

PENGAYAAN ANTIOKSIDAN UNTUK BERAS MERAH ARTIFICIAL DENGAN EKSTRAK PEWARNA MERAH ALAMI *Rhoeo Discolor L. Her*

(Antioxidant Enrichment for Artificial Red Rice by Natural Red Pigment Extract From *Rhoeo Discolor L. Her*)

Husniati¹⁾, Junaidi Permana²⁾, Tati Suhartati²⁾

¹⁾Balai Riset dan Standardisasi Industri Bandar Lampung, Jl. By Pass Soekarno Hatta KM 1, Rajabasa, Bandar Lampung 35142, Indonesia

²⁾Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung Jl. Prof. Dr. Ir. Sumantri Brojonegoro No. 1, Rajabasa, Bandar Lampung 35141, Indonesia
e-mail: husniati@kemenperin.go.id

Diterima 04 September 2019, Revisi akhir 06 April 2020, Disetujui 07 April 2020

ABSTRAK. Beras artificial menjadi salah satu alternatif diversifikasi pangan berbahan baku karbohidrat lokal bukan beras. Umumnya, beras artificial menggunakan bahan baku berbasis tepung seperti singkong, tapioka, jagung dan sagu asal Indonesia, serta tambahan mikronutrien seperti mineral dan vitamin. Penelitian ini bertujuan untuk mengaplikasikan pewarna merah antosianin yang mengandung antioksidan untuk pembuatan beras merah artificial. Pewarna merah diekstrak dari bagian daun Adam hawa (*Rhoeo discolor L. Her*) dalam pelarut air (akuades) yang mengandung asam dan diperkirakan sebagai senyawa sianidin-3-galaktosa atau peonidin-3-glukosa. Produk beras merah artificial diuji derajat warnanya mengacu nilai Lab CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) dan jika dibandingkan dengan beras merah alami maka beras merah artificial menunjukkan skala pembacaan warna merah, kecerahan, serta ketstabilan warna merahnya ke arah lebih terang.

Kata kunci: Antioksidan, antosianin, beras artificial, *Rhoeo discolor L. Her*

ABSTRACT. Artificial rice is one of food diversification alternative from non-rice local carbohydrates. Generally, artificial rice is a flour based using cassava, tapioca, corn and sago from Indonesia as raw material, with additional of micronutrients such as mineral and vitamin. This research aimed to apply the red pigment anthocyanin which contain antioxidants for artificial red rice production. Red pigment was extracted from Adam hawa (*Rhoeo discolor L. Her*) leaves in acid water solvent and predicted as cyanidin-3-galactose or peonidin-3-glucose compounds. Artificial red rice was tested its color degree based on the CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) Lab method and the result indicated the red color brightness and its color stability lighter than natural red rice.

Keywords: Anthocyanins, antioxidants, artificial rice, *Rhoeo discolor L. Her*

1. PENDAHULUAN

Indonesia memproduksi beras sebanyak 32,42 juta ton beras di tahun 2018 (BPS, 2018). Indonesia tercatat sebagai produsen ketiga dunia untuk komoditas beras setelah beberapa negara eksportir seperti Thailand, India dan Vietnam. Namun, produksi beras yang cukup besar tersebut tidak dapat memenuhi konsumsi beras per kapita di Indonesia yang mencapai 150 kilogram beras per orang per tahun di tahun 2017. Selama ini impor beras merupakan solusi yang dapat dilakukan

untuk memenuhi kebutuhan masyarakat. Padahal, Indonesia memiliki banyak sumber karbohidrat lain yang dapat dikenalkan kepada masyarakat. Oleh karena itu, penelitian dan pengembangan untuk keragaman pangan berbasis potensi lokal merupakan upaya mengurangi impor bahan baku dari beras.

Beras *artificial* adalah produk pangan olahan berbasis singkong, jagung, serta sumber pati lokal lain yang dicetak menyerupai butiran beras. Beras *artificial* ini umumnya terkarakterisasi dari komponen bahan baku yang ditambahkan. Upaya

untuk meningkatkan nilai nutrisi pada bahan baku tersebut ditunjukkan dengan beberapa penelitian tentang pembuatan beras *artificial* dengan pengayaan sifat-sifat serat (Kharisma, 2015), mineral (Li *et al.*, 2008; Bett-Garber *et al.*, 2004), vitamin (Murphy *et al.*, 1992), protein (Pudjihastuti *et al.*, 2018), pewarna antosianin (Husniati dan Budijanto, 2016) dan polifenol (Hanifa, 2016). Selain meningkatkan nilai tambah, pengayaan beras *artificial* juga dilakukan dalam rangka ikut serta menjamin ketahanan pangan nasional.

Tanaman adam hawa (*Rhoeo discolor* L. Her) atau tumbuhan nanas kerang merupakan jenis tumbuhan liar dan dikenal sebagai tanaman hias di Jawa. Belum banyak yang melaporkan pemanfaatan dari tanaman ini untuk bahan baku obat-obatan di Indonesia. Padahal, tanaman ini telah dimanfaatkan sebagai tanaman obat untuk mengatasi berbagai penyakit di Mexico (Rosales-Reyes *et al.*, 2007). Selain itu, *Rhoeo discolor* juga dimanfaatkan sebagai obat disentri, luka bakar, batuk dan lainnya di Myanmar (Win *et al.*, 2001).

