

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa L. Indica*) dan Uji Total Fenolik Variasi Etanol 70, 90, dan 96% Ekstrak Kecambah Kacang Kedelai (*Glycine max L.*)

*Antioxidant Activity Test of Black Rice (*Oryza sativa L. Indica*) Extract and Total Phenolic Test of Soybean Sprout (*Glycine max L.*) Extract Using 70%, 90%, and 96% Ethanol Variations.*

Rizlah Maulizah¹, Kintoko^{2*}, Nina Salamah³, Elfi Anis Saati⁴

^{1,2,3}Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta, Indonesia

⁴Fakultas Pertanian Perternakan Universitas Muhammadiyah Malang

Corresponding author: Kintoko@pharm.uad.ac.id

Abstrak

Latar belakang: Tubuh memerlukan antioksidan eksternal untuk menangkal radikal bebas penyebab kerusakan sel dan penyakit degeneratif. Beras hitam mengandung antosianin yang lebih tinggi dibandingkan beras merah, sedangkan proses pengecambahan kedelai meningkatkan kandungan flavonoid, senyawa fenolik, dan metabolit sekundernya. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan menguji kadar total fenolik kecambah kedelai menggunakan tiga variasi pelarut etanol (70%, 90%, dan 96%), serta uji aktivitas antioksidan kedelai dan beras hitam sebagai agen kopigmentasi. **Metode:** Ekstrak kedelai diperoleh melalui maserasi dengan variasi pelarut, kemudian dianalisis kadar polifenol total dan aktivitas antioksidannya, sedangkan ekstrak beras hitam diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH untuk memperoleh antioksidan stabil ber-IC₅₀ sangat kuat. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan Kadar fenolik total ekstrak kecambah kacang kedelai variasi pelarut etanol 70%, 90% dan 96%. Pelarut 70% mengandung kadar total polifenol 2,24 (mg GAE/g) pelarut 90% total polifenol 7,14 (mg GAE/g), pelarut 96% total polifenol 3,36 (mg GAE/g). Total antosianin ekstrak beras hitam metode pH differensial 8,182 mg/100 gram dan aktivitas antioksidan IC₅₀ ekstrak beras hitam 82,24±3,6 ppm termasuk kategori kuat. Nilai IC₅₀ sampel non kopigmentasi IC₅₀ 83,71±1,6 ppm termasuk kategori sedang dan nilai IC₅₀ setelah kopigmentasi 1:1 70,83±0,8 ppm 1:2 62,97±1,2 ppm kategori kuat dan 1:3 38,53±0,3 ppm kategori sangat kuat. **Kesimpulan:** dari penelitian ini bahwa penggunaan variasi 3 pelarut etanol 70%, 90% dan 96% ekstraksi kecambah kacang kedelai etanol 90% meningkatkan total fenolik (p<0,05), serta sampel yang tidak dikopigmentasi variasi konsentrasi flavylum antosianin beras hitam dikopigmentasi polifenol kecambah kacang kedelai kopigmentasi 1:3 memiliki IC₅₀ yang sangat kuat (p<0,05). Sehingga menjadi agen kopigmentasi produk pangan fungsional.

Kata kunci: Antioksidan, *Oryza sativa L. indica*, Polifenol, *Glycine max L.* Agen kopigmentasi

Abstract

Background: The human body requires external antioxidants to neutralize free radicals that cause cellular damage and degenerative diseases. Black rice contains higher anthocyanin levels than red rice, while soybean germination increases flavonoids, phenolic compounds, and secondary metabolites. **Objective:** This study aimed to determine the total phenolic content of germinated soybeans extracted using three ethanol solvent concentrations (70%, 90%, and 96%) and to evaluate the antioxidant activity of soybean and black rice extracts as copigmentation agents. **Methods:** Soybean extracts were obtained by maceration using different ethanol concentrations, followed by analysis of total phenolic content and antioxidant activity. Black rice extract was evaluated for antioxidant activity using the DPPH method to obtain a stable antioxidant with a very strong IC₅₀ value. **Results:** The total phenolic content of germinated soybean extracts varied with solvent concentration: ethanol 70% yielded 2.24 mg GAE/g, ethanol 90% yielded 7.14 mg GAE/g, and ethanol 96% yielded 3.36 mg GAE/g. The total anthocyanin content of black rice extract determined by the pH differential method was 8.182 mg/100 g, with an antioxidant activity IC₅₀ of 82.24 ± 3.6 ppm, categorized as strong. The IC₅₀ value of the non-copigmented sample was 83.71 ± 1.6 ppm (moderate), while copigmentation ratios of 1:1, 1:2, and 1:3 resulted in IC₅₀ values of 70.83 ± 0.8 ppm (strong), 62.97 ± 1.2 ppm (strong), and 38.53 ± 0.3 ppm (very strong), respectively. **Conclusion:** Extraction of germinated soybeans using ethanol 90% significantly increased total phenolic content (p < 0.05). Copigmentation of black rice anthocyanin flavylum with germinated soybean polyphenols at a 1:3 ratio produced very strong antioxidant activity (p < 0.05), indicating its potential as a copigmentation agent in functional food products.

Keywords: Antioxidant, *Oryza sativa L. indica*, Polyphenols, *Glycine max L.*, Copigmentation agent

* Corresponding Author: Kintoko, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta, Indonesia.

E-mail : Kintoko@pharm.uad.ac.id

Doi : 10.35451/v5bg4116

Received : November 21, 2025. Accepted: February 10, 2026. Published: April 30, 2026

Copyright: © 2026 Kintoko. Creative Commons License This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

1. PENDAHULUAN

Pembentukan radikal bebas dapat melindungi tubuh manusia secara terus-menerus tubuh manusia memerlukan sistem antioksidan dari luar. Antioksidan melindungi tubuh dari reaksi radikal bebas. Radikal bebas yang dikonsumsi sepanjang metabolisme dapat merusak fungsi sel-sel tubuh, yang menyebabkan penyakit degenerative Tubuh memerlukan antioksidan untuk menjaga kesehatan [1].

