

Identifikasi Kandungan Fenolik Total, Antosianin Total dan Asam Fitat Pada Beberapa Varietas Unggul Baru Beras Berwarna

Identification of Total Phenolic Content, Total Anthocyanins and Phytic Acid on Some New Pigmented Rice Varieties

Zahara Mardiah^{1*)}

¹Balai Besar Penelitian Tanaman Padi (BB PADI)
Jl. Raya IX Sukamandi, Subang, 41256

*)Correspondence author: zahara.mardiah@yahoo.com ,Tel. (0260)520157

ABSTRACT

Brown rice contain bioactive compounds that is extra nutrients compounds found in small quantities in foods such as phenolic compounds including anthocyanin. Phenolic compounds and anthocyanins in red rice can function as a source of antioxidants, prevent atherosclerosis, a disease of blood vessel blockage. Nowadays, Ministry of Agriculture Agricultural Research Agency of the Republic of Indonesia through the Indonesian Center for Rice Research (ICRR) have released new varieties (VUB) of pigmented rice i.e. Inpari 24 Inpara 7, Inpago 7 and Aek Sibundong. This study aims to investigate the content of phenolic compounds, anthocyanins and phytic acid on pigmented rice new varieties that have been released by ICRR. Analysis performed in this study was total phenolic content (TPC), total anthocyanin content and phytic acid content. TPC of Inpari 24 is not significantly different from the Inpago 7 but different from other varieties. While the TPC of Inpara 7 and Aek Sibundong show significantly different from other varieties. TPC of Inpari 24 Inpara 7, Inpago 7 and Aek Sibundong were 1500, 970, 1461 and 1201 mg/100g DM (dry weight), consecutively. The concentration of total anthocyanins of four pigmented rice new varieties showed significantly different between each varieties. The concentration of anthocyanins in four varieties ranged between 170-488 mg/100g BK. Meanwhile phytic acid in all varieties also showed significantly different between one another. Phytic acid of Inpago 7 showed highest concentration which was 274 mg/g DM while Inpara 7 showed lowest concentrations which was 11 mg/g DM compare to other varieties. Inpari 24 has a higher potential to be used as functional foods for everyday consumption instead of plain white rice. In addition Inpari 24 contained the highest TPC and total anthocyanin, and in the same time contained lower phytic acid than the other two varieties namely Inpago 7 and Aek Sibundong.

Keywords: red Rice, inpari 24 inpara 7, inpago 7, aek sibundong, phenolic compounds, anthocyanins, phytate acid

ABSTRAK

Beras merah mengandung senyawa bioaktif atau senyawa ekstra nutrisi yang terdapat dalam jumlah kecil pada pangan seperti senyawa fenolik termasuk didalamnya adalah antosianin. Senyawa fenolik dan antosianin pada beras merah dapat berfungsi sebagai sumber antioksidan, mencegah terjadinya aterosklerosis, penyakit penyumbatan pembuluh darah. Saat ini, Badan Litbang Pertanian Kementerian Pertanian Republik Indonesia melalui Balai Besar Penelitian Tanaman Padi telah melepas varietas unggul baru (VUB) beras merah seperti Inpari 24, Inpara 7, Inpago 7 dan Aek Sibundong. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa fenolik, antosianin dan asam fitat pada

beberapa varietas unggul baru yang telah dilepas oleh BB Padi. Analisa yang dilakukan pada penelitian ini adalah total senyawa fenolik, total senyawa antosianin dan kandungan asam fitat. Konsentrasi TSF varietas Inpari 24 tidak berbeda nyata dengan Inpago 7 namun berbeda nyata dengan varietas lainnya. Sedangkan konsentrasi TSF varietas Inpara 7 dan Aek Sibundong menunjukkan berbeda nyata dengan varietas lainnya. Konsentrasi TSF dari VUB beras merah Inpari 24, Inpara 7, Inpago 7 dan Aek Sibundong berturut turut adalah 1500, 970, 1461 dan 1201 mg/100g BK (berat kering). Konsentrasi total antosianin dari empat VUB beras merah menunjukkan berbeda nyata antara satu varietas dengan varietas lainnya. Konsentrasi antosianin pada empat VUB beras merah berkisar antara 170 – 488 mg/100 g BK. Sementara itu kandungan asam fitat pada semua VUB beras merah juga menunjukkan berbeda nyata antara satu dengan yang lainnya. Asam fitat pada varietas Inpago 7 menunjukkan konsentrasi yang paling tinggi sedangkan varietas Inpara 7 memiliki konsentrasi asam fitat paling rendah, dengan konsentrasi berturut-turut 274 mg/g BK dan 11 mg/g BK. Varietas Inpari 24 memiliki potensi yang lebih tinggi untuk dijadikan makanan fungsional untuk sehari-hari sebagai pengganti beras putih biasa. Selain mengandung TFS dan total antosianin yang paling tinggi, varietas Inpari 24 juga tidak mengandung asam fitat yang lebih rendah dari dua varietas lainnya yaitu Inpago 7 dan Aek Sibundong.

