

Analysis of Bioactive Compound Content and Antioxidant Activity of Black Rice (*Oryza sativa* L. *indica*) and Mung Bean (*Vigna radiata* L.)

Analisis Kadar Senyawa Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Beras Hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) dan Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.)

Imelda Afriana Putri ^{a*}, Any Guntarti ^a, Sapto Yuliani ^a, Nurkhasanah ^a

^a Program Studi S2 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia.

*Corresponding Authors: afrianaimelda69@gmail.com

Abstract

Introduction: Excessive free radicals can induce oxidative stress and contribute to the pathogenesis of various degenerative diseases, necessitating the availability of effective antioxidants. Black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) and mung bean (*Vigna radiata* L.) are recognized as rich sources of bioactive compounds with prospective antioxidant properties. **Objective:** This study aimed to analyze the bioactive compound content and antioxidant activity of black rice and mung bean extracts. **Methods:** Extraction was performed using maceration with 80% ethanol containing 3% citric acid for black rice and 70% ethanol for mung bean. Total anthocyanin and total polyphenol contents were determined in black rice extract, while total polyphenol and total flavonoid contents were analyzed in mung bean extract. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging assay. **Results:** Black rice extract exhibited total anthocyanin content of 0.802 ± 0.009 mg/g and total polyphenol content of 7.798 ± 0.178 mg GAE/g. Mung bean extract demonstrated total polyphenol content of 15.113 ± 0.396 mg GAE/g and total flavonoid content of 11.052 ± 0.243 mg QE/g. The DPPH assay revealed IC_{50} values of 3.252 ± 0.269 ppm for vitamin C, 76.692 ± 2.250 ppm for black rice extract, and 102.130 ± 2.268 ppm for mung bean extract. **Conclusion:** Black rice extract exhibited superior antioxidant activity compared to mung bean extract, as indicated by its lower IC_{50} value. Both extracts demonstrated moderate to strong antioxidant potential, suggesting their promising application as natural antioxidant sources for functional food development.

Keywords: Antioxidants, Black Rice, Mung Beans, Bioactive Compounds

Abstrak

Pendahuluan: Radikal bebas berlebih dapat memicu stres oksidatif dan berkontribusi pada patogenesis berbagai penyakit degeneratif, sehingga diperlukan antioksidan yang efektif. Beras hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) dan kacang hijau (*Vigna radiata* L.) dikenal sebagai sumber senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan menganalisis kadar senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam dan kacang hijau. **Metode:** Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 80% yang mengandung asam sitrat 3% untuk beras hitam dan etanol 70% untuk kacang hijau. Kadar antosianin total dan polifenol total ditentukan pada ekstrak beras hitam, sedangkan kadar polifenol total dan flavonoid total dianalisis pada ekstrak kacang hijau. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). **Hasil:** Ekstrak beras hitam mengandung antosianin total $0,802 \pm 0,009$ mg/g dan polifenol total $7,798 \pm 0,178$ mg GAE/g. Ekstrak kacang hijau menunjukkan kadar polifenol total $15,113 \pm 0,396$ mg GAE/g dan flavonoid total $11,052 \pm 0,243$ mg QE/g. Uji DPPH menghasilkan nilai IC_{50} vitamin C sebesar $3,252 \pm 0,269$ ppm, ekstrak beras hitam $76,692 \pm 2,250$ ppm, dan ekstrak kacang hijau $102,130 \pm 2,268$ ppm. **Kesimpulan:** Ekstrak beras hitam menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kacang hijau, yang ditunjukkan oleh nilai IC_{50} yang lebih rendah. Kedua ekstrak memiliki potensi antioksidan sedang hingga kuat, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber antioksidan alami untuk pangan fungsional.

Kata Kunci: Antioksidan, Beras Hitam, Kacang Hijau, Senyawa Bioaktif



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i2.1312>

Article History:

Received: 05/01/2026,
Revised: 26/06/2026,
Accepted: 26/06/2026,
Available Online : 30/06/2026.