Beras hitam, varietas lokal yang memiliki pigmen yang paling baik dibandingkan beras putih atau beras warna lainnya, semakin populer di masyarakat dan dikonsumsi sebagai makanan sehat. Beras hitam meningkatkan daya tahan tubuh, memperbaiki kerusakan sel hati, melindungi ginjal dari gangguan fungsi, melindungi dari kanker dan tumor, memperlambat penuaan, dan bertindak sebagai antioksidan [2]. Pigmen atau zat warna yang termasuk dalam kelompok flavonoid yang disebut antosianin menyebabkan beras berwarna memiliki tekstur yang keras dibandingkan beras merah. Penelitian sebelumnya menyatakan beras hitam mempunyai kandungan antosianin tinggi, berkisar antara 19,4–140,8 µg/100 g. Sementara kandungan antosianin beras merah hanya 0,3–1,4 µg/100 g [3]. Antioksidan yang bermanfaat bagi kesehatan dikenal sebagai antioksidan. Antioksidan memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya secara bebas kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya, dan mereka memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi berantai radikal bebas [4].

Kedelai adalah sumber utama protein dan minyak nabati di seluruh dunia. Sumber utama adalah kedelai bijinya, yang sangat kaya akan lemak dan protein. Biji kedelai juga mengandung banyak zat gizi penting lainnya, seperti lesitin dan vitamin asam folat [5]. Banyak penelitian telah dilakukan tentang manfaat kedelai dan produk olahannya dalam pengendalian penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes melitus, hipertensi, hiperkolesterol, dan lainnya. Hal ini karena komposisi kedelai yang sangat kaya akan zat gizi seperti protein dan asam amino penting, lemak nabati, vitamin, dan mineral, serta komponen non-gizi seperti serat pangan dan bioaktif [6].

Selama proses pengolahan, polifenol kacang kedelai dapat meningkat, mengubah ekspresi gen dan meningkatkan sintesis metabolit tertentu melalui perubahan biokimia yang dinamis selama proses pengolahan. Ini dapat menyebabkan konsentrasi senyawa fenolik, flavonoid, dan metabolit sekunder lainnya [7]. Lama perkecambahan 3 hari kedelai menghasilkan polifenol sebesar 15,5127 µmol/g, aktivitas antioksidan 2,9875 µmol/g [8]. Sehingga dari dua tanaman tersebut kecambah kacang kedelai dan beras hitam tersebut dengan kandungan antioksidan polifenol yang cukup tinggi dari kecambah kedelai sehingga menjadi alternatif pangan fungsional untuk pencegahan penyakit degenerative dikalangan masyarakat.

2. METODE

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan desain penelitian *post test only control group*, yaitu adalah rancangan penelitian dimana kelompok eksperimen dan kontrol dibandingkan dipilih secara random. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Alat ekstraksi rotary evaporator (IKA®), alat fraksinasi, spektrofotometri UV-Vis (Spectroquant®) hotplate stirrer (Thermo Scientific tipe cimearec ®) alat fraksinasi (Millipore base and cap vacuum®) timbangan analitik (Kern Jerman ®). Alat-alat gelas (pyrex®). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel kedelai argo mulyo berasal dari Introduksi dari Thailand, oleh PT Nestle Indonesia pada tahun 1988 dengan nama asal Nakhon Sawan 1, umur berbunga 35 hari, umur saat panen 80-82 hari, beras hitam varietas cempo ireng, pelarut organik (Etanol 96%, 90% dan 70%) Asam sitrat 0,5%, serbuk DPPH, BHT. Tempat penelitian diselenggarakan di laboratorium Farmasi Universitas Ahmad Dahlan bulan Oktober 2024- Januari 2025.

Variabel bebas penelitian terdiri dari:

Waktu pengecambahan Variasi Pelarut ekstraksi etanol, 70% 96%, dan 90% kecambah kacang kedelai Pelarut ekstraksi beras hitam asam sitrat 3% dan etanol 96%.

1. Variabel terikat penelitian terdiri dari Kadar polifenol total kecambah kacang kedelai pada pelarut etanol 70%, 96%, dan 90%.
 - a. Aktivitas antioksidan metode DPPH beras hitam
 - b. Aktivitas antioksidan metode DPPH kompleks polifenol kedelai antosianin
 - c. Variabel terkontrol penelitian meliputi, pelarut ekstraksi ekstraksi polifenol kacang kedelai dan flavylum antosianin beras hitam seperti pH, suhu, cahaya, antosianin, dan waktu perkecambahan.
2. Definisi Operasional penelitian
Kadar polifenol total hasil terbaik untuk menghasilkan total flavonoid sebesar $85,13 \pm 0,372$ mgQE/g ekstrak dan polifenol total sebesar $236,28 \pm 5,642$ mgGAE/g [4].

Aktivitas antioksidan dapat dari nilai IC50 semakin kecil nilai IC50 maka antioksidan itu semakin kuat dalam menangkal radikal bebas atau dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang semakin kuat [4].

Teknik Analisis

Proses Pengecambahan

Kecambah kacang kedelai sebanyak 5 kg segar dicuci bersih dengan air mengalir kemudian ditiriskan, kedelai direndam selama 12 jam kemudian ditiriskan, selanjutnya dikecambahkan selama 3 hari di tempat gelap dengan kelembaban kurang lebih 85%.