Kata kunci: beras merah, inpari 24, inpara 7, inpago 7, aek sibundong, senyawa fenolik, antosianin, asam fitat

PENDAHULUAN

Beras merah merupakan salah satu pangan fungsional dengan harga jual di pasaran cukup tinggi. Umumnya tekstur nasinya agak pera sampai pera sehingga kurang disukai konsumen. Badan Litbang Pertanian Kementerian Pertanian Republik Indonesia melalui Balai Besar Penelitian Tanaman Padi telah melepas varietas unggul baru (VUB) beras merah seperti Inpari 24, Inpara 7, Inpago 7 dan Aek Sibundong. Beras merah merupakan bahan pangan pokok yang bernilai kesehatan tinggi. Selain mengandung karbohidrat, lemak, protein, serat, dan mineral, beras merah juga mengandung senyawa bioaktif atau senyawa ekstra nutrisi yang terdapat dalam jumlah kecil pada pangan. Senyawa bioaktif utama yang terdapat pada beras merah adalah senyawa fenolik. Senyawa fenolik mempunyai struktur yang khas, yaitu memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat pada satu atau lebih cincin aromatik benzena, sehingga senyawa ini juga memiliki sifat yang khas, yaitu dapat teroksidasi.

Salah satu senyawa fenolik yang paling banyak terdapat pada beras merah adalah senyawa antosianin. Antosianin merupakan pigmen merah yang terkandung pada perikarp dan tegmen (lapisan kulit) beras, atau dijumpai pula pada setiap bagian gabah. Warna merah pada beras yang dihasilkan oleh antosianin dikarenakan susunan ikatan rangkap terkonjugasi yang panjang, sehingga mampu menyerap cahaya pada rentang cahaya tampak. Sistem ikatan rangkap terkonjugasi ini juga yang mampu menjadikan antosianin sebagai antioksidan dengan mekanisme penangkapan radikal. Radikal bebas adalah atom atau senyawa yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Kandungan antosianin pada beras merah dapat berfungsi sebagai antioksidan, antimutagenik, hepatoprotektif antihipertensi dan antihiperlipidemik. Fungsi antosianin bagi kesehatan manusia adalah sebagai antioksidan, mencegah terjadinya aterosklerosis, penyakit penyumbatan pembuluh darah. Antosianin bekerja menghambat proses aterosclerosis dengan mengoksidasi lemak jahat dalam tubuh, yaitu lipoprotein densitas rendah. Kemudian antosianin juga melindungi integritas sel endotel yang melapisi dinding

pembuluh darah sehingga tidak terjadi kerusakan (Ling et al., 2001; Hu et al., 2003; Zhang et al., 2006).

Senyawa fenolik paling banyak terdapat pada lapisan kulit ari, sehingga penyosohan beras merah akan mengakibatkan kandungan senyawa fenolik semakin berkurang. Oleh karena itu, beras merah umumnya dikonsumsi tanpa melalui proses penyosohan, yaitu dalam bentuk beras pecah kulit sehingga kulit arinya masih melekat pada endosperma. Kulit ari beras merah kaya akan antosianin, serat, asam lemak, vitamin, mineral serta asam fitat (Zhang et al., 2006). Asam fitat (myoinositol asam hexa-fosfat, IP6) adalah senyawa penyimpanan fosfor paling utama pada benih dan biji-bijian sereal, yaitu sekitar lebih dari 70% dari total fosfor. Asam fitat memiliki kemampuan mengikat ion logam multivalen, khususnya seng, kalsium dan zat besi. Pengikatan dapat menghasilkan garam yang bersifat sangat tidak larut sehingga menyebabkan rendahnya bioavailabilitas (tingkat serapan) mineral (Rhou dan Erdman, 1995). Karena itu asam fitat diasosiasikan sebagai zat anti-gizi.