Tumbuhan ini memiliki ciri-ciri yaitu daun tunggal berbentuk panjang melebar, tepi daun merata atau bergigi kasar tidak teratur, runcing di bagian ujung, permukaan atas berwarna hijau dan merah, bagian bawah daun licin serta memiliki rambut (Kadowangko *et al.*, 2011). Berdasarkan kandungan senyawa yang terdapat didalamnya, tanaman adam hawa mengandung senyawa fenolik, kloropilin, katekin, asam askorbat dan β -karoten. Senyawa tersebut bila diekstrak memiliki khasiat antigenotoksik, antimutagenik, dan antimikroba (Parivuguna *et al.*, 2008; Garcia-Varela *et al.*, 2015; Win *et al.*, 2001), antikanker pada hati tikus (Rosales-Reyes *et al.*, 2007) dan antioksidan (Gonzalez-Avila *et al.*, 2002).

Senyawa antosianin adalah kelompok senyawa flavonoid yang larut dalam air (Sitorus *et al.*, 2011; Harborne, 1998; Andersen *et al.*, 2006). Senyawa ini bertanggung jawab terhadap munculnya warna pada banyak jaringan tumbuhan yang terdapat pada bunga, buah beri dan sayuran. Contoh sayuran yang mengandung antosianin adalah kubis merah, selada merah, bawang putih, kentang berkulit merah dan ubi jalar ungu dengan karakter warna biru, jingga, dan merah (Markakis, 1982). Fungsi dari antosianin pada sistem metabolisme manusia sebagai antioksidan (Diaconeasa *et al.*, 2015; Guerrero *et al.*, 2010), antikanker (Roobha *et al.*, 2011), antitumor (Joshi and Goyal, 2011), antimikroba (Khalid *et al.*, 2011), antiinflamasi (Miguel, 2011),

antiangiogenesis (Bagchi *et al.*, 2004), inhibitor enzim α -glukosidase (Braulich *et al.*, 2013), sebagai pencegah obesitas (Tsuda *et al.*, 2003), pengikat logam berat dari timbal dan kadmium (Ahmed *et al.*, 2013), dan sebagai fotosensitizer pada sel surya (Maddu *et al.*, 2007).

Berdasarkan penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya oleh Husniati dan Budijanto (2016) tentang penambahan pewarna antosianin pada beras *artificial* dapat meningkatkan total fenol dan memberi warna merah pada beras *artificial*. Demikian juga yang telah dilaporkan oleh Hanifa (2016) dalam pembuatan beras *artificial* dengan sumber karbohidrat yang diperoleh dari ubi jalar ungu mampu meningkatkan kadar fenolik beras tersebut. Namun, kontribusi pewarna ubi jalar ungu sebagai sumber karbohidrat memberikan efek Maillard selama reaksi pembuatan adonan akibat pemanasan, sehingga beras yang dihasilkan berwarna ungu tua/pekat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengaplikasikan pewarna merah alami dari daun adam hawa pada beras merah *artificial*. Pewarna tersebut dikarakterisasi mulai dari tahapan isolasi, fraksinasi dan sifat antioksidannya ditinjau dari stabilitas warna terhadap beras merah alami. Pengayaan beras *artificial* menggunakan sumber antosianin ini belum banyak dikaji dan diharapkan mampu memberikan nilai nutrisi komponen karbohidrat dengan pigmen warna merah yang mengandung antosianin sebagai sumber antioksidan sebagaimana beras merah alami kaya antosianin dan sumber antioksidan (Hou *et al.*, 2013; Cho dan Lim, 2016; Sirisomboon, 2017; Zeng *et al.*, 2019). Selain itu, aplikasi ekstrak daun adam hawa pada beras merah *artificial* juga dapat memberikan informasi mengenai pengaruh adanya sifat-sifat fungsional dari senyawa lainnya selain senyawa yang memiliki sifat antioksidan yang perlu dikaji lebih lanjut.

2. METODE PENELITIAN

Bahan penelitian ini menggunakan daun adam hawa segar yang diperoleh dari halaman pekarangan, akuades, HCl 37% (Panreac), asam asetat, butanol, dan metanol (Merck), 0,5 mM DPPH, material kolom Sephadex LH-20 dari Ge Healthcare sebagai, plat KLT merek Merck Kiesegal 60 F₂₅₄ 0,25 mm (Permana, 2015) serta bahan-bahan pembuat beras merah *artificial* (Husniati dan Budijanto, 2016).

Preparasi Optimasi Pelarut (Permana, 2015)

Daun adam hawa dicuci dan ditiriskan selama satu malam, kemudian dicincang dan dilakukan maserasi menggunakan empat jenis campuran pelarut yaitu pelarut akuades:HCl 37% dan AH (100:0,1 v/v), akuades:asam asetat galsial dan AA (100:0,1 v/v), metanol:HCl 37% dan MH (100:0,1v/v) serta akuades:metanol:HCl 37% dan AMH (50:50:0,1 v/v) selama 2x24 jam dengan perbandingan bahan baku dan pelarut sebesar 1:2 (b/v). Selanjutnya, ekstrak hasil maserasi dilakukan KLT dengan menggunakan adsorben silika dan eluen butanol:asam asetat:air (4:1:5 v/v) untuk dilihat berapa banyak noda/spot yang terbentuk. Pelarut dengan spot paling sedikit selanjutnya digunakan untuk tahap isolasi.