QR access this Article



Pendahuluan

Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga bersifat tidak stabil dan sangat reaktif. Keberadaan radikal bebas dalam jumlah berlebihan dapat memicu terjadinya stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel, mempercepat proses penuaan, serta berkontribusi terhadap munculnya berbagai penyakit degeneratif [1]. Oleh karena itu, diperlukan senyawa antioksidan yang mampu menekan efek negatif radikal bebas. Antioksidan merupakan senyawa yang memiliki kemampuan untuk memberikan elektronnya kepada radikal bebas yang tidak stabil, sehingga radikal bebas tersebut dapat dinetralkan tanpa mengganggu proses metabolisme tubuh, dan pada akhirnya reaksi radikal bebas dapat terhambat [2].

Antioksidan dapat diperoleh dari sumber sintetis maupun alami. Namun, penggunaan antioksidan sintetis dilaporkan berpotensi menimbulkan efek samping apabila dikonsumsi dalam jangka panjang, sehingga mendorong meningkatnya perhatian terhadap antioksidan alami yang lebih aman [3]. Sumber antioksidan alami banyak ditemukan pada bahan pangan nabati yang mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti polifenol, flavonoid, dan antosianin. Senyawa-senyawa tersebut mampu mendonorkan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas sehingga menghambat reaksi oksidatif.

Beras hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) merupakan salah satu jenis beras yang dikenal memiliki kandungan pigmen antosianin yang tinggi. Antosianin yang terdapat dalam beras hitam telah terbukti memiliki beragam manfaat kesehatan, termasuk aktivitas antioksidan, anti-kanker, anti-inflamasi, anti-diabetes, antihiperlipidemia dan pencegahan penyakit kardiovaskular [4]. Selain antosianin, beras hitam juga mengandung senyawa flavonoid, fenolik, proantosianidin, asam fitat, tokotrienol, dan tokoferol yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidannya [5]. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa beras hitam memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan beras merah dan beras coklat, sehingga berpotensi sebagai sumber antioksidan alami [6].

Kacang hijau (*Vigna radiata* L.) adalah salah satu komoditas kacang-kacangan yang banyak dikonsumsi, terutama di Asia. Tanaman ini dikenal sebagai pangan fungsional karena kandungan protein yang tinggi, serat pangan, berbagai vitamin dan mineral, serta senyawa bioaktif yang berperan dalam mendukung kesehatan [7]. Kacang hijau kaya akan kandungan polifenol dengan komponen utama adalah asam fenolat, flavonoid, dan tanin [8]. Berdasarkan penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa biji dan daun kacang hijau diketahui memiliki potensi antioksidan yang cukup kuat serta kandungan flavonoid yang tinggi. Biji kacang hijau mengandung flavonoid utama berupa vitexin, sedangkan daunnya mengandung rutin sebagai senyawa utama [9].

Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan potensi antioksidan beras hitam dan kacang hijau secara terpisah, kajian yang membandingkan kadar senyawa bioaktif serta aktivitas antioksidan kedua bahan pangan tersebut masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kadar senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan dari ekstrak beras hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) dan kacang hijau (*Vigna radiata* L.). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi kedua bahan sebagai sumber antioksidan alami, serta menjadi dasar pengembangan pangan fungsional.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang meliputi tahapan pembuatan ekstrak, dilanjutkan dengan analisis kadar senyawa bioaktif mencakup antosianin total, polifenol total, dan flavonoid total, serta pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah beras hitam, kacang hijau, etanol p.a, etanol 70%, etanol 96%, akuades, asam sitrat, asam askorbat, asam klorida, kalium klorida, asam galat, reagen *Folin-Ciocalteu*, natrium hidroksida, kuersetin, aluminium klorida ($AlCl_3$), natrium asetat dan DPPH. Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (*Ohaus*), oven, ayakan, rotary evaporator (*Heidolph*), *overhead stirrer* (*IKA RW20*), *waterbath* (*Memmert*), kertas saring (*whatman*), *vacuum filter*, batang pengaduk, cawan, kaca arloji, corong kaca (*Pyrex*), pipet tetes, mikropipet (*Socorex*), tabung reaksi, vial, spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu UV-1900*), kuvet (*Hellma Analytix*) dan peralatan gelas (*Pyrex*).