Pembuatan Serbuk Simplisia

Kecambah kacang kedelai sebanyak dikeringkan diangin anginkan pada tempat yang terlindung dari cahaya matahari langsung. Simplisia yang kering dihaluskan dengan blander diayak dengan ayakan mesh 40 dan ditimbang berat simplisia halus yang telah dihasilkan [9].

Proses Ekstraksi Kacang Kedelai yang di Kecambahkan

Serbuk simplisia kecambah kacang kedelai yang telah dikecambahkan diekstraksi dengan metode maserasi 1:5. kecambah yang sudah dibersihkan dan dirajang ditimbang sebanyak 500 gram sampel kemudian dimasukkan dalam bejana meserasi ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 2500 liter (Rahimah et al., 2018). Kecambah kedelai dimaserasi selama 3x24 jam [10].

Ekstraksi Beras Hitam

Beras hitam digiling dan diayak dengan ukuran 40 mesh, ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi 1:5 dalam larutan etanol 96% asam sitrat 3% 1:3 selama 24 jam pada ruang gelap suhu 40°C, selama proses maserasi, dilakukan pengadukan. Supernatan yang didapat kemudian disaring menggunakan kertas saring whatman no 40. Sebelum digunakan lebih lanjut, ekstrak antosianin beras hitam ini disimpan pada botol tidak tembus cahaya dan suhu beku [11].

Uji Spesifik Non spesifik Ekstrak

Uji Polifenol Total Kecambah Kacang Kedelai

Penetapan kadar fenol total dilakukan dengan dengan penetapan kadar total fenol total dengan cara Folin-Ciocalteu.

a. Pembuatan larutan uji

Pembuatan larutan uji dengan cara menimbang 0,2 g ekstrak ditambah 25 ml etanol pa, diaduk selama 30 menit dengan magnetic, disraing kedalam labu 25 ml, dan tambahkan metanol pa. sampai tanda batas (Kemenkes RI, 2017).

b. Pembuatan larutan pembanding

ditimbang 10 mg asam galat, dalam 25 ml etanol pa larutkan dengan methanol P 100 ml, dibuat seri pengenceran larutan pembanding dengan kadar berturut-turut 80,60,40, dan 30 ppm [12].

c. Prosedur perlakuan

Masing-masing 1 ml larutan uji dan di encerkan larutan pembanding dalam tabung reaksi, di tambahkan 5 ml folin-Ciocalteu (7,5% dalam air) diamkan selama 8 menit, tambahkan 4 ml NaOH 1% inkubasi selama 1 jam. Ukur serapan masing-masing larutan pada Panjang gelombang serapan maksimum 765 nm [12].

d. Uji Aktivitas Antioksidan DPPH Kecambah Kedelai

Uji aktivitas antioksidan kecambah kacang kedelai dilakukan dengan menggunakan standar asam galat konsentrasi 1,3,5,7 dan 9 ppm kemudian untuk sampel ekstrak kedelai diuji dengan menggunakan konsentrasi 10,30,50,70, dan 90 ppm kemudian dilihat Panjang gelombang maksimum secara teoritis Panjang gelombang yang didapatkan 517 nm kemudian dianalisis standar dan sampel pada Panjang gelombang maksimum yg didapatkan hingga diperoleh serapan absorbansi untuk diplot pada kurva dan mendapatkan % inhibisi serta nilai IC50.

e. Uji Aktivitas Antioksidan DPPH Beras Hitam

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Ekstrak beras hitam dengan konsentrasi (100, 200, 400, 600, 800) ppm, dilarutkan dalam metanol p.a. Antioksidan BHT (0,2,4,6, dan 8 ppm) digunakan untuk mengontrol larutan DPPH dengan kristal DPPH 1 Mm. Larutan ekstrak dan larutan antioksidan BHT masing-masing diambil 4,50 mililiter dan direaksikan dengan 500 mikrolit larutan DPPH 1 Mm dalam beberapa tabung reaksi. Suhu reaksi adalah 37 derajat Celcius. Diukur penyerapannya setelah 30 menit menggunakan spektrofotometri UV-VIS dengan panjang gelombang 517 nm. Perhitungan persen inhibisi dilakukan dengan penyerapan larutan blanko di ukur.

f. Uji Kadar Total Antosinin Beras Hitam

Analisis total antosianin dengan mengukur intensitas warna yang kuat, antosianin akan mengalami perubahan warna berdasarkan perubahan pH, pada pH 1,0 antosianin berada dalam bentuk intensitas warna yang kuat, pada pH 4,5 antosianin berada dalam bentuk karbinol yang tidak berwarna. Analisis antosianin ini dilakukan dengan cara membandingkan absorbansi sampel pada Panjang gelombang 700 nm dan 512 nm pada pH 1 dan pH 4,5 [13].

Pembuatan buffer pH 1

1,49 gram KCl dicampur dengan 100 mililiter aquades, 1,7 mililiter HCl pekat dicampur dengan 100 mililiter akuades. Kemudian larutan pH diukur dengan pH meter sampai mencapai pH 1, dan larutan HCL dicampur dengan 25 mililiter larutan KCl [13].

Pembuatan buffer 4,5

Natrium asetat sebanyak 1,64 g dilarutkan dalam 100 ml akuadest kemudian ditambahkan HCL dengan hati-hati sampai pH 4,5 [13].

