi dua, yaitu senyawa mudah larut dan tidak larut. Senyawa mudah larut merupakan senyawa fenolat bebas dan terkonjugasi, sedangkan senyawa tidak larut, atau senyawa fenolat terikat yang strukturnya teresterifika-

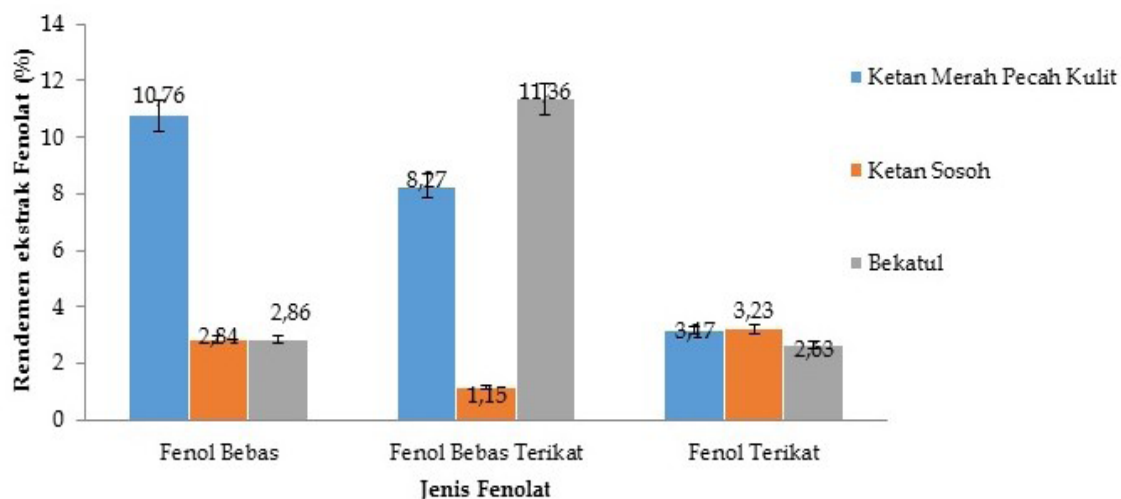
si pada dinding sel (Wang *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2017). Pada Gambar 1 ditunjukkan rendemen fenolat bebas tertinggi diperoleh dari ekstraksi ketan pecah kulit, yaitu 10.76%, rendemen fenolat terkonjugasi (bebas-terikat) tertinggi diperoleh dari ekstraksi bekatul, yaitu 11.36%. Namun pada rendemen fenolat terikat yang terekstrak dari ketiga sampel hanya sedikit.

Kadar Total Fenolat Beras Ketan Merah

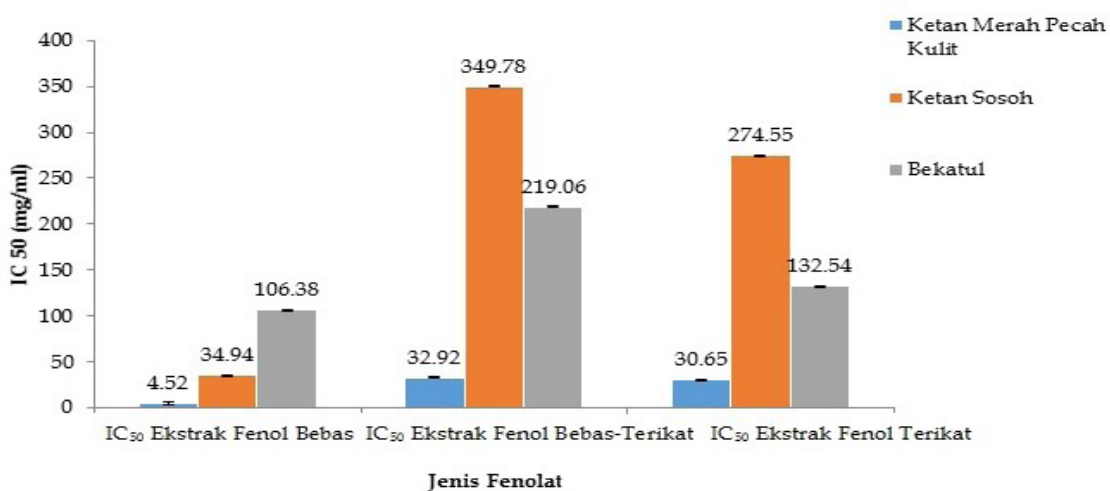
Pengukuran kadar total fenolat beras ketan merah metode *Folin-ciocalteau* dilakukan pada sampel ekstrak fenolat bebas, terkonjugasi dan terikat. Kandungan total fenolat beras ketan merah disajikan pada Tabel 1. Pada Tabel 1 terlihat bahwa kandungan total fenolat pada ekstrak fenolat bebas tertinggi didapatkan pada bekatul 28.75 mg GAE/g, dan total fenolat pada ekstrak fenolat terkonjugasi tertinggi terdapat pada ketan pecah kulit 58.07 mg GAE/g. Total fenolat ekstrak fenolat terikat tertinggi terdapat pada bekatul 90.37 mg GAE/g. Tabel 1 juga menunjukkan bahwa pada semua sampel, baik pada ketan pecah kulit, ketan sosoh (bagian endosperm) maupun bekatul (bran) mengandung lebih banyak total fenolat terikat dan terkonjugasi daripada fenolat bebas, meskipun rendemen fenolat terikat yang diperoleh pada saat ekstraksi dari semua jenis sampel relatif sedikit. Hal ini sejalan dengan penelitian Shao dan Bao (2014) pada sampel beras putih, merah, dan hitam, ditemukan bahwa total fenolik terikat dan terkonjugasi secara signifikan lebih tinggi dibandingkan total fenolik bebas yang terkandung pada biji utuh, embrio, dan bran bekatul masing-masing jenis beras tersebut.