Isolasi (Permana, 2015)

Filtrat hasil optimasi di atas, dipekatkan menggunakan metode *freeze dry* (Labfreeze Instrument FD-10-MR) hingga diperoleh larutan 1/10 dari larutan awal. Kemudian ekstrak pekat dilakukan pemurnian menggunakan kromatografi kolom menggunakan Sephadex LH-20, selanjutnya tiap fraksi yang diperoleh dilakukan uji KLT dengan menggunakan adsorben silika dan eluen butanol:asam asetat:air = BAW (4:1:5 v/v). Fraksi yang memiliki spot yang sama pada kromatogram KLT dikumpulkan dan dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* (Heidholp).

Aplikasi Pembuatan Beras Merah

Pembuatan beras merah *artificial* dengan penambahan pewarna merah ekstrak adam hawa mengikuti prosedur Husniati dan Budijanto (2016). Beras merah *artificial* dibuat dari campuran bahan yang terdiri dari singkong, tapioka, onggok, ampas kelapa dengan perbandingan 44:43,7:2,3:10 (persen berat), 1% garam meja, 2% gliserol monostearat (GMS) dan ekstrak antosianin adam hawa hasil kolom sephadex LH 20 dengan kadar 2 ppm. Seluruh bahan dicampur menggunakan alat pencampur adonan selama 10 menit, selanjutnya adonan dimasukkan ke dalam *twin screw* ekstruder. Suhu ekstruder diatur pada suhu 80°C (*thermocontrol* 1), 80°C (*thermocontrol* 2) dan 70°C (*thermocontrol* 3). Kondisi setting lainnya pada *cutter* -41,5 Hz, *auger* -45,2 Hz, dan *screw* -34,2 Hz. Butiran beras *artificial* yang keluar dari alat pencetak selanjutnya dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C selama 3 jam.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Ekstrak antosianin hasil pemisahan diuji secara spektrofotometri UV-Vis menggunakan 0,1 % HCl dalam metanol. Pembacaan panjang gelombang maksimal dibandingkan dengan standar senyawa antosianin mengikuti metode Giusty dan Wrolstad (2001). Sampel diuji sebanyak dua kali ulangan.

Uji Kuantitatif Aktivitas Antioksidan

Uji antioksidan menggunakan metode yang dikembangkan oleh Garcia et al. (2012) dan sampel diuji sebanyak dua kali ulangan. Sebanyak 0,5 mL ekstrak antosianin direaksikan dengan 0,3 mL DPPH 0,5 mM dalam 3 mL etanol selama 100 menit. Campuran ekstrak, DPPH dan etanol sebagai larutan sampel, campuran 0,5 mL ekstrak antosianin dan 3,3 mL etanol sebagai larutan blanko, dan campuran 0,3 mL DPPH dan 3,5 mL etanol sebagai kontrol. Kemudian setiap larutan dibaca absorbasinya sebagai Abs sampel, Abs blanko, Abs kontrol pada panjang gelombang 517 nm. Persen aktivitas antioksidan (AA) dihitung menggunakan rumus persamaan (1) berikut (Garcia et al., 2012):

$$\%AA = 100 - \left[\frac{(Abs\ sampel - Abs\ blanko) \times 100}{Abs\ kontrol} \right] \dots(1)$$

Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan

Ekstrak senyawa antosianin dielusi pada KLT, kromatogram dari KLT yang masih basah lalu disemprotkan larutan 0,5 mM DPPH. Uji positif jika terbentuk spot berwarna kuning dengan latar belakang ungu (Supiyanti et al., 2010).

Analisis warna

Penentuan warna dengan instrumen *Datacolor* menggunakan standar warna beras putih alami. Identifikasi perbedaan warna sampel terhadap standar adalah perbandingan numerik antara warna sampel dengan standar. Hasil analisis memberikan pembacaan numerik berdasarkan parameter L (*lightness* skala 0, hitam-100, putih), nilai a dan b. Pembacaan derajat warna mengacu pada nilai Lab CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) (Rodriguez et al., 2001). Sampel diuji sebanyak dua kali ulangan.