Analisis Kadar Antosianin

Metode perbedaan pH digunakan untuk menganalisis antosianin. Sampel ekstrak beras hitam 0,1 mililiter dicampur dengan 6,4 mililiter larutan buffer dengan pH 1 dan pH 4,5, masing-masing. Selanjutnya dilakukan pengukuran serapan pada panjang gelombang 512 nm dan 700 nm. Hasil tes dimasukkan ke dalam persamaan.

$$\text{Kandungan antosianin} = \frac{A}{\varepsilon+1} \times \text{BM} \times \text{DF}$$

Keterangan

A = $[(A_{\lambda 513} - A_{\lambda 700}) \text{ pH} 1 - (A_{\lambda 513} - A_{\lambda 700}) \text{ pH} 4,5]$

BM = berat molekul (449,2)

DF = *Dilution Factor*

ε = koefisien ekstingsi molar sianidin 3-glikosida = 26.900 [9]

g. Kopigmentasi

Proses kopigmentasi dilakukan dengan cara intermolekul yaitu dengan penambahan bahan yang mengandung gugus hidroksil dari polifenol paling aktif kacang kedelai dalam pigmen antosianin, rasio perbandingan molar masing-masing satu, dua, dan tiga, dengan kontrol tanpa menggunakan gugus hidroksil polifenol paling aktif (1:0). Selanjutnya, produk kopigmentasi dipanaskan selama tiga puluh menit pada suhu 30 °C (suhu ruang) dan 4 °C (suhu kulkas). Pengujian pigmen antosianin dengan parameter uji dilakukan untuk menilai hasil kopigmentasi pigmen antosianin dengan melakukan analisis intensitas warna dengan spektrofotometer UV-VIS [10].

h. Uji Aktivitas Antioksidan Sampel Kopigmentasi

Untuk mengukur aktivitas antioksidan (DPPH), 0,2 mL sampel (medium fermentasi) dicampur dengan 3,8 mL larutan 1 mM DPPH (dalam metanol). Kemudian, sampel diinkubasi selama satu jam pada suhu kamar dan dalam kondisi gelap. Panjang gelombang yang digunakan adalah 515 nm. Blanko dibuat dengan menggantikan sampel akuades dengan volume yang sama. Persentase penghambatan radikal bebas DPPH menunjukkan tingkat

penangkapan radikal bebas.

Penentuan IC₅₀ dihitung % pengikatan (% Inhibisi) DPPH dan ditentukan nilai IC₅₀ sampel [14].

3. HASIL

Hasil Pengujian Ekstrak Kecambah Kedelai

Hasil ekstrak etanol kecambah kacang kedelai yang diperoleh dalam bentuk nilai persen rendemen yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil % Rendemen Ekstrak kecambah kacang kedelai

Ekstrak	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Nilai rendemen (%)	Standar FHI 2017
Etanol 70%	450	50,20	11,15	
Etanol 96%	500	61,75	12,35	>10%
Etanol 90%	450	45,50	10,11	





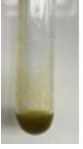

Hasil uji Spesifik Non Spesifik pada ekstrak kecambah kacang kedelai dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak

Parameter	Hasil	Standar FHI 2017
Organoleptik	Warna kuning jingga aroma khas kedelai tekstur kental	-
	1,60%	
Kadar sari larut air	3,71%	7,5%
Kadar sari larut etanol	5,50%	8,2%
Susut pengeringan	5,64%	10%
Kadar abu		6,1%

Uji Skrining Fenolik Kecambah Kacang Kedelai dapat dilihat pada Tabel 3.

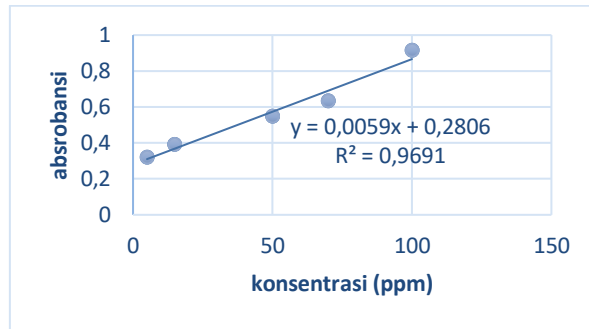
Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fenolik Kacang Kedelai

Sampel	Pereaksi	Warna sebelum	Warna sesudah	keterangan
Ekstrak etanol 70%	FeCl ₃			+ Fenolik
Ekstrak etanol 90%	FeCl ₃			+fenolik
Ekstrak etanol 96%	FeCl ₃			+fenolik

Hasil analisis skrining fenolik kacang kedelai menunjukkan dari ketiga ekstrak variasi pelarut 70%,90% dan 96% setelah di tambahkan FeCl₃ terbentuk warna hijau tua atau hijau kotor. Hasil identifikasi menunjukkan ekstrak kedelai terhidrolisis positif mengandung senyawa fenolik. Uji kuantitatif polifenol Hasil Kadar Fenolik Absorbansi standar asam galat pada Uji total fenolik ekstrak kecambah kacang kedelai (*Glycine max.L*) dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Fenolik Total Kecambah Kacang Kedelai

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,319
15	0,393
50	0,548
70	0,635
100	0,914



Gambar 1. Kurva standar asam galat

Berikut dapat dilihat hasil uji polifenol total pada ekstrak kecambah kacang kedelai dengan variasi pelarut etanol 70%, 90% dan 96% dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Kadar Fenolik Total Ekstrak Kecambah Kedelai Etanol 70%, 90% dan 96%

Replikasi	Absorbansi	Kandungan Fenol Total (mg GAE/g)	Rata-rata ± SD(mg GAE/g)
Kedelai Etanol 70%			
Simplo	0,483	2,21	2,24± 0,28
Duplo	0,491	2,26	
Triplo	0,489	2,25	
Kedelai Etanol 90%			
Simplo	0,257	7,08	7,14± 0,14
Duplo	0,257	7,08	
Triplo	0,260	7,28	
Kedelai etanol 96%			
Simplo	0,200	3,36	3,36± 0,00
Duplo	0,200	3,36	
Triplo	0,200	3,36	

Berdasarkan data pada Tabel 5 dapat diketahui fenolik total pada ketiga sampel ekstrak kecambah kacang kedelai variasi pelarut ekstraksi yaitu 70%,90%, dan 96% dapat diketahui pada ekstrak kecambah kedelai dengan pelarut 70% diperoleh total fenolik 2,24 ± 0,28 mg GAE/g ekstrak dan untuk variasi etanol 90% mendapatkan total fenolik 7,14 ± 0,14 mg GAE/g ekstrak untuk sampel ekstrak pelarut 96% dengan total fenolik 3,36 ± 0,00 mg GAE/g ekstrak.

