

## ORIGINAL ARTICLE

### ANALISIS ANTOSIANIN DAN FLAVONOID EKSTRAK KECAMBAH BERAS HITAM

#### *Analysis of Anthocyanins and Flavonoids in Germinated Black Rice Extract*

Sudana Fatahillah Pasaribu<sup>1\*</sup>, BudiYanti Wiboworini<sup>1</sup>, Lilik Retna Kartikasari<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Ilmu Gizi, Sekolah Pascasarjana, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Indonesia

\*Penulis Korespondensi

#### Abstrak

**Pendahuluan;** Sereal merupakan sumber pangan fungsional dan nutrasetikal. Beras hitam jenis beras spesies *Oryza sativa L* yang memiliki kandungan fitokimia bersifat antioksidan. Antosianin dan flavonoid merupakan senyawa fenolik bersifat antioksidan yang banyak ditemukan pada tanaman, serta memiliki manfaat bagi kesehatan. Beras hitam merupakan salah satu tanaman yang berpotensi memiliki kandungan senyawa antioksidan seperti antosianin dan flavonoid. Proses perkecambahan beras hitam dapat mempengaruhi senyawa fitokimia kecambah beras hitam. Ekstrak kecambah beras hitam memiliki warna ungu gelap menunjukkan adanya kandungan senyawa antosianin dan flavonoid. Penelitian analisis kandungan antosianin dan flavonoid ekstrak kecambah beras hitam lokal varietas *krisna* belum pernah dilakukan. Oleh karena itu perlu dilakukan analisis senyawa fitokimia tersebut, sebagai dukungan dalam dunia kesehatan. **Tujuan;** menganalisis kandungan antosianin dan flavonoid ekstrak kecambah beras hitam. **Bahan dan Metode;** Metode ekstraksi yang digunakan maserasi. Kandungan antosianin menggunakan metode *pH Differential* dan kandungan flavonoid menggunakan metode *Spectrofotometry UV-Vis*. **Hasil;** Ekstrak kecambah beras hitam memiliki jumlah kadar antosianin 48,68 mg/g  $\pm$  1,56 dan flavonoid 2,08 mgQE/g  $\pm$  0,01 **Kesimpulan;** Ekstrak kecambah beras hitam memiliki kandungan senyawa fitokimia antosianin dan flavonoid. Perlu penelitian lanjutan untuk mengkaji pengaruh pemberian dan penentuan dosis ekstrak kecambah beras hitam terhadap pengobatan suatu penyakit.

**Kata Kunci:** Kecambah Beras Hitam, Antosianin, Flavonoid

#### Abstract

**Background;** Cereals are a source of functional and nutritional food. Black rice is a type of *Oryza sativa L* rice which contains antioxidant phytochemicals. Anthocyanins and flavonoids are phenolic compounds that are antioxidants that are found in many plants and have health benefits. Black rice is a plant that has the potential to contain antioxidant compounds such as anthocyanins and flavonoids. The germination process of black rice can affect the components of phytochemical compounds in germinated black rice. Germinated black rice extract has a dark purple color which indicates the content of anthocyanin and flavonoid compounds. There has been no research regarding the analysis of anthocyanin and flavonoid content of the *krisna* variety of local germinated black rice extract. Therefore it is necessary to analyze these phytochemical compounds, to support the world of health. **Objectives;** to analyze the anthocyanin and flavonoid content of germinated black rice extract. **Materials and Method;** The extraction method used was maceration. The anthocyanin content used the *pH Differential* method and the flavonoid content used the *Spectrofotometry* method. **Results;** Germinated black rice extract has a total anthocyanin levels of 48.68mg/g  $\pm$  1.56 and flavonoids 2.08 mgQE/g  $\pm$  0.01. **Conclusion;** The extract of germinated black rice contains phytochemical compounds anthocyanin and flavonoids. Suggestions for further research are to examine the effect of giving and determining the dose of germinated black rice extract on the treatment of a disease.