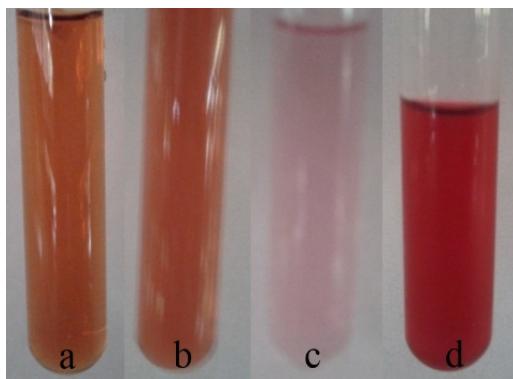
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi dan Isolasi

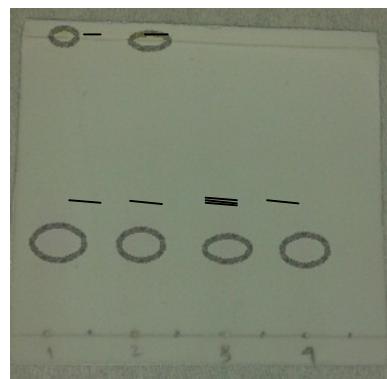
Pada umumnya, isolasi antosianin telah terekstrak dalam pelarut polar seperti 0,01% HCl (v/v) dalam aseton berair 70%, 0,01% HCl (v/v) dalam metanol (Rodriguez et al., 2001), dalam

etanol (Sitorus *et al.*, 2011; Braunlich *et al.*, 2013) dan dalam air (Padmaningrum, 2011). Hasil penelitian melalui pengamatan visual dan KLT ditunjukkan pada Gambar 1. Larutan berwarna merah terekstrak dalam pelarut AA (akuades:asam asetat) dan AH (akuades:HCl), sementara warna kecoklatan terekstrak dalam pelarut MH dan AMH kemungkinan ikut terekstraknya senyawa lainnya yang terkandung dalam daun adam hawa. Antosianin larut dalam beberapa pelarut polar seperti alkohol, aseton, dimetyl sulfoksida dan air (Giusty dan Wrolstad, 2001; Socaciu, 2007). Senyawa ini mudah berubah warna bergantung pada keadaan pH larutan (Markakis, 1982; Bondre *et al.*, 2012). Antosianin pada kondisi asam yaitu

pH 1-3 dalam bentuk kation flavilium yang stabil dan berwarna namun konsentrasi tinggi HCl akan menghidrolisis senyawa antosianin menghasilkan aglikon dan residu gula (Markham, 1988). Pelarut dari asam organik lemah menjadi alternatif untuk menghindari degradasi senyawa antosianin. Gambar 1 menunjukkan hasil ekstraksi menggunakan pelarut asam asetat memberikan larutan warna yang lebih muda. Hal ini diasumsikan jumlah antosianin yang terekstrak tidak banyak. Oleh karena itu, hasil KLT untuk pelarut akuades: HCl (AH) memberikan *spot* paling sedikit disertai ekor (*tailing*) dibandingkan pelarut lainnya memiliki beberapa *spot* dengan noda tidak tegas/jelas (Gambar 1).



(I) Larutan hasil ekstrak, dari kiri ke kanan dalam pelarut (a) MH, (b) AMH, (c) AA, (d) AH;



(II) Kromatogram KLT dari ekstrak berbagai pelarut (dari kolom kiri ke kanan). (1) AMH, (2) MH, (3) AH, dan (4) AA.

Gambar 1. Ekstraksi daun adam hawa dalam pelarut polar dan pengamatan visual melalui kromatogram KLT

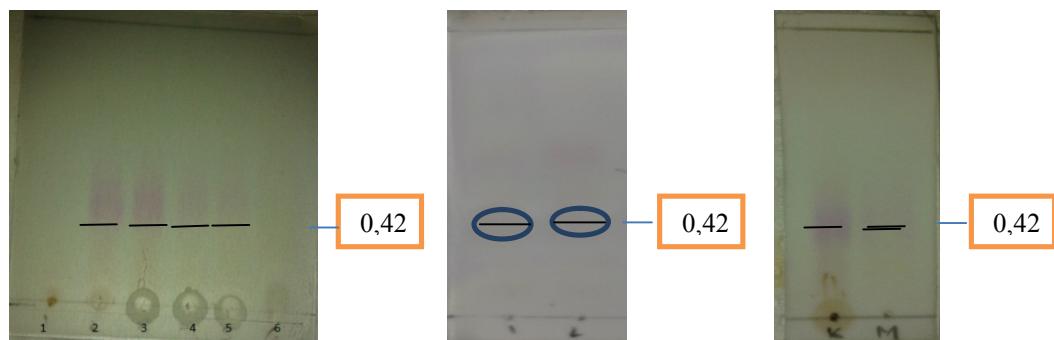
Pelarut akuades:HCl 0,1% (AH) dipilih sebagai pelarut untuk proses isolasi. Ekstrak akuades:HCl daun adam hawa dipekatkan menggunakan metode *freeze drying*. Setelah dilakukan pemekatan, larutan berubah menjadi warna merah keunguan. Warna ini menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa antosianin (Andrawulan dan Farailla, 2012). Proses pemisahan selanjutnya menggunakan kolom Sephadex LH-20. Prinsip pemisahan ini berdasarkan bobot molekul terlarut yang akan terelusi keluar terlebih dahulu, sedangkan bobot molekul kecil akan terabsorpsi ke dalam pori-pori (Hagerman, 2002). Proses kromatografi kolom menghasilkan 6 fraksi yang dikumpulkan dengan rentang waktu elusi 5 menit per fraksi. Kemudian, tiap fraksinya dilakukan analisis KLT ditunjukkan pada Gambar 2.