Uji aktivitas antioksidan kecambah kacang kedelai variasi 3 pelarut etanol 70%,90% dan 96% polifenol yang tertinggi didapatkan pada polifenol dengan pelarut etanol 90%. Kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak dengan polifenol yg tertinggi yaitu etanol 90%. Uji aktivitas antioksidan digunakan standar uji asam galat dengan konsentrasi 1,3,5,7,9 ppm. Penentuan panjang gelombang maksimum didapatkan panjang gelombang maksimum 518 nm berikut hasil serapan nilai absorbansi larutan standar pada Tabel 6.

Tabel 6. Inhibisi (%), regresi linier (r), IC₅₀ Standar Asam Galat Uji DPPH Ekstrak Kecambah Kacang Kedelai

No	Penangkapan Radikal Bebas (%)					Persamaan Regresi Linier; r	IC ₅₀ (ppm)
	1 ppm	3 ppm	5 ppm	7 ppm	9 ppm		
1	15,10	22,93	32,35	49,72	55,62	y = 5,3916 x+8,1839; r = 0,9767	7,76
2	15,56	23,56	33,03	51,30	56,37	y = 5,4679x +8,6246; r = 0,9721	6,91
3	16,52	23,64	33,60	49,66	57,47	y = 5,3959x -9,1968; r = 0,9825	7,56
Rata-rata±SD							7,41±0,4

Hasil tabel diatas diperoleh kurva standar asam galat dari % inhibisi masing-masing konsentrasi dengan 3 replikasi diperoleh diperoleh nilai IC₅₀ standar asam galat 7,41±0,4 ppm termasuk dalam kategori sangat kuat.

Pengujian sampel ekstrak kecambah kacang kedelai dengan pelarut ekstraksi 90% dengan konsentrasi sampel uji 100, 130, 150, 170 dan 190 ppm didapatkan penangkapan radikan bebas (%), persamaan regresi linier; (r), dan nilai IC₅₀ dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Inhibisi (%), regresi linier (r), IC₅₀ Ekstrak Kecambah Kacang Kedelai (Glycine max.L) Etanol 90%

No	Penangkapan Radikal Bebas (%)					Persamaan Regresi Linier; r	IC ₅₀ (ppm)
	100 ppm	130 ppm	150 ppm	170 ppm	190 ppm		
1	26,56	40,52	45,40	60,73	65,76	y = 0,406 x - 23,648; r = 0,9667	150,11
2	27,28	41,04	46,11	61,44	62,23	y = 0,4118x - 13,322; r = 0,9759	153,78
3	26,70	41,86	47,51	59,95	60,97	y = 0,3976x - 11,439; r = 0,9626	154,54
Rata-rata±SD							152,81±2,4

Hasil uji DPPH ekstrak kecambah kacang kedelai pada tabel diatas pada konsentrasi 100,130,150,170 dan 190 ppm didapatkan IC₅₀ dari ekstrak kecambah kacang kedelai etanol 90% IC₅₀ 152,81±2,4 ppm termasuk dalam kategori sedang. Hasil pengujian aktivitas antioksidan beras hitam, kadar total antosianin dalam ekstrak beras hitam, dan pengujian kadar total fenolik tertinggi dari variasi pelarut serta aktivitas antioksidan dari salah satu variasi pelarut yang tertinggi kadar total fenoliknya dari kedua sampel tersebut akan dilakukan proses kopigmentasi dengan agen kopigmentasi ekstrak kecambah kacang kedelai variasi pelarut etanol 90%

Hasil Pengujian Ekstrak Beras Hitam

Hasil ekstrak beras hitam yang diperoleh dalam bentuk nilai persen rendemen yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil % Rendemen Ekstrak Beras Hitam



Ekstrak	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Nilai rendemen (%)	Standar FHI 2017
Beras hitam	500	102,74	20,54%	>10%

Tabel 9 Hasil Uji Spesifik Non Spesifik Ekstrak Beras Hitam

Parameter	Hasil	Standar FHI,2017
Organoleptik	Warna ungu pekat arima khas beras hitam tekstur kental	-
	4,96%	
Kadar sari larut air	2,00%	10,6%
Kadar sari larut etanol	1,18%	4,6%
Susut pengeringan	4,23%	10%
Kadar abu total		8,7%

Gambar hasil uji skring dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Uji Skrining Flavonoid Ekstrak Beras Hitam

Sampel	Pereaksi	Warna sebelum	Warna sesudah	keterangan
Ekstrak etanol 70%	HCL pekat+ serbuk Mg			+ flavonoid

Hasil uji aktivitas antioksidan metode DPPH pada ekstrak beras hitam pada alat spektrofotometri dengan konsentrasi standar BHT 2,4,6,8 dan 9 ppm. Data hasil pengukuran absorbansi pada Panjang gelombang 514,5 nm dengan dinyatakan pada gambar berikut:

Tabel 10. Inhibisi (%) Standar BHT Uji DPPH Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L.Indica)