Menurut Shao dan Bao (2014) komponen fenolat terikat yang terdeteksi menggunakan metode HPLC LC-MS/MS, diantaranya adalah ferulat, *p-coumaric*, *syringic*, dan asam isoferulat terkandung dalam beras putih, beras merah, dan beras hitam. Kemungkinan komponen fenolat terikat tersebut juga terkandung di dalam ketan merah.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa bekatul relatif tinggi total fenolatnya untuk semua jenis fenolat yaitu fenolat bebas 28.75 mg GAE/g, terkonjugasi 51.12 mg GAE/g dan fenolat terikat 90.37 mg GAE/g, dibandingkan ketan sosoh dan ketan pecah kulit. Hal ini dikarenakan senyawa fenolat pada beras ketan terakumulasi pada perikarp dan testa atau bran kernel (bekatul) beras hasil



Gambar 1. Rendemen ekstrak senyawa fenolat pada beras ketan merah



Gambar 2. IC₅₀ ekstrak senyawa fenolat beras ketan merah

Tabel 1. Total fenolat beras ketan merah

Sampel		Total Fenolat (mg GAE/g)
Ekstrak Fenolat Bebas	Pecah Kulit	23.37 ± 6.51 ^b
	Ketan Sosoh	10.62 ± 1.11 ^a
	Bekatul	28.75 ± 2.46 ^b
Ekstrak Fenolat Bebas-Terikat (terkonjugasi)	Pecah Kulit	58.07 ± 2.19 ^c
	Ketan Sosoh	41.87 ± 1.44 ^a
	Bekatul	51.12 ± 2.44 ^b
Ekstrak Fenolat Terikat	Pecah Kulit	89.04 ± 6.64 ^b
	Ketan Sosoh	48.62 ± 4.35 ^a
	Bekatul	90.37 ± 1.20 ^b

samping penggilingan gabah (Gunaratne *et al.*, 2013). Menurut Muntana dan Prasong (2010), perikarp serta testa pada bekatul beras akan mengakumulasi semua senyawa fitokimia yang ada.