Berdasarkan hasil KLT pada Gambar 2a, fraksi 2-5 memiliki Rf yang sama yaitu sebesar 0,4. Fraksi ini dinamakan ekstrak antosianin daun adam hawa. Uji kualitatif bahwa Rf 0,42 adalah

antosianin yang terjadi bercak kuning dengan latar belakang ungu pada Rf 0,42. Uji kualitatif ini menegaskan bahwa ekstrak memiliki aktivitas antioksidan (Gambar 2b). Perbandingan banyaknya *spot* antara ekstrak kasar (K) dengan fraksi antosianin hasil kolom (M) dari hasil KLT menunjukkan bahwa kromatogram KLT dari M memiliki satu *spot* yang berwarna merah dengan Rf 0,4 sedangkan K masih memiliki banyak *spot* yang menunjukkan masih banyak senyawa lain yang terkandung dalam ekstrak Gambar 2c.

Penentuan Struktur Molekul Antosianin

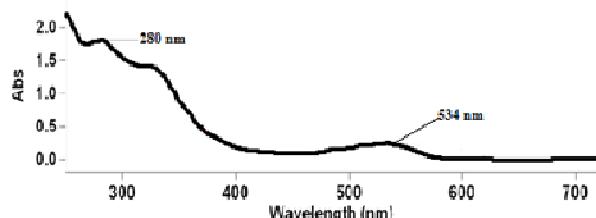
Struktur molekul antosianin ditentukan dari serapan maksimum panjang gelombang pada daerah tampak menggunakan UV-Vis. Pembacaan spektrum panjang gelombang pada daerah UV-Vis rentang 700-400 nm menunjukkan panjang gelombang maksimal pada 534 nm (Gambar 3). Berdasarkan data spektrum panjang gelombang yang dibandingkan dengan panjang gelombang dan absorptivitas molar senyawa antosianin menurut



(a) Dari kiri ke kanan fraksi 1-6, well no 2-5 mengandung noda pada R_f 0,42
 (b) Hasil uji antioksidan, well 1 ekstrak kasar, 2 ekstrak kolom
 (c) KLT dari ekstrak kasar (K) dan fraksi murni (M)

Gambar 2. (a) Kromatogram hasil kolom dengan KLT silika dan eluen BAW (4:1:5 v/v);
 (b) Hasil uji antioksidan; (c) Hasil konfirmasi senyawa murni terhadap ekstrak kasar

Protocol Kimia Analitik Pangan Gusty dan Wrolstad (2001), hasil pengukuran yang mendekati untuk senyawa ini adalah senyawa sianidin-3-galaktosa (530 nm) atau peonidin-3-glukosa (536 nm). Struktur molekul kedua senyawa tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 3. Spektrum UV-Vis fraksi antosianin

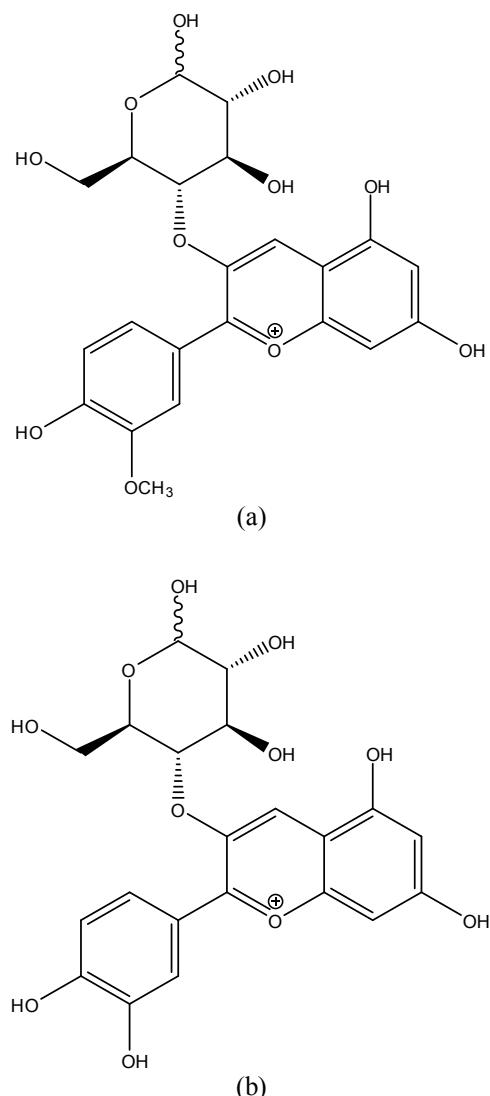
Aktivitas Antioksidan

Hasil pengujian kuantitatif aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH adalah serapan sampel sebesar 0,2919; serapan larutan blanko 0,1943 dan serapan kontrol 0,4939. Menurut formula di atas, maka ekstrak antosianin daun adam hawa memiliki kapasitas antioksidan sebesar 80,2389%. Nilai ini mendekati aktivitas antioksidan asam askorbat (vitamin C) sebesar 95 % (Joshi dan Goyal, 2011).