Varietas-varietas beras merah memiliki kandungan senyawa fenolik, antosianin, flavonoid dan kandungan senyawa asam fitat yang berbeda-beda. Varietas yang memiliki senyawa biofungsi yang tinggi sekaligus hanya mengandung sedikit senyawa asam fitat sangatlah baik untuk dikonsumsi dan dikembangkan menjadi pangan fungsional. Karena itu penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kandungan senyawa-senyawa tersebut pada beberapa varietas unggul baru yang telah dilepas oleh BB Padi.

METODOLOGI

Varietas padi yang digunakan dalam penelitian ini adalah varietas Inpari 24, Inpago 7, Inpara 7, dan Aek Sibundong. Padi dihilangkan lapisan sekamnya sehingga menjadi beras pecah kulit (BPK) kemudian ditepungkan kemudian diayak menggunakan ayakan 80 mesh. Masing-masing sampel tepung ditimbang sebanyak 1 gram kemudian ditambahkan 5 ml metanol murni lalu divorteks. Sampel disonikasi (*Elma S 180 H*) selama 45 menit kemudian disentrifugasi menggunakan sentrifuse (*Beckman Coulter Allegra 64 R Centrifuge*) dengan kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit pada suhu 15°C. Supernatan yang diperoleh kemudian disimpan dalam lemari pendingin suhu 16°C hingga analisis. Supernatan selanjutnya disebut dengan ekstrak sampel.

Total Senyawa Fenolik (Orak, 2006 yang dimodifikasi) ditentukan dengan cara mengambil larutan ekstrak sebanyak 80 µl kemudian diencerkan dengan 2 mL milli-Q. Sebanyak 200 µl reagen *Follin Ciocalteu* 0.25 N lalu sampel didiamkan selama 3 menit kemudian ditambahkan 1 mL Na₂CO₃ 7.5 %. Inkubasi dalam ruangan gelap selama 2 jam pada suhu ruang kemudian absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer (*Beckman Coulter Allegra 64 R Centrifuge*) pada panjang gelombang 765 nm. Senyawa standar asam galat digunakan untuk menentukan konsentrasi total senyawa fenolik.

Total Senyawa Antosianin (Giusti dan Wrolstad, 2001) Sebanyak 1 ml supernatan dari ekstrak sampel dimasukkan dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambahkan dengan buffer Kalium Klorida pH 1.0 hingga total volume mencapai 10 mL dan ditunggu 1 menit kemudian langsung diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm dan 700 nm. Pada labu ukur 10 mL yang lain dimasukkan 1 mL ekstrak sampel lalu ditambahkan buffer Natrium Asetat pH 4.5 hingga total volume mencapai 10 mL dan ditunggu 1 menit kemudian langsung diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm dan 700 nm.

Rumus yang digunakan dalam menentukan total senyawa antosianin:

Absorbansi terkoreksi = (A510 nm – A700 nm) pH 1.0 – (A510 nm – A700 nm) pH 4.5

$$\text{Antosianin} = \frac{A \times BM \times FP \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Keterangan :

BM : Bobot molekul 449.2 g/mol

ϵ : 26900

Analisis Asam Fitat (Davies dan Reid 1979 yang dimodifikasi). Sampel sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 50 mL larutan HNO₃ 0.5 M dan diaduk selama 3 jam diatas penggoyang elektrik pada suhu ruang, kemudian disaring menggunakan kertas whatman no. 41. Sebanyak 0.05 mL supernatan/larutan hasil saringan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0.9 mL larutan HNO₃ 0.5 M serta 1 mL larutan FeCl₃ 0.5 M. Tabung reaksi ditutup dengan alumunium foil dan direndam dalam air mendidih selama 20 menit. Tahap selanjutnya adalah didinginkan kemudian ditambahkan amil alkohol sebanyak 5 mL dan larutan ammonium thiosianat sebanyak 0.1 mL. Pengukuran absorbansi dilakukan tepat 15 menit setelah penambahan larutan ammonium thiosianat. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer (*Shimadzu UV-2550 UV-Vis Spectrophotometer*) dengan panjang gelombang 465 nm dengan blanko amil alkohol. Konsentrasi asam fitat dihitung dengan menggunakan kurva standar dari senyawa asam fitat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