Aktivitas Antioksidan Ekstrak Senyawa Fenolat

Senyawa fenolat terkonjugasi merupakan senyawa fenolat yang strukturnya terestifikasi pada gugus gula atau komponen molekul lainnya (Wang *et al.*, 2015). Berbeda dengan fenolat terkonjugasi, senyawa fenolat terikat merupakan senyawa fenolat yang tidak mudah larut dalam pelarut seperti metanol, etanol, dan aseton tanpa bantuan hidrolisis alkali. Senyawa fenolat terikat pada struktur komponen dinding sel seperti selulosa, hemiselulosa, lignin, pektin, dan protein (Pinelo *et al.*, 2006; Bourvellec *et al.*, 2009; Collinson dan Thielemans, 2010; Wang *et al.*, 2015). Aktivitas antioksidan ekstrak senyawa fenolat beras ketan merah disajikan pada Gambar 2. Aktivitas antioksidan tertinggi yang ditunjukkan Gambar 2 merupakan ekstrak senyawa fenolat bebas, terkonjugasi, dan terikat terdapat pada ketan merah pecah kulit yaitu berturut-turut $IC_{50}=4.52$; $IC_{50}=32.92$; $IC_{50}=30.65$ mg/ml. Menurut Wang *et al.* (2015) sebanyak 74% total fenolat yang terdapat pada varietas beras berwarna merupakan golongan fenolat yang tidak mudah larut dan dari segi aktivitas antioksidannya, senyawa fenolat terikat akan lebih tinggi dibandingkan senyawa fenolat bebas maupun terkonjugasi. Hasil pengujian aktivitas antioksidan yang tersaji pada Gambar 2 memiliki perbedaan dengan literatur yang justru menunjukkan ekstrak senyawa fenolat bebas memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan fenolat terkonjugasi dan fenolat terikat. Selain itu, pada pengujian total fenolat juga menunjukkan bahwa total fenolat senyawa fenolat terikat lebih tinggi dibandingkan dengan fenolat bebas. Hal ini disebabkan adanya perbedaan sampel ekstraksi yang digunakan dalam pengujian total fenolat dan aktivitas antioksidan. Pada pengujian aktivitas antioksidan, ekstrak sampel senyawa fenolat diperoleh dengan membuat ekstrak baru karena kadar ekstrak senyawa fenolat sebelumnya terlampaui sedikit. Hal tersebut menyebabkan adanya kemungkinan perbedaan kandungan total fenolat pada ekstrak yang dapat terjadi karena beberapa faktor seperti kontak dengan oksigen yang lebih tinggi, paparan cahaya, suhu, dan pH

yang berubah, sehingga dapat merusak komponen senyawa fenolat. Lemahnya korelasi antara kandungan total fenolat dan aktivitas antioksidan juga ditemukan pada penelitian sebelumnya (Heinonen *et al.*, 1998; Tanunawong dan Tawaruth, 2010). Meskipun senyawa fenolat menunjukkan antioksidan terbesar pada suatu *crude* ekstrak, jenis antioksidan lainnya seperti karoten, tokoferol, dan lainnya, dimungkinkan hal tersebut dapat mempengaruhi keseluruhan aktivitas antioksidan yang teranalisis. Selain itu, aktivitas antioksidan tidak selalu tergantung pada jumlah dari total senyawa fenolat yang terukur, melainkan dari struktur senyawa fenolat (Tanunawong dan Tawaruth, 2010; Manquian-Cerda *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2016; Chiang *et al.*, 2017). Gugus karbonil, asam aromatik, ester/lakton dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Selain itu, terlepasnya gugus karbonil dari cincin aromatik dan terdapatnya halangan sterik dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada sampel.

SIMPULAN

Kandungan senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan telah diteliti pada bagian pecah kulit, ketan sosoh, dan bekatul beras ketan merah. Pada semua jenis sampel, baik pada ketan pecah kulit, ketan sosoh (bagian endosperm) maupun bekatul (bran) mengandung lebih banyak total fenolat terikat dan terkonjugasi daripada fenolat bebas. Aktivitas antioksidan ekstrak senyawa fenolat tertinggi terdapat pada ketan merah pecah kulit meliputi semua jenis fenolat yaitu ekstrak fenolat bebas IC_{50} 4.52 mg/ml, fenolat terkonjugasi IC_{50} 9.92 mg/ml, dan fenolat terikat IC_{50} 30.65 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- Alves, G, H, Ferreira, C, D, Vivian, P, G, Monks, J, L, F, Elias, M, C, Vanier, L, N, de Oliveira, M. 2016. The revisited levels of free and bound phenolics in rice: Effects of the extraction procedure. *Food Chemistry*. 208:116-123
- Balai Besar Penelitian Tanaman Padi. 2015. Padi ketan: rendah kadar amilosa, tinggi kadar amilopektin. Dilihat 26 Oktober 2016. <<http://bbpadi.litbang>.