Aplikasi pada Pembuatan Beras Merah Artificial

Aplikasi pewarna merah antosianin dari daun adam hawa pada pembuatan beras merah *artificial* telah dilaporkan oleh Husniati dan Budijanto (2016). Beras dibuat dengan teknologi ekstruksi pada paparan panas 70-80 °C. Standar pengujian Tabel 1 menggunakan beras putih alami yang berbeda dengan laporan sebelumnya dari Husniati dan Budijanto (2016) yang mengacu pada standar beras merah alami. Tabel 1 menunjukkan

identifikasi pengukuran warna menggunakan *Datacolor* dengan iluminan jenis D65 10 Deg.



Gambar 4. Struktur senyawa (a) Peonidin-3-glukosa, (b) Sianidin-3-galaktosa

Tabel 1. Hasil identifikasi perbedaan warna dari beras merah *artificial* dan alami menggunakan koordinat Lab.

| Sampel | L | A | b | DL | Da | Db |
|-------------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| Beras merah <i>artificial</i> | 71,12 | 4,17 | 13,18 | -9,05 | 4,52 | -1,67 |
| Beras merah alami | 42,83 | 12,09 | 17,52 | -37,34 | 12,44 | 2,67 |

Keterangan: L = *lightness*/kecerahan (100) dan hitam (0), a= koordinat merah (+)/hijau (-), dan b= koordinat kuning (+)/biru (-), DL, Da, dan Db diperoleh dari selisih numerik/perbedaan warna sampel dengan standar.

yang berbeda dengan laporan sebelumnya dari Husniati dan Budijanto (2016) yang mengacu pada standar beras merah alami. Tabel 1 menunjukkan identifikasi pengukuran warna menggunakan *Datacolor* dengan iluminan jenis D65 10 Deg.

Pengujian warna memberi informasi terdapat persepsi warna yang diperoleh dari tiga jenis cahaya kromatis yang dilalui oleh cahaya merah, hijau, dan biru (Giusty dan Wrolstad, 2001). Standar pengujian yang digunakan mempengaruhi hasil pembacaan warna. Seperti halnya penelitian Husniati dan Budijanto (2016) yang melaporkan bahwa penggunaan beras merah sebagai standar menghasilkan pembacaan beras merah *artificial* ke arah hijau dan biru. Sementara itu, hasil yang diperoleh dengan standar beras putih memberikan pembacaan arah warna yaitu nilai L (*lightness*) mengarah warna cerah dengan skala pembacaan 80,17; nilai a memberikan skala pembacaan mengarah warna merah (+)4,17 dan b warna kekuningan (+)14,85.

Berdasarkan perbandingan hasil pembacaan warna untuk sampel beras merah *artificial* dengan penambahan pewarna ekstrak daun adam hawa terhadap warna beras merah alami, maka dapat dinyatakan bahwa nilai L beras merah *artificial* pada skala mendekati 100. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat kecerahan tinggi sementara beras merah alami (*natural*) dengan warna mendekati hitam (nilai L=43), dengan arah ketebalan warna untuk *artificial* ke arah terang (dL mendekati nol) sementara beras merah alami ke arah pekat (dL-).

Pembacaan nilai a untuk sampel *artificial* maupun alami menunjukkan tingkat warna ke arah merah (a+) dan lebih merah (Da+) dengan perbandingan lebih kuat 3 kali untuk perbedaan warna merah beras merah alami dibandingkan beras merah *artificial*. Pembacaan nilai b memberi persepsi tingkat warna ke arah kuning dan lebih kuning (Db+) untuk sampel alami sementara sampel *artificial* memberikan persepsi kurang untuk warna kuning.

4. KESIMPULAN

Hasil pemisahan ekstrak antosianin daun adam hawa menggunakan kromatografi kolom Sephadex LH-20 diperkirakan secara spektrofotometri UV-Vis terkandung kelompok senyawa antosianin jenis sianidin-3-galaktosa atau peonidin-3-glukosa yang mempunyai aktivitas antioksidan sebesar 80,23891% berdasarkan metode DPPH. Ekstrak antosianin kaya antioksidan ini ditambahkan pada pembuatan beras merah *artificial* dan memberi indikasi warna cerah (L=71,12) dan merah (a +4,17) dengan ketebalan warna merah ke arah lebih muda (Da +4,52) serta warna kuning yang lemah (b +13,18 dan Db -1,67). Pembacaan ini mempersepsikan tingkat warna *artificial* ke arah merah muda dan lebih cerah dibandingkan terhadap standar beras merah alami berwarna merah tua dan kurang cerah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, J.K., Salih, H.A.M., & Hadi, A.G. (2013). Anthocyanins in red beet juice act as scavengers for heavy metals ions such as lead and cadmium. *The International Journal of Science and Technology*, 2 (3), 269-274. ISSN 2049.7318.
- Andersen, O.M., & Markham, K.R. (2006). *Flavonoids: Chemistry, biochemistry, and applications*. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press, pp. 328; 397-398; and 473. ISBN 0-8493-2021-6.
- Andrawulan, N., & Farailla, R.H.F. (2012). *Pewarna alami untuk pangan*. Bogor, Indonesia: SEAFAST Center IPB, pp. 23-27.
- Bagchi, D., Sen, C.K., Bagchi, M., & Atalay, M. (2004). Anti-angiogenic, antioxidant, and anti-carcinogenic properties of a novel anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochemistry*, 69, 75-80.
- Bett-Garber, K.L., Champagne, E.T., Ingram, D.A., and Grimm, C.C. 2004. Impact of iron source and concentration on rice flavor using a simulated rice kernel micronutrient delivery system. *Cereal Chemistry*, 81(3), 384-388.
- Bondre, S., Patil, P., Kulkarni, A., & Pillai, M.M. (2012). Study on isolation and purification of