Pembuatan Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa L. indica*) dan Kacang Hijau (*Vigna radiata L.*)

Sebanyak 600 g beras hitam yang telah digiling, lalu ditimbang dan ditambahkan dengan etanol 80% dalam perbandingan 1:5, yang telah diasamkan menggunakan asam sitrat 3% dengan perbandingan etanol dan asam sitrat 85:15 (v/v). Selanjutnya dimaserasi selama 24 jam dengan pengadukan menggunakan *overhead stirrer* selama 4 jam pada kecepatan 300 rpm. Setelah itu, campuran disaring untuk memisahkan ampas dan filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental [10].

Serbuk kacang hijau sebanyak 600 g dimaserasi menggunakan 3000 mL etanol 70% selama 3×24 jam pada suhu kamar dengan sesekali pengadukan. Kemudian, filtrat dipisahkan dari ampas melalui proses penyaringan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental [11]. Rendemen ekstrak dihitung menggunakan persamaan berikut [12]:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Bobot simplisia sebelum diekstraksi (g)}} \times 100\%$$

Penetapan Kadar Antosianin Total dari Ekstrak Beras Hitam

Penetapan kadar antosianin total dilakukan menggunakan metode pH diferensial. Sebanyak 25 mg ekstrak kental beras hitam dilarutkan dalam 5 mL etanol yang telah ditambahkan asam sitrat 3%. Selanjutnya, 1 mL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam dua vial berbeda. Pada vial pertama ditambahkan 5 mL larutan *buffer* KCl pH 1,0 dan vial kedua ditambahkan 5 mL larutan *buffer* natrium asetat pH 4,5. Kedua larutan dihomogenkan dan didiamkan selama 30–60 menit. Setelah itu, pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum dan 700 nm [13]. Nilai absorbansi dihitung menggunakan persamaan berikut [5]:

$$A = [(A_{\text{vis max-A700 nm}}) \text{ pH 1}] - [(A_{\text{vis max-A700 nm}}) \text{ pH 4,5}]$$

Kadar antosianin total dalam sampel dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Antosianin total (mg/g)} = \frac{A \times MW \times DF \times V}{\epsilon \times l \times W}$$

Keterangan:

- A : Nilai absorbansi sampel
- MW : Berat molekul sianidin-3-glukosida (449,2 gram/mol)
- DF : *Dilution factor* (faktor pengenceran)
- V : Volume larutan induk
- W : Berat ekstrak (g)
- ϵ : Absorptivitas molar Sianidin-3-glukosida = 26.900 L/(mol.cm)
- l : Lebar kuvet (1 cm)

Penetapan Kadar Polifenol Total dari Ekstrak Beras Hitam dan Kacang Hijau

Penetapan kadar polifenol total dilakukan menggunakan metode *Folin Ciocalteu* dengan asam galat sebagai standar. Larutan standar dibuat dengan melarutkan 10 mg asam galat dalam etanol p.a. hingga volume 25 mL, kemudian dibuat seri konsentrasi 15, 30, 50, 70, dan 80 ppm. Setiap larutan standar sebanyak 1 mL dicampur dengan 5 mL reagen *Folin Ciocalteu* dan didiamkan selama 8 menit. Selanjutnya, ditambahkan

4 mL larutan NaOH 1%, dan campuran dikocok hingga homogen. Larutan diinkubasi selama 30 menit dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 760 nm untuk pembuatan kurva baku [14].

Ekstrak sampel ditimbang masing-masing sebanyak 0,2 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dan ditambahkan 25 mL etanol p.a. Campuran diaduk selama 30 menit menggunakan pengaduk magnetik, kemudian disaring ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan etanol p.a. hingga tanda batas. Sebanyak 1 mL larutan sampel ditambahkan 5 mL reagen *Folin Ciocalteu* dan didiamkan selama 8 menit. Setelah itu, ditambahkan 4 mL larutan NaOH 1%, campuran dikocok hingga homogen dan diinkubasi selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 760 nm [14]. Kadar polifenol total dihitung menggunakan persamaan:

$$TPC = \frac{C \cdot V \cdot fp}{g}$$

Keterangan:

C : konsentrasi (nilai x)
V : volume yang digunakan (mL)
fp : faktor pengenceran
g : berat sampel (gram)

Penetapan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Kacang Hijau

Larutan standar dibuat dengan melarutkan 10 mg kuersetin dalam etanol p.a. menggunakan labu ukur 25 mL hingga mencapai tanda batas. Dari larutan stok ini, disiapkan deret konsentrasi standar 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm. Sebanyak 0,5 mL dari masing-masing larutan dicampurkan dengan 1,5 mL etanol p.a., 0,10 mL larutan AlCl₃ 10%, 0,10 mL larutan natrium asetat 1 M, dan 2,80 mL aquadest. Campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 20 menit. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 432,5 nm dan nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menyusun kurva baku [14].

Ekstrak kacang hijau ditimbang 0,2 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan 25 mL etanol p.a. Larutan diaduk selama 30 menit menggunakan pengaduk magnetik. Hasil larutan disaring ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambahkan etanol p.a. hingga mencapai tanda batas. Selanjutnya, 0,5 mL larutan sampel dicampurkan dengan 1,5 mL etanol p.a., 0,10 mL larutan AlCl₃ 10%, 0,10 mL larutan natrium asetat 1 M, dan 2,80 mL aquadest. Larutan ini dihomogenkan dan dibiarkan selama 20 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 432,5 nm [14]. Kadar flavonoid total dihitung menggunakan persamaan:

$$TFC = \frac{C \cdot V \cdot fp}{g}$$

Keterangan:

C : konsentrasi (nilai x)
V : volume yang digunakan (mL)
fp : faktor pengenceran
g : berat sampel (gram)

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam dan kacang hijau dilakukan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Larutan DPPH 1 mM dibuat dengan melarutkan DPPH sebanyak 19,716 mg dalam etanol p.a hingga volume 50 mL dalam labu ukur, kemudian diencerkan dengan memipet 15 mL larutan tersebut ke dalam labu ukur 100 mL hingga diperoleh larutan DPPH 0,15 mM. Masing-masing 50 mg ekstrak beras hitam dan kacang hijau dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a sehingga diperoleh larutan induk 1000 ppm, sedangkan larutan pembanding dibuat dengan melarutkan 5 mg vitamin C dalam 50 mL etanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya, larutan induk tersebut diencerkan untuk memperoleh seri konsentrasi 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm untuk beras hitam; 75, 100, 125, 150, dan 175 ppm untuk kacang hijau; serta 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm untuk vitamin C [15–17].

Sebanyak 1 mL larutan ekstrak maupun pembanding dari masing-masing konsentrasi ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH 0,15 mM ke dalam vial gelap, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama *operating time* yang telah ditetapkan. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm, sedangkan larutan blanko yang terdiri dari DPPH dan etanol p.a juga diukur [18]. Persentase inhibisi dihitung menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. Blanko} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100\%$$

Persentase inhibisi diplot terhadap konsentrasi sampel untuk memperoleh persamaan regresi linear yang digunakan dalam penentuan nilai IC₅₀.

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi kacang hijau dan beras hitam menggunakan metode maserasi, yang memiliki prosedur sederhana dan tidak memerlukan pemanasan sehingga mengurangi risiko kerusakan senyawa kimia yang sensitif terhadap panas [19]. Kacang hijau diekstraksi dengan etanol 70% karena pelarut ini efektif mengekstraksi senyawa polar maupun non-polar dan mampu menembus membran sel untuk berinteraksi dengan senyawa di dalamnya [20]. Sedangkan beras hitam diekstraksi dengan etanol 80% yang diasamkan dengan 3% asam sitrat, dimana penambahan asam sitrat berfungsi menurunkan pH larutan selama proses ekstraksi sehingga menjaga stabilitas dan meningkatkan jumlah antosianin yang terekstraksi [21]. Perbedaan kondisi ekstraksi tersebut disesuaikan dengan karakteristik senyawa bioaktif dominan pada masing-masing bahan sehingga diharapkan dapat menghasilkan ekstraksi yang lebih optimal.