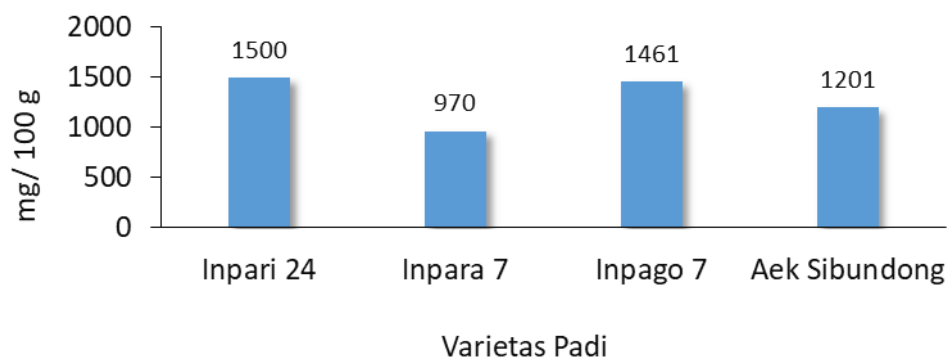
Pada penelitian ini, penentuan kandungan total senyawa fenolik (TSF) dilakukan dengan menggunakan pereaksi *Follin Ciocalteu*. Metode ini berdasarkan pada kekuatan reduksi dari gugus hidroksi fenolik. Prinsip kerja metode *Follin Ciocalteu* adalah reaksi antara senyawa fenolik dengan reagen Follin Ciocalteu, reaksi tersebut melibatkan oksidasi gugus fenolik (R-OH) dengan campuran asam fosfotungstat dan asam molibdat dalam reagen sehingga membentuk quinoid (R=O). Reagen Follin Ciocalteu biasa digunakan untuk mengukur tirosin dan triptofan dalam protein hidrolisat serta mengukur kadar fenolik dalam suatu bahan (Vermerris, 2006). Reagen Follin Ciocalteu akan merubah warna sampel menjadi biru. Adanya kerangka utama cincin aromatik pada senyawa fenol (gugus hidroksi fenolik) dapat mereduksi fosfomolibdat fosfotungstat menjadi molibdenum yang berwarna biru (Supriyono, 2008). Sampel yang telah ditambahkan reagen Follin Ciocalteu kemudian diinkubasi sebelum diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer agar reaksi antara sampel dengan reagen Follin Ciocalteu berlangsung sempurna (Ismail et al. 2012).

Kandungan total senyawa fenolik (TSF) pada empat varietas unggul baru (VUB) beras merah dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1. Konsentrasi TSF varietas Inpari 24 tidak berbeda nyata dengan Inpago 7. Sedangkan konsentrasi TSF varietas Inpara 7 dan Aek Sibundong menunjukkan berbeda nyata dengan varietas lainnya (Tabel 1). Inpari 24 memiliki konsentrasi TSF yang paling tinggi dibandingkan dengan varietas lainnya lalu diikuti oleh varietas Inpago 7, Aek Sibundong dan Inpara 7. Konsentrasi TSF dari VUB beras merah Inpari 24, Inpara 7, Inpago 7 dan Aek Sibundong berturut turut adalah 1500, 970, 1461 dan 1201 mg/100g BK (berat kering).

Tabel 1. Uji beda Duncan's Multiple Range Test (DMRT) terhadap total senyawa fenolik pada empat VUB beras merah

Varietas	Total senyawa fenolik (mg/100 g BK)
Inpari 24	1500 ± 84.7 ^a
Inpara 7	967 ± 48.2 ^b
Inpago 7	1461 ± 154.2 ^a
Aek Sibundong	1201 ± 14.7 ^c