**Keywords:** Germinated Black Rice, Anthocyanins, Flavonoids

#### PENDAHULUAN

Beras merupakan bahan makanan pokok bagi sebagian besar penduduk di Asia dengan jumlah total konsumsi beras sebesar 22% dari asupan energi di dunia (1–3). Benua Asia merupakan produsen

beras terbesar dengan jumlah 92% dari seluruh produksi beras global. Indonesia adalah negara agrikultur dengan sumber daya alam dan wilayah agraris yang luas. Sebagian besar bahan pangan sumber karbohidrat yang diproduksi di Indonesia adalah beras dengan jumlah produksi di pulau Jawa mencapai 56% (3,4).

Biji-bijian dan sereal seperti beras coklat dan beras hitam merupakan sumber pangan fungsional dan nutrasetikal. Kandungan gizi pada sereal diketahui memiliki potensi untuk kesehatan seperti pencegahan dan terapi pada beberapa penyakit dan menjaga kesehatan karena mengandung antioksidan seperti antosianin dan flavonoid (5).

Antosianin adalah senyawa kimia organik yang memiliki warna merah, biru, dan hitam biasanya terdapat pada tanaman. Selain itu antosianin termasuk pewarna alami golongan flavonoid dengan tiga karbon diikat oleh satu atom oksigen (6,7). Antosianin memiliki karakteristik karbon  $C_6C_3C_6$  yang memiliki sifat larut pada pelarut polar. Berdasarkan kepolarannya pelarut antosianin pada tanaman berbentuk aglikon (8,9). Antosianin memiliki manfaat dalam mencegah dan mengobati berbagai penyakit dengan menangkalkan radikal bebas turunan oksigen reaktif yaitu oksigen tunggal, peroksid dan hidroksil (9).

Flavonoid merupakan senyawa fenol yang banyak ditemukan pada tanaman, biasanya flavonoid memiliki warna merah, biru, dan ungu. Senyawa flavonoid mempunyai kerangka karbon yaitu dua cincin benzene tersambung dengan rantai alifatik tiga karbon (10). Flavonoid terdiri dari beberapa golongan yaitu antosianin, flavanone, katekin, kalkon, flavon dan flavonol (11). Senyawa flavonoid memiliki banyak manfaat dalam kesehatan karena bersifat antioksidan dengan mekanisme pemecahan radikal bebas (12).

Antosianin dan flavonoid merupakan senyawa fenolik yang banyak ditemukan pada tanaman, serta memiliki banyak manfaat seperti sebagai antidiabetes, antiinflamasi, pencegahan penyakit alzheimer dan pencegahan penyakit kardiovaskular (13,14). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pada penyakit seperti kardiovaskular, alzheimer, diabetes melitus, dan obesitas terjadi gangguan keseimbangan aktivitas radikal bebas (15). Antioksidan merupakan senyawa yang berfungsi untuk menurunkan stress oksidatif dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) melalui penghambatan oksidasi (16). Melihat manfaat dan potensi kesehatan antosianin dan flavonoid tersebut, eksplorasi tanaman yang mengandung antosianin dan flavonoid perlu dilakukan. Salah satu tanaman yang memiliki potensi kandungan antosianin dan flavonoid adalah beras hitam.

Beras hitam merupakan beras spesies *Oryza sativa L* dan termasuk famili *poaceae* dengan genus *oryza* (17). Indonesia memiliki beras hitam dengan berbagai nama diantaranya, di daerah Jawa Tengah di Kota Solo disebut sebagai “beras wulung”, di daerah Jawa Barat Kabupaten Subang disebut “beras gadog” dan di daerah D.I.Yogyakarta Kabupaten Sleman disebut “cempo ireng” (18). Beras hitam memiliki kandungan fitokimia lebih baik dibanding dengan beras putih dan beras merah (19,20). Menurut Kristantini *et al.* (2014) ditemukan dari 11 kultivar beras hitam yang ada di Indonesia memiliki kandungan antosianin berkisar antara 50-600 mg/100 g (21).