- pertanian.go.id/index.php/berita/info-teknologi/content/183-padi-ketan-rendah-kadar-amilosa-tinggi-kadar-amilopektin>
- Badan Perencanaan Pembangunan Daerah Pemerintah Provinsi Jawa Timur. 2015. Dokumentasi hasil pelaksanaan pembangunan kabupaten dan kota se-jawa timur tahun 2015. Dilihat 20 November 2016. <http://bappeda.jatimprov.go.id/bappeda/wp-content/uploads/2015/12/dokumentasi_kab_kota_2015.pdf>
- Bourvellec, C, L, Guyot, S, Renard, C, M, G, C. 2009. Interactions between apple (*malus x domestica* Borkh.) polyphenols and cell walls modulate the extractability of polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*. 75(22):251-261
- Chen, G, L, Zhang, X, Chen, S, G, Han, M, D, Gao, Y, Q. 2017. Antioxidant activities and contents of free, esterified and insoluble-bound phenolics in 14 subtropical fruit leaves collected from the south of China. *Journal of Functional Foods*. 30:290-302
- Chiang, P, S, Lee, D, J, Whiteley, C, G, Huang, C, Y. 2017. Antioxidant phenolic compounds from *Pinus morrisiconicola* using compressional-puffing pretreatment and water-ethanol extraction: Optimization of extraction parameters. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 70:7-14
- Collinson, S, R, Thielemans, W. 2010. The catalytic oxidation of biomass to new materials focusing on starch, cellulose and lignin. *Coordination Chemistry Reviews*. 254(15-16):1854-1870
- Ernayanti. 2003. *Ensiklopedi makanan tradisional di Pulau Jawa dan Pulau Madura*. Kementerian Kebudayaan dan Pariwisata, Jakarta
- Gunaratne, A, Wu, K, Li, D, Bentota, A, Corke, H, Cai, Y, Z. 2013. Antioxidant activity and nutritional quality of traditional red-grained rice varieties containing proanthocyanidins. *Food Chemistry*. 138(2-3):1153-1161
- Heinonen, I, M, Meyer, A, S, Frankel, E, N. 1998. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J. Agric. Food Chem*. 46(10):4107-4112
- Kadiriantau, DME. 2000. Kajian Isothermi Sorpsi Air (ISA) dan Stabilitas Tepung Ketan selama Penyimpanan. Skripsi. IPB. Bogor
- Kaliora, A, C, Kogiannou, D, A, A, Kefalas, P, Papassideri, I, S, Kalogeropoulos, N. 2014. Phenolic profiles and antioxidant and anticarcinogenic activities of greek herbal infusions; balancing delight and chemoprevention?. *Food Chemistry*. 142:233-241
- Li, L, Shewry, P, R, Ward, J, L. 2008. Phenolic acids in wheat varieties in the health-grain diversity screen. *J. Agric. Food Chem*. 56(21): 9732-9739
- Ling, W, H, Cheng, Q, X, Ma, J, Wang, T. 2001. Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. *J. Nutr*. 131(5):1421-1426
- Liu, R, H. 2007. Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*. 46(3):207-219
- Luo, C, Wang, X, Gao, G, Wang, L, Li, Y, Sun, C. 2013. Identification and quantification of free, conjugate and total phenolic compounds in leaves of 20 sweetpotato cultivars by HPLC-DAD and HPLC-ESI-MS/MS. *Food Chemistry*. 141(3):2697-2706
- María, C, S, Revilla, E, Rodríguez-Morgado, B, Castaño, A, Carbonero, P, Gordillo, B, Cert, R, Parrado, J. 2016. Effect of rice parboiling on the functional properties of an enzymatic extract from rice bran. *Journal of Cereal Science*. 72:54-59
- Manquian-Cerda, K, Escudey, M, Zúñiga, G, Arancibia-Miranda, N, Molina, M, Cruces, E. 2016. Effect of cadmium on phenolic compounds, antioxidant enzyme activity and oxidative stress in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) plantlets grown in vitro. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 133:316-326
- Muchlisyyah, J, Prasmita, H, S, Estiasih, T, Laeliocattleya, R, A, Palupi, R. 2016. Sifat Fungsional tepung ketan merah prigelatinisasi. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 17(3):195-202
- Muntana, N, Prasong, S. 2010. Study on total phenolic contents and their antioxidant activities of thai white, red and black rice bran extracts. *Pak. J. Biol. Sci*. 13(4):170-174
- Pinelo, M, Arnous, A, Meyer, A, S. 2006. Upgrading of grape skins: significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol

- release. *Trends in Food Science & Technology*. 17(11):579-590
- Rasyid, HN. 2004. *Ensiklopedi Makanan Tradisional Indonesia (Sumatera)*. Kementerian Kebudayaan dan Pariwisata, Jakarta
- Paiva, F, F, Vanier, N, L, de Jesus Berrios, J, Pan, J, de Almeida Villanova, F, Takeoka, G, Elias, M, C. 2014. Physicochemical and nutritional properties of pigmented rice subjected to different degrees of milling. *Journal of Food Composition and Analysis*. 35(1):10-17
- Pereira-Caro, G, Watanabe, S, Crozier, A, Fujimura, T, Yokota, T, Ashihara, H. 2013. Phytochemical profile of a Japanese black-purple rice. *Food Chemistry*. 141(3):2821-2827
- Qiu, Y, Liu, Q, Beta, T. 2010. Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids. *Food Chemistry*. 121(1):140-147
- Rohaeni, W, R, Hastini, T. 2015. Inventarisasi padi lokal di kawasan ciater, subang, provinsi jawa barat. *Pros. Sem. Nas. Masy. Biodiv. Indon*. 1(2):189-193
- Sattaka, P, Pattaratuma, S, Attawipakpaisan, G. 2017. Agricultural extension services to foster production sustainability for food and cultural security of glutinous rice farmers in Vietnam. *Kasetsart Journal of Social Sciences*. 38(1):74-80
- Shao, Y, Bao, J. 2015. Polyphenols in whole rice grain: genetic diversity and health benefits. *Food Chemistry*. 180:86-97
- Sharma, O, P, Bhat, T, J. 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*. 113(4):1202-1205
- Shen, Y, Jin, L, Xiao, P, Lu, Y, Bao, J. 2009. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *Journal of Cereal Science*. 49(1):106-111
- Sompong, R, Siebenhandl-Ehn, S, Linsberger-Martin, G, Berghofer, E. 2011. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from thailand, china and sri lanka. *Food Chemistry*. 124(1):132-140
- Suhartatik, N, Cahyanto, M, N, Raharjo, S, Rahayu, E, S. 2013. Aktivitas antioksidan antosianin beras ketan hitam selama fermentasi. *J. Teknol. dan Industri Pangan*. 24(1):115-119
- Suhartatik, N, Karyantina, M, Mustofa, A, Cahyanto, M, N, Raharjo, S, Rahayu, E, S. 2013. Stabilitas ekstrak antosianin beras ketan (*Oryza sativa var. glutinosa*) hitam selama proses pemanasan dan penyimpanan. *AGRITTECH*. 33(4):384-390
- Sukenti, K, Hakim, L, Indriyani, S, Purwanto, Y, Matthews, P, J. 2016. Ethnobotanical study on local cuisine of the sasak tribe in lombok island, indonesia. *Journal of Ethnic Foods*. 3(3):189-200
- Tanunawong, K, Tewaruth, W. 2010. Extraction and application from black glutinous rice. *LWT-Food Science and Technology*. 43(3):476-481
- Walter, M, Marchesan, E, Massoni, P, F, S, da Silva, L, P, Sartori, G, M, S, Ferreira, R, B. 2013. Antioxidant properties of rice grains with light brown, red and black pericarp colors and the effect of processing. *Food Research International*. 50(2):698-703
- Wang, W, Guo, J, Zhang, J, Peng, J, Liu, T, Xin, Z. 2015. Isolation, identification and antioxidant activity of bound phenolic compounds present in rice bran. *Food Chemistry*. 171:40-49
- Wu, X, Guan, W, Yan, R, Lei, J, Xu, L, Wang, Z. 2016. Effects of UV-C on antioxidant activity, total phenolics and main phenolic compounds of the melanin biosynthesis pathway in different tissues of button mushroom. *Postharvest Biology and Technology*. 118:51-58
- Yawadio, R, Tanimori, S, Morita, N. 2007. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chemistry*. 101(4):1616-1625
- Zhang, M, W, Zhang, R, F, Zhang, F, X, Liu, R, H. 2010. Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties. *J. Agric. Food Chem*. 58(13):7580-7587
- Zaupa, M, Calani, L, Del Rio, D, Brighenti, F, Pellegrini, N. 2015. Characterization of total antioxidant capacity and (poly) phenolic compounds of differently pigmented rice varieties and their changes during domestic cooking. *Food Chemistry*. 187:338-347
- Zhang, H, Shao, Y, Bao, J, Beta, T. 2015. Phenolic compounds and antioxidant properties of breeding lines between the white and black rice. *Food Chemistry*. 172:630-639