- anthocyanins and its application as pH indicator. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*, 3 (3), 698-702. ISSN 2278-599X.
- Braulich, M., Slimestad, R., Wangensteen, H., Brede, C., Malterud, K.E., & Barsett, H. (2013). Extract, anthocyanins and procyanidins from *Aronia melanocarpa* as radical scavengers and enzyme inhibitor. *Nutrients*, 5 (3), 663-678. doi:10.3390/nu5030663.
- BPS. (2018). *Ringkasan eksekutif luas panen dan produksi beras di Indonesia 2018*. Jakarta: BPS Press. Pp. 17. ISBN: 978-602-438-237-7.
- Cho, D.H. and Lim, S.T. (2016). Germinated brown rice and its bio-functional compound. *Food Chemistry* 196: 259-271.
- Diaconeasa, Z., Leopold, L., Rugina, D., Ayvaz, H., & Socaciu, C. (2015). Antiproliferative and Antioxidant Properties of Anthocyanin Rich Extracts from Blueberry and Blackcurrant Juice. *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (2), 2356-2358. doi:10.3390/ijms16022352.
- Garcia, E.J., Oldoni, T.L.C., de Alencar, S.M., Reis, A., Loguercio, A.D., & Grande, R.H.M. (2012). Antioxidant activity by DPPH assay of potential solution to be applied on bleached teeth. *Brazilian Dental Journal*, 23 (1), 22-27. doi: 10.1590/S0103-64402012000100004.
- Garcia-Varela, R., Garcia-Garcia, R.M., Barba-Davila, B.A., Fajardo-Ramirez, O.R., Serna-Saldivar, S.O., & Cardineau, G.A. (2015). Antimicrobial activity of *Rhoeo Discolor* phenolic rich extract determination by Flow Cytometry. *Molecule*, 20 (10), 18685-18703. doi: 10.3390/molecules201018685.
- Giusti, M.M., & Wrolstad, R.E. (2001). *Current protocol in food analytical chemistry. Characterization and measurement of anthocyanin by UV-Visible Spectroscopy*. Unit F1.2.1-F1.2.13. Ney Jersey: John Wiley & Sons Inc., pp 1-7.
- Gonzalez-Avila, M., Arriaga-Alba, M., de la Garza, M., del Carmen Hernandez Pretelin, M., Dominguez-Ortiz, M.A., Fattel-Fazenda, S., & Villa-Trevino, S. (2003). Antigenotoxic, antimutagenic and ROS scavenging activities of a *Rhoeo discolor* ethanolic crude extract. *Toxicology in Vitro*. 17 (1), 77-83. doi: 10.1016/S0887-2333(02)00120-0.
- Guerrero, J. C., Ciampi L.P., Castilla A.C., Medel F.S., Schalchli H.S., Hormazabal E.U., Bensch E.T., & Alberdi M.L. (2010). Antioxidant capacity, anthocyanins, and total phenols of wild and cultivated berries in Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70 (4), 537-544.
- Hagerman, Ann E. (2002). *Sephadex LH-20*. USA: Amersham Biosciences.
- Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical methods : A guide to modern techniques of plant analysis* Third Edition. London, UK: Chapman Hall, pp. 66.
- Hanifa, N. (2016). *Pengembangan beras analog beras jalar ungusebagai pangang fungsional tinggi serta dan kaya polifenol*. Unpublished SkripsiFakultas Teknologi Pertanian ITP Institut Teknologi Bogor, Indonesia.
- Hou, F., Zhang, R., Zhang, M., Su, D., Wei, Z., Deng, Y., Zhang, Y., Chi, J., Tang, X. (2013). Hepatoprotective and antioxidant activity of anthocyanins in black rice bran on carbon tetrachlorida-induced liver injury in mice. *Journal of Functional Foods*. 1-9, doi : 10.1016/j.jff.2013.07.015.
- Husniati, Budijanto, S. (2016). Peningkatan Mutu Beras Merah Artificial Melalui Penambahan Pewarna Antosianin. *Prosiding Kongres Teknologi Nasional 2016- Inovasi Teknologi untuk Kejayaan bangsa dan Negara* (pp. 403-410). Jakarta: BPPT. ISBN : 978-602-401-048-3.
- Joshi, Y., & Goyal, B. (2011). Anthocyanins: A lead for anticancer drugs. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 1 (4), 1119-1126. ISSN: 2231-2781.
- Kadowangko, N.Y., Solang, M., & Ahmad, J. (2011). *Kajian Etnobotani Tanaman Obat oleh Masyarakat Kabupaten Bone Bolango Provinsi Gorontalo*. Laporan Penelitian, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo.
- Khalid, N., Fawad, S.A., & Ahmed, I. (2011). Antimicrobial activity, phytochemical profile and trace minerals of black mulberry (*Morus nigra* L.) fresh juice. *Pak. J. Bot.*, 43, 91-96.
- Kharisma T. (2015). Formulasi beras analog dan studi efek hipokolesterolemiknya secara in vivo. [Tesis] Bogor (ID): IPB.
- Li, Y., Diosadyand, L., Jankowski, S. (2008). Effect of iron compounds on the storage stability of multiple fortified ultra rice[®]. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 423-429.
- Maddu, A., Zuhri, M., & Irmansyah. (2007). Penggunaan ekstrak antosianin kol merah sebagai fotosensitizer pada sel surya TiO₂ nanokristal tersensitisasi dye. *Makara Teknologi*, 11 (2), 78-84.
- Markakis, P. (1982). *Anthocyanins as Food Colors*. New York, USA: Academic Press. pp. 3-7. ISBN 0-12-472550-3.

- Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung, pp. 117.
- Miguel, M.G. (2010). Antioxidant and anti-Inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules*, 15, 9252-9287. doi:10.3390/molecules 15129252.
- Murphy, P.A., Smith, B., Hauck, C., and O'Connor, K. (1992). Stabilization of vitamin A in a synthetic rice premix. *Journal of Food Science*, 57 (2), 437-439.
- Padmaningrum, R.T. (2011). *Karakter Ekstrak Zat Warna Daun Rhoeo discolor sebagai Indikator Titrasi Asam Basa*. Unpublished Skripsi. Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.
- Parivuguna, V., Gnanaprabhal, R., Dhanabalan, R., & Doss, A. (2008). Antimicrobial properties and phytochemical constituent of *Rhoeo discolor* hance. *Ethnobotanical Leaflets*. 12: 841-845.
- Permana, J. (2015). *Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Antosianin Dari Daun Adam Hawa (Rhoeo discolor L. Her)*. Unpublished Skripsi. FMIPA Kimia Universitas Lampung, Indonesia.
- Pudjiastuti, I., Sumardiono, S., & Kusumayanti, H. (2018). Analog Rice Development as Alternative Food Made of Raw Composite Flour Enriched Protein *Canavalia ensiformis*. *E3S Web of Conferences*, 73, 13017: 1-4, doi:10.1051/e3sconf/20187313017
- Rodriguez, S., Luis, E., Wrolstad, R.E. (2001). *Current Protocol: Extraction, Isolation, and purification of anthocyanins*. Journal Current Protocol in Food Analytical Chemistry. Maryland, USA: University of Maryland College Park.
- Roobha, J., Saravanankumar, M., Aravindhan, K.M., & Devi, P.S. (2011). In vitro evaluation of anticancer property of anthocyanin extract from *Musa acuminata* bract. *Research in Pharmacy* 1 (4), 17-21. ISBN : 2231-539X.
- Rosales-Reyes, T., de la Garza, M., Arias-Castro, C., Rodriguez-Mendiola, M., Fattel-Fazenda, S., Arce-Popoca, E., Herández-García, S., & Villa-Trevino, S. (2008). Aqueous crude extract of *Rhoeo discolor*, a Mexican medicinal plant, decrease the formation of liver preneoplastic foci in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 115 (3), 381 - 386. doi:10.1016/j.jep.2007.10.022.
- Sirisomboon, P., Kaewsorn, K., Thanimkarn, S., and Phetpan, K. (2017). Non-linear viscoelastic behavior of cooked white, brown, and germinated brown Thai jasmine rice by large deformation relaxation test. *International Journal of Food Properties* 20 (7): 1547-1557. Doi: 10.1080/10942912.2016.1213741.
- Sitorus, R.M.H., Wullur, A.C., & Yamlean, P.V.Y. (2011). *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Daun Adam Hawa (Rhoeo discolor)*. Unpublished Skripsi. FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Makassar.
- Socaciu, C. (2007). *Food Colorants: Chemical and Functional Properties*. London: CRC Press. pp. 35-37. eISBN 9781420009286.
- Supiyanti, W., Endang, D.W., & Lia, K. (2010). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L). *Majalah Obat Tradisional* XV (2), 64-70.
- Tsuda, T., Horio, F., Uchida, K., Aoki, H., & Osawa, T. (2003). Dietary cyanidin 3-O-β-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and Ameliorates hyperglycemia in mice. *The Journal of Nutrition*, 133 (7), 2125-2130. doi: 10.1093/jn/133.7.2125.
- Win, N.Y., Nyein, M.M., Wynn, N., Myint, W., Myint, S.H., & Khine, M. (2001). Antibacterial Activity of Selected Myanmar Medicinal Plants. *J. Myan. Acad. Tech.* 1: 75-88. MM040005.
- Zeng, Z., Hu, X., McClements, D. J., Luo, S., Liu, C., Gong, E., & Huang, K. (2019). Hydrothermal stability of phenolic extracts of brown rice. *Food Chemistry*, 271: 114–121. doi:10.1016/j.foodchem.2018.07.180