Beras hitam dapat ditingkatkan kandungan senyawa bioaktifnya dengan perkecambahan, sebab proses perkecambahan akan menimbulkan perubahan pada fisiologis (5). Kecambah beras hitam secara visual mempunyai warna gelap dan ungu menyerupai hitam yang menunjukkan tingginya kandungan senyawa fitokimia antosianin dan flavonoid (8,10,11) Kecambah beras hitam yang digunakan pada penelitian ini adalah beras hitam lokal varietas *krisna* yang diproduksi oleh masyarakat Kabupaten Klaten. Penelitian untuk menganalisis kandungan antosianin dan flavonoid ekstrak kecambah beras hitam varietas *krisna* perlu dilakukan, karena berpotensi memiliki kandungan antosianin dan flavonoid. Sejauh ini penelitian terkait ekstrak kecambah beras hitam varietas *krisna* belum pernah dilakukan. Hal ini untuk memberikan bukti empiris ekstrak kecambah beras hitam lokal varietas *krisna* memiliki kandungan antosianin dan flavonoid yang tinggi. Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti melakukan analisis kandungan senyawa fitokimia antosianin dan flavonoid ekstrak kecambah beras hitam varietas *krisna* sebagai penelitian pendahuluan sebelum eksperimen untuk melihat potensinya pada penyembuhan penyakit.

## BAHAN DAN METODE

Beras yang digunakan meliputi beras hitam lokal varietas *krisna* diperoleh dari Kabupaten

Sleman, D.I. Yogyakarta. Pelaksanaan perkecambah beras hitam, ekstraksi kecambah beras hitam serta uji analisis antosianin dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi Universitas Sebelas Maret, kemudian uji analisis flavonoid di Laboratorium Chem-Mix Pratama Yogyakarta, pada bulan Februari-Maret 2021.

Alat dan bahan pembuatan kecambah beras hitam yaitu baskom, penyaring, kain flanel, baki berlubang, timbangan digital, beras hitam dan air bersih. Alat dan bahan pembuatan ekstrak kecambah beras hitam yaitu *Cabinet dryer*, mesin penggiling/ *disk mill*, penyaring 60 mesh, *rotary evaporator*, kertas saring, timbangan analitik, cawang petri, gelas ukur, erlenmeyer, *orbital shaker*, *centrifuge*, tepung kecambah beras hitam, etanol 80%, asam sitrat 3% dan aquades.

**Perkecambahan Beras Hitam:** Beras hitam disortasi, dibersihkan, direndam menggunakan air (air dan beras = 1:1) dengan suhu kamar selama 6 jam, lakukan penirisan. Tahapan berikutnya, beras hitam ditebarkan pada kain basah, ditutup dengan kain basah dan dilakukan penyiraman air menggunakan wadah berlubang. Penyiraman dilakukan setiap 12 jam selama 48 jam dengan tujuan membasahi beras, sehingga menjadi kecambah beras hitam dengan panjang tunas 0,5-1 mm. Kecambah beras hitam selanjutnya ditiriskan dan dikeringkan menggunakan kabinet pada suhu 50 °C selama 5 jam. Kecambah beras hitam ditepungkan menggunakan *disk mill* dan disaring (60 mesh), sehingga menghasilkan tepung kecambah beras hitam (22).

**Ekstraksi Kecambah Beras Hitam:** Tepung simplisia kecambah beras hitam ditimbang 60 g dan ditambahkan dengan etanol 80% perbandingan 1:5 yang diasamkan menggunakan asam sitrat 3% (perbandingan etanol dan asam sitrat 85 : 15 (v/v)). Tahapan berikutnya, larutan tersebut didiamkan selama 24 jam, sambil diaduk menggunakan *Orbital Shaker* selama 4 jam dengan kecepatan 150 rpm. Larutan dilakukan sentrifuge selama 30 menit dengan kecepatan 4000 rpm. Supernatan disaring menggunakan kertas filter. Supernatan kemudian dikentalkan dengan *rotary evaporator* suhu (50°C) sehingga dihasilkan ekstrak kental kecambah beras hitam (5,23,24)

**Penentuan Kadar Antosianin Total:** Penentuan kandungan antosianin menggunakan metode *pH Differential*. Ekstrak kecambah beras hitam dilakukan faktor pengenceran dengan melarutkan ekstrak menggunakan buffer KCl pH 1 sampai ditemukan absorbansi kurang dari 1,2 dengan panjang gelombang 510 nm. Kemudian kedua sampel disiapkan, sampel pertama menggunakan buffer KCl pada pH 1 dan buffer Na-asetat dengan pH 4,5 pada sampel kedua. Setiap sampel dilarutkan pada *buffer* menurut faktor pengenceran. Dilakukan *scan* pada panjang gelombang 510 nm – 750 nm pada sampel menggunakan buffer natrium asetat dan KCl sebagai determinasi kadar antosianin dan penentuan  $\lambda_{\text{vis-maks}}$  pengukuran sampel (25). Selanjutnya dilakukan pengukuran absorbansi setiap larutan yang ditentukan dengan persamaan :

$$A = (A_{\lambda_{\text{vis-maks}}} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$$