No	Penangkapan Radikal Bebas (%)					Persamaan Regresi Linier; r	IC ₅₀ (ppm)
	2 ppm	4 ppm	6 ppm	8 ppm	9 ppm		
1	15,03	25,39	33,68	57,69	72,54	y = 8,0174x -5,6373; r = 0,9391	6,94
2	13,86	24,96	33,28	57,54	72,96	y = 8,2048x -7,0677; r = 0,9406	6,96
3	16,47	25,98	34,30	59,08	73,85	y = 8,0438x -4,7186; r = 0,9331	6,80
Rata-rata±SD							6,90±0,1

Hasil analisis antioksidan standar BHT dari tabel diatas dengan penggunaan konsentrasi 2, 4,6,8 dan 9 ppm dapat diketahui nilai IC₅₀ yang didapatkan dari nilai rata-rata 6,90±0,1 ppm termasuk dalam kategori sangat kuat. Sementara untuk sampel ekstrak beras hitam didapatkan hasil % inhibisi dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Inhibisi (%) Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L.Indica)

No	Penangkapan Radikal Bebas (%)					Persamaan Regresi Linier; r	IC ₅₀ (ppm)
	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm	150 ppm		
1	0,35	25,56	34,02	59,59	68,05	y = 0,5404x -5,7228; r = 0,914	81,93
2	0,35	24,96	34,14	59,10	68,11	y = 0,5418x -6,0096; r = 0,9406	81,20
3	0,28	28,15	35,14	60,27	68,59	y = 0,5284x -3,6663; r = 0,9187	83,60
Rata-rata±SD							82,24±3,6

Hasil pengukuran nilai absorbansi sampel pada Panjang gelombang 543 dan 700 nm dapat dilihat pada Tabel 12.

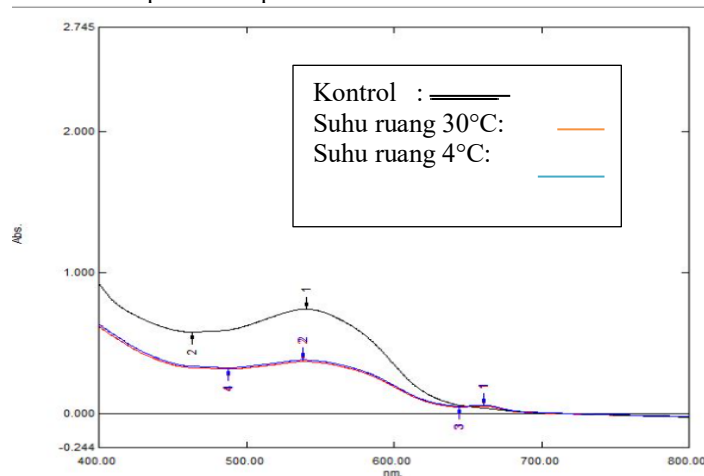
Tabel 12. Absorbansi Uji Kadar Total Antosianin Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L.Indica)

Absorbansi	543 nm	700 nm	Rata-rata 543 nm ±SD	Rata-rata ±700 nm SD	Total Antosianin(mg/100 gram)
------------	--------	--------	----------------------	----------------------	-------------------------------

Buffer pH 1	0,532	0,313	0,533±0,001	0,314±0,01	8,182 mg/100 gram
	0,533	0,314			
	0,533	0,314			
Buffer pH 4,5	0,423	0,254	0,424 ±0,01	0,254±0	
	0,424	0,254			
	0,425	0,254			

Hasil nilai absorbansi kemudian dilakukan perhitungan total antosianin dalam sampel. Perhitungan nilai absorbansi larutan sampel (A) dihitung sebagai berikut

Hasil yang didapatkan pada kontrol dapat dilihat pada Gambar. 2



Gambar 2. kopigmentasi polifenol ekstrak kecambah dengan antosianin beras hitam

Data nilai IC₅₀ pada masing-masing konsentrasi rata-rata dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Inhibisi (%), IC₅₀ Non Kopigmentasi, dan Kopigmentasi 1:1, 1:2,1:3 dalam konsentrasi 10, 30,50,70,90 ppm

Sampel	% Inhibisi (Konsentrasi tertinggi)	IC50±SD	Keterangan
Non kopigmentasi	61,53%	83,71±1,6	kuat
Kopigmentasi (1:1)	69,30%	70,83±0,8	Kuat
Kopigmentasi (1:2)	69,30%	62,97±1,2	Kuat
Kopigmentasi (1:3)	82,77%	38,53±0,3	Sangat kuat

4. PEMBAHASAN

Hasil Pengujian Ekstrak Kecambah Kedelai

Kurva standar asam galat pada uji polifenol total ekstrak kecambah kacang kedelai diperoleh persamaan regresi linier $y=0,0059x +0,2806$ dengan nilai $R^2=0,9691$. Persamaan regresi linier ini kemudian digunakan untuk menghitung kadar fenolik total pada ekstrak kecambah kacang kedelai dengan variasi pelarut etanol 70%, 90% dan 96%.

Variasi penggunaan pelarut ekstraksi kecambah kedelai, polifenol tertinggi diperoleh pada Ekstrak dengan pelarut etanol 90% hal ini sejalan dengan penelitian menurut [15] menyatakan dalam penelitiannya terkait optimasi penggunaan pelarut terhadap kecambah kedelai dengan variasi pelarut 60%, total fenolik yang dihasilkan 3,4, 70%, 5,8, 80% 7,1, 90% 9,0, dan 99,5% didapatkan total fenolik 7,4 sehingga dapat disimpulkan penggunaan pelarut 90% mampu sebagai pelarut untuk menarik polifenol yang cukup tinggi dalam ekstrak pelarut di bawah 90% memiliki polifenol rendah dan pada pelarut berada di atas 90% terjadi penurunan total fenolik dalam ekstrak. Sehingga penelitian ini sejalan dengan penelitian [16].