Hasil maserat kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental, dengan kacang hijau berwarna coklat kehijauan dan beras hitam berwarna ungu kehitaman. Nilai rendemen kedua ekstrak disajikan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Rendeman Ekstrak Sampel

Sampel	Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
Beras Hitam	600	96,84	16,14
Kacang Hijau	600	79,55	13,25

Hasil menunjukkan bahwa kedua ekstrak memiliki rendemen >10%, termasuk kategori baik menurut Farmakope Herbal Indonesia Edisi II (2017). Hal ini menandakan kondisi ekstraksi yang digunakan efektif dalam mengekstraksi metabolit sekunder dari masing-masing bahan. Beberapa faktor yang memengaruhi rendemen ekstrak antara lain jenis pelarut, rasio pelarut terhadap bahan, suhu, waktu ekstraksi, pengadukan, dan ukuran simplisia. Semakin kecil ukuran simplisia, semakin luas permukaan kontak dengan pelarut sehingga meningkatkan efisiensi ekstraksi [22]. Meskipun rendemen ekstrak beras hitam (16,14%) lebih tinggi dibandingkan kacang hijau (13,25%), tingginya rendemen tidak secara langsung menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih besar. Aktivitas antioksidan lebih dipengaruhi oleh komposisi dan struktur kimia senyawa bioaktif yang terekstraksi, seperti senyawa fenolik, flavonoid, maupun antosianin. Maka dari itu, rendemen ekstrak yang lebih tinggi tidak selalu mencerminkan potensi antioksidan yang lebih tinggi.

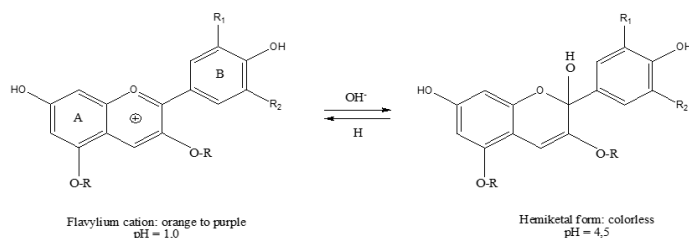
Perlu diperhatikan bahwa penggunaan kondisi ekstraksi yang berbeda pada beras hitam dan kacang hijau berpotensi memengaruhi efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif. Oleh karena itu, perbandingan kadar senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan antar sampel dalam penelitian ini perlu diinterpretasikan secara hati-hati. Perbedaan pelarut dan kondisi ekstraksi ini merupakan salah satu keterbatasan penelitian karena dapat menyebabkan perbedaan hasil ekstraksi yang tidak hanya dipengaruhi oleh karakteristik bahan, tetapi juga oleh metode ekstraksi yang digunakan.

Kadar Antosianin Total

Penetapan kadar antosianin total dalam ekstrak beras hitam menggunakan metode pH differensial. Metode ini memanfaatkan perubahan warna antosianin pada kondisi pH yang berbeda. Pada pH 1, antosianin berada dalam bentuk kation flavilium (oxonium) yang berwarna merah, sedangkan pada pH 4,5 antosianin berada dalam bentuk karbinol (hemiketal) yang hampir tidak berwarna. Perubahan warna antosianin pada berbagai tingkat pH tertentu disebabkan oleh sifat antosianin yang memiliki tingkat kestabilan yang berbeda. Sebagai contoh, pada pH 1 antosianin lebih stabil dan menunjukkan warna lebih merah, sementara pada pH 4,5 kurang stabil dan tampak hampir tidak berwarna [23]. Struktur dan perubahan warna antosianin akibat perbedaan pH disajikan pada **Gambar 1**.