Penentuan kadar antosianin total dari ekstrak kecambah beras hitam diukur dengan rumus:

$$\text{Total Antosianin (mg/g)} = [(A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000 / (\epsilon \times l)]$$

Keterangan

A : Absorbansi larutan

MW : *Molecular weight* (449,2 g/ mol)

DF : *Dilution factor* (faktor pengenceran)

$\epsilon$  : Absorptivitas molar *cyandin-3-glucoside* (26.900)

b : Tebal kuvet = 1

MAP : *Monomeric Anthocyanin Pigment*

**Penentuan Kadar Flavonoid Total:** Penentuan kadar flavonoid menggunakan metode *spectrofotometry UV-Vis*. Sampel ekstrak kecambah beras hitam ditimbang 5 g dan dilarutkan dalam 100 ml etanol. Selanjutnya, larutan disaring, diambil 1 ml larutan jernih, dan dimasukkan 3 ml larutan  $\text{AlCl}_3$  5%. Kemudian, ditambahkan etanol sehingga volume menjadi 10 ml. Absorbansi dibaca dengan *spektrofotometer* pada panjang gelombang 420 nm. Kurva standar dibuat menggunakan quercetin (26). Penentuan kadar flavonoid total dari ekstrak kecambah beras hitam diukur dengan persamaan :

$$\begin{aligned} \% \text{ Flavonoid} &= \frac{x \cdot \text{Faktor Pengenceran}}{\text{Berat Sampel (mg)}} \times 100\% \\ &= (y - a)/b \end{aligned}$$

Keterangan

- x : Kadar flavonoid  
 y : Besaran absorbansi  
 a dan b : Persamaan dari kurva standar

## HASIL

**Rendemen:** Tabel 1 menunjukkan hasil rendemen ekstrak kecambah beras hitam sejumlah 9,83% dari berat awal simplisia tepung kecambah beras hitam 60 g, kemudian menjadi ekstrak kecambah beras hitam kental yaitu 5,90 g.

**Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Kecambah Beras Hitam**

Sampel	Berat awal	Ekstrak kental	R
EKBH	60 g	5,90 g	9,83%

EKBH : Ekstrak kecambah beras hitam, R : Rendemen

**Analisis Antosianin Total dan Flavonoid Total:** Tabel 2 menunjukkan ekstrak kecambah beras hitam memiliki kandungan rerata senyawa antosianin total 48,68 mg/g  $\pm$  1,56 dan kandungan rerata senyawa flavonoid total sejumlah 2,08 mgQE/g  $\pm$  0,01 yang dilakukan secara *duplo*.

**Tabel 2. Analisis Antosianin Total Ekstrak Kecambah Beras Hitam**

Senyawa Fitokimia	Analisis I	Analisis II	Rerata	SD
Antosianin	49,79 mg/g	47,57 mg/g	48,68 mg/g	$\pm$ 1,56
Flavonoid	2,09 mgQE/g	2,07 mgQE/g	2,08 mgQE/g	$\pm$ 0,01

SD : Standar Deviasi

## PEMBAHASAN

Tanaman beras hitam (*Oryza sativa L. indica*) yang dikecambahkan adalah beras hitam varietas lokal yaitu *krisna*. Beras hitam setelah dikecambahkan kemudian dilakukan pengeringan dengan tujuan untuk mengurangi jumlah kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan yang disebabkan bakteri, jamur dan reaksi enzimatis (10,27).