Hasil Uji Antioksidan

Hasil pengujian aktivitas antioksidan beras hitam, kadar total antosianin dalam ekstrak beras hitam, dan pengujian kadar total fenolik tertinggi dari variasi pelarut serta aktivitas antioksidan dari salah satu variasi pelarut yang tertinggi kadar total fenoliknya dari kedua sampel tersebut akan dilakukan proses kopigmentasi dengan agen kopigmentasi ekstrak kecambah kacang kedelai variasi pelarut etanol 90% [17].

Hasil Pengujian Ekstrak Beras Hitam

Hasil pengujian pada Tabel VIII menunjukkan bahwa ekstrak beras hitam memenuhi standar FHI 2017 sehingga layak digunakan untuk penelitian lanjutan. Uji skrining flavonoid menunjukkan perubahan warna menjadi oranye setelah penambahan HCl pekat, yang menandakan adanya kandungan flavonoid dalam ekstrak beras hitam [18].

Berdasarkan Tabel 2.5, ekstrak beras hitam memiliki nilai IC_{50} sebesar $82,24 \pm 3,6$ ppm yang termasuk kategori kuat. Selanjutnya dilakukan analisis kadar total antosianin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan penentuan panjang gelombang maksimum pada 543 nm, kemudian pengukuran absorbansi pada 543 nm dan 700 nm menggunakan buffer pH 1 dan pH 4,5.

Kopigmentasi antosianin berperan dalam meningkatkan stabilitas pigmen melalui interaksi antarmolekul dengan senyawa lain, seperti polifenol. Pada penelitian ini, polifenol ekstrak kecambah kedelai dikopigmentasikan dengan antosianin ekstrak beras hitam pada perbandingan tertentu dan dianalisis secara kualitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil menunjukkan terjadinya pergeseran batokromik dan hiperkromik pada berbagai perlakuan suhu, menandakan stabilitas antosianin yang baik [19,20].

Uji aktivitas antioksidan metode DPPH menunjukkan bahwa sampel nonkopigmentasi memiliki IC_{50} kategori sedang, sedangkan perlakuan kopigmentasi 1:1 dan 1:2 termasuk kategori kuat, dan perbandingan 1:3 menghasilkan IC_{50} sangat kuat. Dengan demikian, kopigmentasi antosianin beras hitam dan polifenol kecambah kedelai, khususnya pada rasio 1:3, berpotensi dikembangkan sebagai agen formulasi pangan fungsional kaya antioksidan [21,22].

5. KESIMPULAN

Kadar fenolik total ekstrak kecambah kacang kedelai tertinggi dengan variasi pelarut etanol 70%, 90% dan 96%. Pada penggunaan pelarut 70% mengandung kadar total polifenol 2,24 (mg GAE/g) dan pada penggunaan pelarut 90% memiliki kadar total fenolik tertinggi dengan total polifenol 7,14 (mg GAE/g), dan pada pelarut 96% total fenolik 3,36 (mg GAE/g) variasi penggunaan pelarut memberikan pengaruh signifikan $p > 0,05$. Kadar antosianin ekstrak beras hitam menggunakan metode perbedaan pH differensial dengan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 512 nm dan 700 nm. Hasil pengukuran kadar total antosianin ekstrak beras hitam 8,182 mg/100 gram dan aktivitas antioksidan IC_{50} pada ekstrak beras hitam $82,24 \pm 3,6$ ppm termasuk dalam kategori kuat. Nilai IC_{50} sampel yang (non kopigmentasi) $83,71 \pm 1,6$ ppm termasuk dalam kategori sedang dan nilai IC_{50} setelah dilakukan (kopigmentasi 1:1) $70,83 \pm 0,8$ ppm, (kopigmentasi 1:2) $62,971 \pm 1,2$ ppm termasuk dalam kategori kuat dan (kopigmentasi 1:3) $38,53 \pm 0,3$ ppm termasuk dalam kategori sangat kuat. Variasi konsentrasi kopigmentasi sangat memberikan pengaruh yang signifikan $p > 0,05$

DAFTAR PUSTAKA

1. Aji, A. P., Issulianingtyas, E., Wardani, T. K., & Dhies Resty Palupi. (2024). Penetapan Kadar Antosianin Pada Minuman Olahan Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) "Selelang Plus Instan" Dengan Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. *Jurnal Ilmiah Nusantara*, 2(1), 182–190.
2. Abdullah, B. (2017). Peningkatan Kadar Antosianin Beras Merah Dan Beras Hitam Melalui Biofortifikasi / Increasing Anthocyanin of Red and Black Rice through Biofortification. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pertanian*, 36(2), 91. <https://doi.org/10.21082/jp3.v36n2.2017.p91-98>
3. Aliya, N., Riyanta, A. B., & Muldiyana, T. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Dan Daging Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Dan penentuan Parameter Non Spesifik. *Jurnal Riset*