Sebelum dilakukan pengukuran kadar antosianin, ditentukan terlebih dahulu panjang gelombang maksimum ekstrak yang diukur pada rentang 400–800 nm. Spektrum serapan menunjukkan panjang gelombang maksimum sebesar 515,9 nm, sesuai dengan rentang teoritis 505–545 nm [25], sehingga mengindikasikan keberadaan antosianin dalam ekstrak beras hitam. Pengukuran absorbansi sampel

dilakukan pada dua panjang gelombang yaitu 515,9 nm dan 700 nm. Pembacaan pada panjang gelombang 700 nm digunakan untuk mendeteksi adanya endapan atau partikel yang masih terdapat pada sampel. Nilai



absorbansi 0 pada panjang gelombang 700 nm menunjukkan bahwa sampel bebas dari endapan dan benar-benar jernih [26]. Namun, dalam penelitian ini absorbansi pada panjang gelombang 700 nm tidak mencapai nilai 0, yang mengindikasikan masih adanya partikel-partikel kecil dalam sampel. Hasil pengukuran absorbansi dan penetapan kadar antosianin total dalam ekstrak beras hitam disajikan dalam **Tabel 2**.

Gambar 1. Struktur Antosianin pada Kondisi pH 1,0 dan pH 4,5 [24]

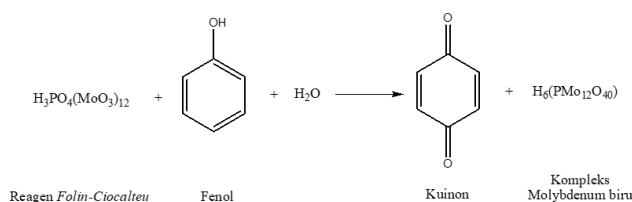
Tabel 2. Hasil Penetapan Kadar Antosianin Total Ekstrak Beras Hitam

Replikasi	Abs. pH 1		Abs. pH 4,5		Kadar Total Antosianin (mg/g)	$\bar{x} \pm SD$ (mg/g)	CV (%)
	515,9 nm	700 nm	515,9 nm	700 nm			
1	0,487	0,084	0,201	0,037	0,793	0,802 ± 0,009	1,122
2	0,495	0,079	0,210	0,041	0,812		
3	0,492	0,076	0,206	0,033	0,802		

Berdasarkan hasil analisis, kadar antosianin total pada ekstrak beras hitam adalah $0,802 \pm 0,009$ mg/g, yang termasuk dalam kisaran sedang. Nilai ini sejalan dengan penelitian Arifa *et al.* (2021), yang menyebutkan bahwa kadar antosianin pada beberapa varietas beras hitam di Jawa Barat berkisar antara 0,524–1,261 mg/g (setelah konversi dari mg/100 g). Perbedaan kadar antosianin tersebut kemungkinan dipengaruhi oleh faktor genetik (varietas), kondisi lingkungan dan cara budidaya, serta metode maupun jenis pelarut ekstraksi yang digunakan. Kandungan antosianin pada beras hitam berpotensi mendukung aktivitas antioksidan.

Kadar Polifenol Total

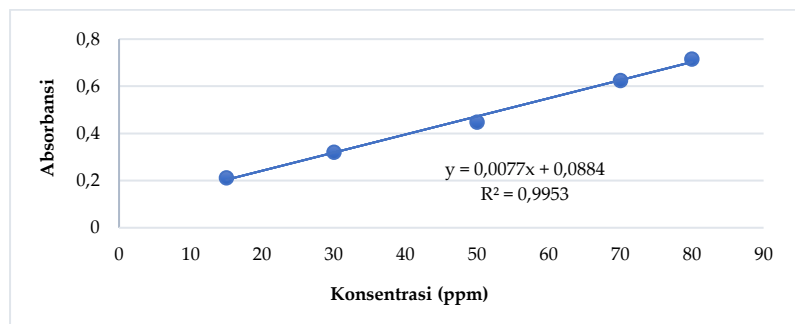
Penetapan kadar polifenol total pada ekstrak kacang hijau dilakukan menggunakan metode *Folin Ciocalteu* baku standar asam galat [27]. Asam galat dipilih sebagai standar karena senyawa ini termasuk fenolik alami dan tergolong ke dalam senyawa fenolik yang sederhana [22]. Selain itu, asam galat memiliki gugus hidroksil dan ikatan rangkap terkonjugasi pada setiap cincin benzenanya, sehingga sangat efektif dalam membentuk kompleks dengan reagen *Folin Ciocalteu* [28]. Metode *Folin Ciocalteu* didasarkan pada reaksi oksidasi senyawa fenolik oleh reagen *Folin Ciocalteu* dalam kondisi basa. Pada kondisi ini, senyawa fenolik mengalami disosiasi proton menjadi ion fenolat, yang kemudian bereaksi dengan reagen membentuk kompleks *molibdenum-tungsten* yang berwarna biru, sehingga dapat dianalisis secara kuantitatif dengan spektrofotometer. Semakin tinggi intensitas warna biru yang terbentuk, maka semakin besar pula kandungan senyawa polifenol dalam sampel [29]. Agar reaksi dapat berlangsung secara optimal, larutan natrium hidroksida ditambahkan untuk membentuk kondisi basa dalam campuran reaksi [30]. Reaksi yang terjadi antara senyawa fenol terhadap reagen *Folin-Ciocalteu* dapat diamati pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Reaksi Senyawa Fenol dengan Folin-Ciocalteu [31]