Sampel penelitian ini tepung kecambah beras hitam sejumlah 60 g yang diekstraksi dengan metode maserasi. Metode ekstraksi maserasi merupakan metode ekstraksi dingin, pada metode ini cairan penyari akan masuk ke rongga sel tumbuhan dan melewati dinding sel tumbuhan yang memiliki senyawa aktif. Kemudian zat aktif pada tumbuhan akan didorong hingga keluar dari dinding sel (10). Pemilihan metode ekstraksi maserasi karena pada tahapannya tidak menggunakan metode pemanasan, sebab jika menggunakan metode ekstraksi dengan proses pemanasan akan mempengaruhi penurunan kandungan antosianin dan flavonoid. Metode ekstraksi maserasi lebih banyak digunakan dalam mengisolasi antosianin dan flavonoid karena senyawa tersebut tidak mudah rusak dibandingkan ekstraksi pada suhu tinggi. Selain itu ekstraksi maserasi menghasilkan jumlah rendemen yang tinggi (28,29). Pemilihan maserasi ekstrak kecambah beras hitam menggunakan jenis pelarut etanol 80% dan asam sitrat 3% merujuk hasil penelitian Kristiana *et al.* (2012) yang menyatakan pelarut tersebut lebih efektif untuk mengikat senyawa antosianin dan flavonoid (30). Pelarut etanol juga terbukti dapat mengikat senyawa fenolik lebih baik dibandingkan pelarut aquades (23). Ekstrak kental yang diperoleh pada tabel 1 memiliki warna ungu gelap dengan rendemen sejumlah 9,83%. Hasil rendemen penelitian ini lebih tinggi dibandingkan penelitian Maulida dan Guntari (2015) ditemukan nilai rata-rata rendemen ekstrak beras hitam sejumlah 6,7%. Perbedaan hasil diduga karena ukuran penyaring yang digunakan adalah 20/40 mesh sehingga mempengaruhi ukuran partikel simplisia yang disaring (31). Menurut Ardyanti *et al.* (2020) terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi hasil dari rendemen yaitu ukuran partikel simplisia dan lama maserasi (32). Hal ini sejalan dengan penelitian Antari *et al.* (2015) menyatakan partikel simplisia dengan penyaringan 60 mesh memiliki nilai rata-rata rendemen tertinggi dibandingkan dengan partikel simplisia penyaringan 40 mesh (33).

Kandungan antosianin dan flavonoid ekstrak kecambah beras hitam lokal varietas *krisna* lebih tinggi dibandingkan beberapa jenis beras lainnya, seperti ekstrak beras merah yang memiliki kadar

antosianin 0,002 mg/g; flavonoid 0,66 mg/g dan ekstrak beras coklat memiliki kandungan flavonoid 0,36 mg/g namun tidak memiliki kandungan antosianin. Ekstrak kecambah beras hitam merupakan golongan famili yang sama dengan ekstrak beras merah dan coklat, namun ekstrak kecambah beras hitam memiliki kandungan antosianin dan flavonoid yang tinggi. Perbedaan kadar antosianin dan flavonoid ekstrak kecambah beras hitam terhadap beras merah dan coklat juga dapat dilihat secara visual karena ekstrak beras hitam lebih gelap dibandingkan beras merah dan coklat (34,35). Selain itu pada hasil penelitian ini terdapat perbedaan kandungan senyawa antosianin ekstrak kecambah beras hitam dibandingkan dengan penelitian Chaiyasut (2017) yang mendapatkan antosianin sejumlah 26 mg/g (24). Kandungan antosianin tersebut lebih rendah dibandingkan ekstrak kecambah beras hitam varietas *krisna*. Perbedaan hasil analisis antosianin ini diduga karena pengaruh perbedaan tempat tumbuh beras hitam yang digunakan, sebab penelitian sebelumnya jenis ekstrak kecambah beras hitam yang digunakan adalah beras hitam bersumber dari Thailand Utara. Hal ini sesuai pendapat dengan beberapa penelitian yang menyatakan terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi perbedaan komponen senyawa pada tanaman yaitu varietas, umur tanaman, lingkungan penanaman, waktu tumbuh, dan lokasi tumbuh suatu tanaman (36,37). Perbedaan analisis kandungan senyawa fitokimia ekstrak kecambah beras hitam pada penelitian Chaiyasut (2017) diduga juga karena perbedaan jenis pelarut yang dipakai yaitu etanol 50% dan asam asetat 4% (24). Hal ini sejalan dengan pendapat Chew *et al.* (2011) dan Agustin *et al.* (2015) yang mengungkapkan perbedaan hasil kandungan senyawa pada ekstraksi tanaman juga dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi pelarut yang digunakan (38,39). Penggunaan pelarut pada penelitian ini sejalan yang dilakukan Kristiana (2012) dan Wirda (2011) yang melaporkan bahwa pelarut etanol 80% dan asam sitrat 3% dapat mengikat senyawa antosianin dan flavonoid lebih baik dibandingkan jenis pelarut lain yaitu etanol 70%+ asam sitrat 3%, etanol 95% + asam sitrat 3%, etanol 70%+ HCl 1%, etanol 80%+ HCl 1%, dan etanol 95%+ HCl 1% (30,40).