Ket.: Huruf yang sama menandakan tidak berbeda nyata



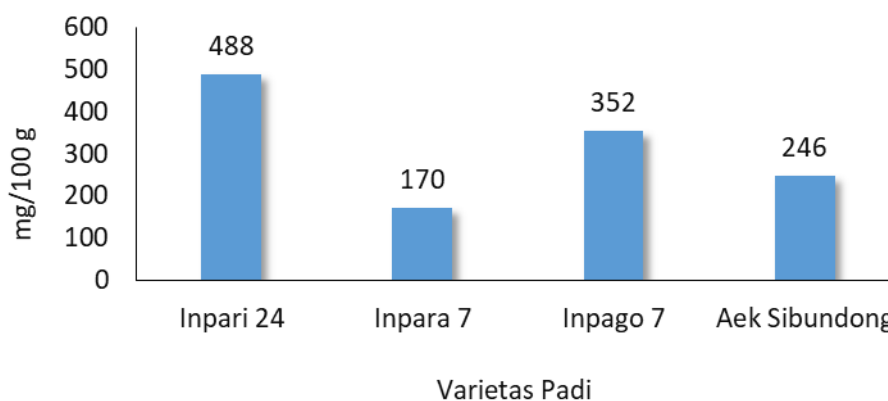
Gambar 1. Grafik konsentrasi total senyawa fenolik pada empat VUB beras merah

Berdasarkan uji beda Duncan's Multiple Range Test (DMRT) diketahui bahwa konsentrasi total antosianin dari empat VUB beras merah menunjukkan berbeda nyata antara satu varietas dengan varietas lainnya (Tabel 2). Konsentrasi antosianin pada empat VUB beras merah berkisar antara 170 – 488 mg/100 g BK. Varietas Inpari 24 memiliki konsentrasi antosianin paling tinggi sedangkan varietas Inpara 7 memiliki konsentrasi antosianin paling rendah dibandingkan dengan varietas lainnya (Gambar 2). Penentuan kadar senyawa antosianin dilakukan dengan metode perbedaan pH (*pH Differential*) yaitu pH 1.0 dan pH 4.5. Pada pH 1.0 antosianin membentuk senyawa oxonium (kation flavilium) yang berwarna dan pada pH 4.5 berbentuk karbinol/hemiketal yang tak memiliki warna (Giusti dan Wrolstad 2001). Kondisi inilah yang akan dijadikan acuan untuk menentukan konsentrasi.

Tabel 2. Uji beda Duncan's Multiple Range Test (DMRT) terhadap total senyawa antosianin pada empat VUB beras merah

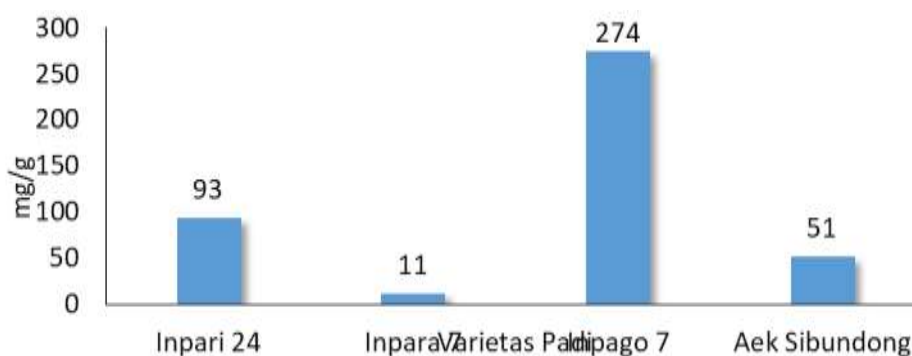
Varietas	Total Antosianin (mg/100 g BK)
Inpari 24	488 ± 22.4 ^a
Inpara 7	170 ± 17.7 ^b
Inpago 7	352 ± 37.2 ^c
Aek Sibundong	246 ± 47.4 ^d

Ket.: Huruf yang sama menandakan tidak berbeda nyata



Gambar 2. Grafik konsentrasi antosianin pada empat VUB beras merah

Kandungan asam fitat pada semua VUB beras merah yang diuji menunjukkan berbeda nyata antara satu dengan yang lainnya (Tabel 3). Asam fitat pada varietas Inpago 7 menunjukkan konsentrasi yang paling tinggi dibandingkan dengan varietas lainnya yaitu 274 mg/g BK. Sedangkan varietas Inpara 7 memiliki konsentrasi asam fitat paling rendah yaitu 11 mg/g BK (Gambar 3). Selain mengandung senyawa-senyawa yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh, beras merah juga mengandung asam fitat. Asam fitat juga dapat mengikat mineral seperti seng, kalsium, magnesium dan besi sehingga tidak dapat diserap oleh tubuh (Koswara 1992). Umumnya penelitian pada makhluk hidup memperlihatkan bahwa asam fitat menghambat bioavailabilitas zat besi makanan karena terbentuknya kompleks. Semakin tinggi kandungan asam fitat dalam bahan makanan, semakin sedikit jumlah zat besi yang dapat diserap tubuh.