Sebelum penetapan kadar, dilakukan penentuan *operating time* untuk mengetahui waktu optimum yang diperlukan agar reaksi antara senyawa fenolik dengan reagen menghasilkan nilai absorbansi maksimum yang

stabil. Pengamatan dilakukan pada panjang gelombang 730 nm selama 60 menit, dan OT optimum diperoleh pada menit ke-30. Berikutnya, panjang gelombang maksimum larutan standar asam galat ditentukan dalam rentang 400–800 nm untuk memperoleh absorbansi tertinggi setelah mencapai OT, dengan hasil λ maks sebesar 760 nm dan nilai absorbansi 0,435. Kurva baku asam galat dibuat melalui seri konsentrasi 15, 30, 50, 70, dan 80 ppm yang dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 760 nm dengan operating time sekitar menit ke 30. Hasil pengukuran kurva baku asam galat dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Kurva Hubungan antara Konsentrasi dan Absorbansi Larutan Standar Asam Galat

Hasil kurva baku menunjukkan bahwa absorbansi meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi larutan standar asam galat. Persamaan regresi $y = 0,0077x + 0,0884$ dengan koefisien korelasi 0,9953 menunjukkan adanya hubungan linier yang sangat kuat antara konsentrasi dan absorbansi. Maka dari itu, persamaan regresi linear yang dapat digunakan untuk menghitung kadar total polifenol berdasarkan nilai absorbansi, yang dinyatakan dalam mg GAE/g ekstrak. Hasil penetapan kadar polifenol total ekstrak kacang hijau dan beras hitam dapat dilihat pada **Tabel 3**.

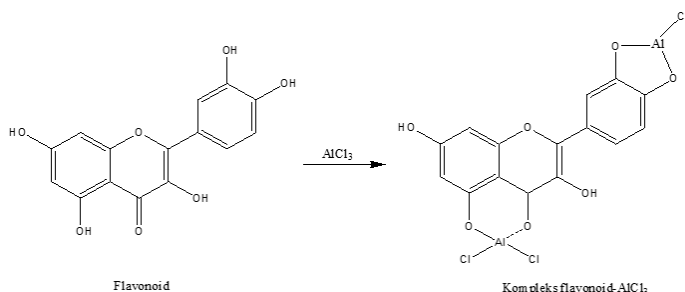
Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Polifenol Total Ekstrak Sampel

Sampel	Replikasi	Absorbansi	Kadar Fenol Total (mg GAE/g)	$\bar{x} \pm SD$ (mg GAE/g)	CV (%)
Beras Hitam	1	0,595	7,995	7,798 \pm 0,178	2,282
	2	0,562	7,646		
	3	0,574	7,753		
Kacang Hijau	1	0,557	15,042	15,113 \pm 0,396	2,620
	2	0,545	14,758		
	3	0,580	15,541		