Beberapa penelitian menunjukkan antosianin dan flavonoid pada tanaman memiliki banyak manfaat seperti antimutagenik, anti mikroba, anti inflamasi, anti trombogenik, anti infertilitas, anti kanker, antihipertensi, anti arthritis, *anti aging*, pencegah kepikunan, pencegah gangguan fungsi hati, anti obesitas serta penyakit lain yang disebabkan adanya oksidasi berkelanjutan yang berpengaruh pada gangguan pertumbuhan dan kerusakan sel (14,41–44). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan pra-klinis untuk melihat efek dan menentukan jumlah dosis ekstrak kecambah beras hitam lokal yang tepat sebagai terapi pada suatu penyakit.

## KESIMPULAN

Ekstrak kecambah beras hitam dengan varietas lokal *krisna* yang diperoleh dari Kabupaten Sleman, D.I. Yogyakarta memiliki kandungan senyawa fitokimia antosianin total yaitu 48,68 mg/g  $\pm$  1,56 mg/g dan flavonoid total yaitu 2,08 mgQE/g  $\pm$  0,01 mgQE/g. Saran yang perlu dilakukan adalah penelitian lanjutan terkait pengaruh pemberian dan penentuan dosis ekstrak kecambah beras hitam terhadap pengobatan suatu penyakit.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada laboran Laboratorium Pangan dan Gizi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret yang telah membantu penelitian ini dalam proses perkecambahan dan pemeriksaan fitokimia.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik dalam publikasi artikel ini

## DAFTAR PUSTAKA

1. Kamsiati E. Karakteristik Fisik dan Kimia Beras Indigenous dari Lahan Pasang Surut di Kalimantan Tengah. *J PANGAN*. 2018;27(2):107–16.
2. Sari, A.K. and Ayuhecaria N. Penetapan kadar fenolik total dan flavonoid total ekstrak beras hitam (*Oryza sativa* L) Dari Kalimantan Selatan. *J Ilm Ibnu Sina*. 2017;2(2):327–35.
3. Nuryani. Potensi Substitusi Beras Putih dengan Beras Merah sebagai Makanan Pokok untuk Perlindungan Diabetes Melitus. *Media Gizi Masy Indones*. 2013;3(3).