Gambar 3. Grafik konsentrasi asam fitat pada empat VUB beras merah

Tabel 3. Uji beda Duncan's Multiple Range Test (DMRT) terhadap kandungan senyawa asam fitat pada empat VUB beras merah

Varietas	Asam fitat (mg/g BK)
Inpari 24	93 ± 4.0 ^a
Inpara 7	11 ± 14.9 ^b
Inpago 7	274 ± 2.6 ^c
Aek Sibundong	51 ± 1.8 ^d

Ket.: Huruf yang sama menandakan tidak berbeda nyata

Varietas Inpari 24 mengandung TSF dan total antosianin paling tinggi namun mengandung senyawa asam fitat yang lebih tinggi dibandingkan Inpara 7 dan Aek Sibundong. Sedangkan varietas Inpara 7 meskipun memiliki kandungan asam fitat paling

rendah dibandingkan varietas lainnya, namun memiliki kandungan TFS dan total antosianin yang paling rendah pula. Aek Sibundong memiliki kandungan kandungan TFS dan total antosianin lebih rendah dari Inpari 24 dan Inpago 7 dan mengandung asam fitat yang lebih rendah pula dibandingkan kedua varietas tersebut. Sementara itu varietas Inpago 7 meskipun mengandung TFS yang tinggi dan tidak berbeda nyata dengan varietas Inpari 24, namun mengandung senyawa asam fitat tiga kali lebih tinggi dibandingkan asam fitat pada varietas Inpari 24. Kandungan asam fitat dari varietas Inpago 7 merupakan yang tertinggi dibandingkan dengan varietas lainnya.

KESIMPULAN

Varietas Inpari 24 memiliki potensi yang lebih tinggi untuk dijadikan makanan fungsional untuk sehari-hari sebagai pengganti beras putih biasa. Selain mengandung TFS dan total antosianin yang paling tinggi, varietas Inpari 24 juga tidak mengandung asam fitat yang lebih rendah dari dua varietas lainnya yaitu Inpago 7 dan Aek Sibundong.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Pertanian dan Laboratorium Flavor BB Padi yang telah mendanai dan memfasilitasi sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Rhou, J. R., & Erdman, J. V. 1995. Phytic acid in health and disease. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35, 495±508.
- Ling, W. H.; Cheng, Q. X.; Ma, J. and Wang, T. (2001), Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. *J Nutr*, 131, 1421-1426.
- Hu, C.; Zawistowski, J.; Ling, W. and Kitts, D. D. (2003), Black rice (*Oryza sativa* L. indica) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. *J Agric Food Chem*, 51, 5271-5277.
- Zhang, M.; Guo, B.; Zhang, R.; Chi, J.; We, Z.; Xu, Z.; Zhang, Y. and Tang, X. (2006), Separation, purification and identification of antioxidant compositions in black rice. *Agric Sci China*, 5, 431- 440.
- Davies dan Reid. 1979. *Brit. Di dalam Muchtadi D. 1989. Evaluasi nilai gizi pangan.* Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi PAU Pangan dan Gizi. IPB. Bogor.
- Guisti MM dan Wrolstad RE. 2001. *Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy.* *Current Protocols in Food Analytical Chemistry.* New York (USA): John Wiley and Sons.
- Orak. 2006. Total antioxidant activities, phenolic, anthocyanins, polyphenoloxidase activities in red grape varieties, *Electronic Journal of Polish Agricultural University Food Science and Technology.*
- Vermerris W. 2006. *Phenolic Compound.* Netherlands: Springer.
- Supriyono. 2008. Kandungan β -karoten, polifenol total dan aktivitas merantas radikal bebas kefir susu kacang hijau (*Vigna radiata*) oleh pengaruh jumlah strater (*Lactobacillus bulgaricus* dan *Candida kefir*) dan konsentrasi glukosa [Tesis]. Semarang: Universitas Diponegoro.

- Ismail, J., M.R.J. Runtuwene, dan F. Fatimah. 2012. Penentuan Total Fenolik dan Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Biji dan Kulit Buah Pinang Yaki dengan Ekstrak Etanol. *Jurnal Ilmiah Sains*. 2: 84-88.
- Koswara. 1992. *Teknologi Pengolahan Kedelai*. Jakarta (ID) : Pustaka Sinar Harapan.