- Kefarmasian Indonesia, 6(1), 1–15. <https://doi.org/10.33759/jrki.v6i1.485>
4. Angioni, S. A., Giansante, C., Ferri, N., Ballarin, L., Pampanin, D. M., Marin, M. G., Bargione, G., Vasapollo, C., Donato, F., Virgili, M., Petetta, A., Lucchetti, A., Cabuga Jr, C. C., Masendo, C. B. ., Hernando, B. J. ., Joseph, C. C. ., Velasco, J. P. ., Angco, M. K. ., Ayaton, M. A., ... Barile, N. B. (2021). Penentuan Total Fenolik, Total Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Bawang Kucai (*Allium tuberosum*). *Fisheries Research*, 140(1), 6.
 5. Elisa Loppies, J., Sri Rejeki, E., Yumas, M., & Alfrida LullungS Balai Besar Industri Hasil Perkebunan Jl Abdurahman Basalamah No, dan. (2020). Stabilitas Zat Warna Antosianin Biji Kakao Pada Berbagai Kondisi Kopigmentasi Stability of Cocoa Beans Anthocyanin Pigmen in Various Copigmentation Conditions. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 15(2), 94–104.
 6. Le, X. T., Vi, V. L. L., Toan, T. Q., Bach, L. G., Truc, T. T., & Ha, P. T. H. (2019). Extraction process of polyphenols from soybean (*Glycine max* L.) sprouts: Optimization and evaluation of antioxidant activity. *Processes*, 7(8), 1–18. <https://doi.org/10.3390/PR7080489>
 7. Larasati, N. A., Indah, T., Marpaung, M. P., & Purnama, P. (2021). Pengaruh Jenis Pelarut Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Jamur Candida albicans* ATCC 01231. *Farmasains : Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian*, 8(2), 67–79. <https://doi.org/10.22236/farmasains.v8i2.6216>
 8. Margining Tri Utami, I., Nurhidajah, & Yusuf, M. (2023). Karakteristik Fisikokimia Dan Sensoris Minuman Instan Ekstrak Beras Hitam Berdasarkan Konsentrasi Maltodekstrin Dengan Metode Foam-Mat Drying. *Pangan Dan Gizi*, 13(1), 68–78. <https://doi.org/10.26714/jpg.13.1.2023.67-77>
 9. Musthofa, B. M., Pranita, D., SattarRasul, M., & Haidlir, B. M. (2023). Institutional Dynamics of Halal Tourism Development In Indonesia and Malaysia. *Journal of ASEAN Studies*, 11(1), 89–110. <https://doi.org/10.21512/jas.v11i1.9431>
 10. Mustofa, A., & Suhartatik, N. (2018). Stabilitas Minuman Isotonik Antosianin Beras Ketan Hitam dengan Senyawa Kopigmentasi Ekstrak Bunga Belimbing (*Averrhoa carambola*) Stability of Isotonic Drink Made from Black Glutinous Rice Extract Anthocyanin with Starfruit (*Averrhoa carambola*) Flower. *Agritech*, 38(1), 1–6
 11. Nurisyah, N., Salasa, A. M., Barung, E. N., & Dewi, R. (2019). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Kecambah Kedelai Hitam (*Glycine soja*) Yang Dihidrolisis Dengan Asam Klorida.
 12. Tsalissavrina, I., Murdiati, A., Raharjo, S., & Lestari, L. A. (2023). The Effects of Duration of Fermentation on Total Phenolic Content, Antioxidant Activity, and Isoflavones of The Germinated Jack Bean Tempeh (*Canavalia ensiformis*). *Indonesian Journal of Pharmacy*, 34(3), 460–470. <https://doi.org/10.22146/ijp.6658>
 13. Rahimah, S., Indrisari, M., Sari, A. I., & Burhan, A. (2018). Aktivitas Hepatoproteksi Ekstrak Etanol Kecambah Kedelai (*Glycine max*) dengan Parameter Histopatologi Hepar pada Tikus yang Diinduksi Parasetamol. *Ad-Dawaa' Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(1). <https://doi.org/10.24252/djps.v1i1.6438>
 14. Sukatiningsih, Yustiam, A. M., & Windarwati, S. . (2023). Penambahan Isolat Protein Kedelai Dan Sukrosa Racun Pada Kecambah Koro Kratok [*Phaseolus lunatus* (L) Sweet] [*Addition Of Soy Protein Isolate And Sucrose As Elicitors To Antioxidative And Toxic Compounds Of Lima Bean (Phaseolus lunatus L . Sweet)* SP. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 3(1), 1–7.
 15. Sari, A. K., & Ayuhecacia, N. (2017). Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L) dari Kalimantan Selatan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(2), 327–335.
 16. Wijaya, A., & Rissa, M. M. (2024). Penetapan Kadar Air , Kadar Sari Larut Air Dan Kadar Sari Larut Etanol Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Steen .). 04, 481–487.
 17. *Media Farmasi*, 15(1), 84. <https://doi.org/10.32382/mf.v15i1.797>
 18. Mahbub K, Novitasari N. Penetapan Kadar Flavonoid Total berbagai Variasi Pelarut Pada Ekstrak Beras Hitam (*Oryza Sativa* L. Indica) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Sains dan Terapan (Journal of Pharmacy Science and Practice)*. 2025 Apr 13;12(1):19-24.
 19. Fitriana R. Penetapan Kadar Antosianin Dan Formulasi Sediaan Blush On Compact Powder Ekstrak Beras Merah (*Oryza Rufipogon* Griff.). *Jurnal Medika Nusantara*. 2023 Sep 25;1(4):296-314.
 20. Rahmawati F, Bintang M, Yang AJ, Damayanti NM. Potensi Antioksidan, Skrining, dan Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L. Indica). *Jurnal Pro-Life: Jurnal Pendidikan Biologi, Biologi, dan Ilmu Serumpun*. 2024;11(2):129-41.
 21. Marbun RA. Testing the Activity of Chitosan Nanohydrogel from Belut Sawah (*Monopterus albus*) Extract as a Future Anti-Aging Candidate. *JURNAL FARMASIMED (JFM)*. 2025 Nov 13;8(1):331-8.
 22. Situmorang NB, Marbun RA. Formulation and Evaluation of Maggot Extract Nanocream (*Hermetia illucens*) as a Future Anti-Aging Candidate. *Jurnal Farmasimed (JFM)*. 2025 Apr 30;7(2):143-50.