4. Zaeroni, R. and Rustariyuni S. Pengaruh Produksi Beras, Konsumsi Beras, dan Cadangan Devisa terhadap Impor Beras di Indonesia. *J EP Unud*. 2016;5(9):993–1010.
5. Ekowati, N. and Purwestri Y. Analisis kandungan gamma aminobutyric acid (GABA), fenol total dan aktivitas antioksidan “beras kecambah” kultivar lokal (*Oryza sativa* L.) di Yogyakarta. *Agicola*. 2016;6(2):117–27.
6. Du, H., Wu, J., Ji, K. X., Zeng QY, Bhuiya, M. W., Su, S., Shu QY, Ren, H. X., Liu, Z. A., & Wang LS. Methylation Mediated by An Anthocyanin, O-Methyltransferase, Is Involved in Purple Flower Coloration in *Paeonia*. *J Exp Bot*. 2015;66(21):6563–77.
7. Hambali, M., Mayasari, F. & Noermansyah F. Ekstraksi Antosianin dari Ubi Jalar dengan Variasi Konsentrasi Solven, dan Lama Waktu Ekstraksi. *Tek Kim*. 2014;20(2):25–35.
8. Santoso, W. E. A., & Estiasih T. Kopigmentasi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* var. Ayamurasaki) dengan Kopigmen Na-Kaseinat dan Protein Whey serta Stabilitasnya terhadap Pemanasan. *J Pangan dan Agroindustri*. 2014;2(4):121–7.
9. Priska, M., Peni, N., Carvallo, L. and Ngapa YD. Review: Antosianin Dan Pemanfaatannya. *Cakra Kim (Indonesian E-Journal Appl Chem)*. 2018;6(2):79–97.
10. Wahyulianingsih, Handayani, S., & Malik A. Penetapan kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*(L.) Merr dan Perry. *J Fitofarmaka Indones*. 2016;3(2):188–93.
11. Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra S. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*. 2016;5(47):1–15.
12. Faizal Alfaridz RA. Review Jurnal : Klasifikasi Dan Aktivitas Farmakologi Dari Senyawa Aktif Flavonoid. *Farmaka*. 2018;16(3):1–9.
13. Priska, M., Peni, N., Carvallo, L. and Ngapa Y. Antosianin dan Pemanfaatannya. *Cakra Kim (Indonesian E-Journal Appl Chem)*. 2018;6(2):79–97.
14. Panche, A.N., Diwan, A.D. and Chandra S. Flavonoids: an overview. *ournal Nutr Sci*. 2016;5.
15. Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D. and Abete P. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018;13:757.
16. Werdhasari A. Peran antioksidan bagi kesehatan. *J Biotek Medisiana Indones*. 2014;59:68.
17. Kushwaha UKS. Black rice. In *Black Rice* Springer, Cham. Springer Int Publ Switz. 2016;21–47.
18. Kristamtini, T., Basunanda, P. and Murti R. Korelasi Kandungan Antosianin Total dengan Peubah Warna (L\*, a\*, dan b\*) dan Penanda Mikrosatelit pada Beras Hitam. *Penelit Pertan Tanam Pangan*. 2017;1(2):115–24.
19. Shen, S., Wang, Y., Li, M., Xu, F., Chai, L. and Bao J. The effect of anaerobic treatment on polyphenols, antioxidant properties, tocals and free amino acids in white, red, and black germinated rice (*Oryza sativa* L.). *J Funct Foods*. 2015;19:641–8.
20. Zhang, H., Shao, Y., Bao, J. and Beta T. Phenolic compounds and antioxidant properties of breeding lines between the white and black rice. *Food Chem*. 2015;172:630–9.
21. Kristamtini, Taryono, Basunanda P, Murti RH. Keragaman Genetik dan Korelasi Parameter Warna Beras dan Kandungan Antosianin Total Sebelas Kultivar Padi Beras Hitam Lokal. *Ilmu Pertan*. 2014;17(1):57–70.
22. Nurhidajah, N. and Nurrahman N. Efek hipoglikemik kecambah beras merah pada tikus yang diinduksi STZ-NA dengan parameter kadar insulin, indeks HOMA-IR dan HOMA  $\beta$ . *agriTECH*. 2017;36(4):433–9.
23. Putri D. Ekstraksi Antosianin Beras Hitam (*Oryza Sativa* L.) Dengan Berbagai Pelarut Dan Evaluasi Stabilitasnya Pada Suhu Tinggi. Universitas Gadjah Mada; 2015.
24. Chaayasut, C., Sivamaruthi, B.S., Pengkumsri, N., Keapai, W., Kesika, P., Saelee, M., Tojing, P., Sirilun, S., Chaayasut, K., Peerajan, S. and Lailerd N. Germinated Thai black rice extract protects experimental diabetic rats from oxidative stress and other diabetes-related consequences. *Pharmaceuticals*. 2017;10(1):1–16.
25. Giusti, M.M. and Wrolstad R. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Curr Protoc food Anal Chem*. 2001;(1): 1-13.
26. Yulianingtyas, A. and Kusmartono B. Optimasi volume pelarut dan waktu maserasi

- pengambilan flavonoid daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *J Tek Kim.* 2016;10(2):61–7.
27. Dharma M.A., Nocianitri K.A, Yusasrini N. Pengaruh Metode Pengeringan Simplisia Terhadap Kapasitas Antioksidan Wedang Uwuh. *J Ilmu dan Teknol Pangan.* 2020;9(1):88–95.
  28. Mukhriani. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *J Kesehat.* 2014;7:361–7.
  29. Hasnaeni, H. and Wisdawati W. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara Blanco*). *Galen J Pharm.* 2019;5(2):175–82.
  30. Kristiana, H.D., Ariviani, S. and Khasanah L. Ekstraksi pigmen antosianin buah senggani (*Melastoma malabathricum* auct. Non linn) dengan variasi jenis pelarut. *J Teknosains Pangan.* 2012;1(1):105–9.
  31. Maulida, Ria and Any G. Pengaruh Ukuran Partikel Beras Hitam (*Oryza Sativa* L.). *J Pharm.* 2015;5(1):9–16.
  32. Ardyanti, N., Suhendra, L. and Puta GG. Pengaruh Ukuran Partikel dan Lama Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Virgin Coconut Oil Wortel (*Daucus carota* L.) sebagai Pewarna Alami. *J Rekayasa dan Manaj Agroindustri.* 2020;8(3):423–34.
  33. Antari, N., Wartini, N.M. and Mulyani S. Pengaruh ukuran partikel dan lama ekstraksi terhadap karakteristik ekstrak warna alami buah pandan (*Pandanus tectorius*). *J Rekayasa dan Manaj Agroindustri.* 2015;3(4):30–40.
  34. Widyawati, P.S., Sutedja, A.M., Suseno, T.I.P., Monika, P., Saputrajaya, W. and Liguori C. Pengaruh perbedaan warna pigmen beras organik terhadap aktivitas antioksidan. *Agit J Teknol Pertan.* 2014;34(4):399–406.
  35. Pengkumsri N, Chaiyasut C, Saenjum C, Sirilun S, Peerajan S, Suwannalert P, Sirisattha S SB. Physicochemical and antioxidative properties of black, brown and red rice varieties of northern Thailand. *Food Sci Technol.* 2015;35(2):331–8.
  36. Teekachunhatean, Supanimit, Nutthiya Hanprasertpong and TT. Factors affecting isoflavone content in soybean seeds grown in Thailand. *Int J Agron.* 2013; 1-11.
  37. Astuti, E., Sunarminingsih, R., Jenie, U.A., Mubarika, S. and Sismindari S. Pengaruh Lokasi Tumbuh, Umur Tanaman Dan Variasi Jenis Destilasi Terhadap Komposisi Senyawa Minyak Atsiri Rimpang Curcuma Mangga Produksi Beberapa Sentra Di Yogyakarta. *urnal Mns dan Lingkungan.* 2014;21(3):323–30.
  38. Chew, K.K., Khoo, M.Z., Ng, S.Y., Thoo Y.Y., Wan Aida W. Effect of Ethanol Concentration, Extraction time and Extraction temperature on the Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of *Orthosiphon stamineus* Extracts. *Int Food Res J.* 2011;18(4):1427–35.
  39. Agustin, Dina and II. Pengaruh konsentrasi pelarut pada proses ekstraksi antosianin dari bunga kembang sepatu. *J Konversi.* 4(2):9–16.
  40. Wirda, Z., Halim, H., Millati, T., Zuhidiani R. Pengaruh Berbagai Jenis Pelarut dan Asam Terhadap Rendemen Antosianin Kubis Merah (*Brassica oleraceae capitata*). *Agroscientific.* 2011;18(2):1-9
  41. Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T., & Lim SM. Anthocyanidins and Anthocyanins: Colored Pigments as Food, Pharmaceutical Ingredients, and The Potential Health Benefits. *Food Nutr Res.* 2014;61(1):1–21.
  42. Sigarlaki, E.D., & Tjiptaningrum A. Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap Kadar Kolesterol Tota. *Majority.* 2016;5(5):14–7.
  43. Monteiro e Silva, S.A., Michniak-Kohn, B., & Leonardi G. An Overview about Oxidation in Clinical Practice of Skin Aging. *An Bras Dermatol.* 2017;92(3):367–74.
  44. Valenza, A., Bonfanti, C., Pasini, M.E., & Bellosta P. Anthocyanins Functions Anti-Inflammatory Agents in a *Drosophila* Model for Adipose Tissue Macrophage Infiltration. *Biomed Res Int.* 2018;1–9.