Berdasarkan hasil penelitian, kadar polifenol total ekstrak beras hitam sebesar 7,798 \pm 0,178 mg GAE/g, sejalan dengan penelitian Fitriyah *et al.* (2021) melaporkan bahwa kadar polifenol total beras hitam berada pada kisaran 3,74–8,45 mg GAE/g. Sedangkan ekstrak kacang hijau diperoleh sebesar 15,113 \pm 0,396 mg GAE/g, yang juga sejalan dengan penelitian Singh *et al.* (2017) menyatakan bahwa kadar polifenol total ekstrak kacang hijau berkisar antara 14,06–31,31 mg GAE/g. Untuk mengetahui signifikansi perbedaan kadar polifenol total antara kedua ekstrak, dilakukan analisis statistik menggunakan uji *independent sample t-test*. Hasil pengujian diperoleh nilai signifikansi (*Sig. 2-tailed*) sebesar 0,000 ($p < 0,05$), yang mengindikasikan adanya perbedaan yang signifikan antara kedua sampel. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kacang hijau memiliki kandungan senyawa polifenol yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak beras hitam. Perbedaan nilai tersebut kemungkinan disebabkan oleh komposisi senyawa fenolik, struktur matriks bahan, efisiensi ekstraksi, polaritas pelarut, serta stabilitas senyawa fenolik selama proses ekstraksi. Selain itu, faktor varietas tanaman, kondisi lingkungan tumbuh, dan metode pengolahan juga dapat memengaruhi kadar polifenol yang terukur. Perlu diperhatikan bahwa kadar polifenol total yang diperoleh pada penelitian ini dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat (mg GAE/g) dan bukan kadar absolut senyawa polifenol. Penggunaan asam galat sebagai standar dapat menimbulkan bias karena respons spektrofotometri senyawa fenolik dalam sampel terhadap reagen *Folin-Ciocalteu* belum tentu setara dengan asam galat. Oleh karena itu, hasil yang diperoleh lebih tepat diinterpretasikan sebagai estimasi relatif kandungan polifenol total dan digunakan untuk membandingkan kandungan polifenol antar sampel. Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak beras hitam dan kacang hijau berpotensi sebagai sumber antioksidan alami.

Kadar Flavonoid Total

Penentuan kadar flavonoid total dalam ekstrak kacang hijau dilakukan menggunakan metode kolorimetri dengan penambahan reagen aluminium klorida (AlCl_3). Prinsip metode ini didasarkan pada terbentuknya kompleks stabil antara AlCl_3 dengan gugus keton pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 dari senyawa flavonoid golongan flavon dan flavonol, yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning [2]. Reaksi antara flavonoid dan AlCl_3 ditampilkan pada **Gambar 4**.

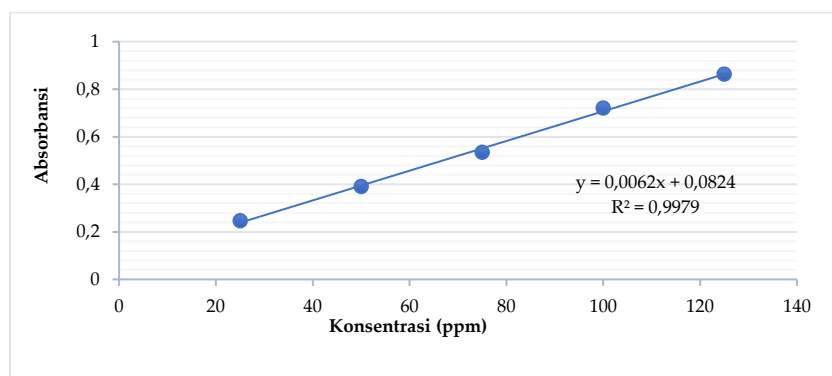


Gambar 4. Reaksi Pembentukan Kompleks antara Flavonoid dan AlCl_3 [32]

Kuersetin digunakan sebagai senyawa standar dalam penetapan kadar flavonoid karena merupakan flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada C-4 serta gugus hidroksil pada C-3 dan C-5 yang saling berdekatan [33]. Dalam analisis kadar flavonoid total, larutan standar maupun sampel bereaksi dengan reagen AlCl_3 membentuk kompleks yang menyebabkan pergeseran panjang gelombang ke daerah *visible* (tampak) dan ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi kuning. Namun, pergeseran ini tidak berlangsung lama, sehingga natrium asetat ditambahkan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah *visible* (tampak), agar tetap stabil selama proses pengukuran [34].

Pada tahap awal, ditentukan operating time untuk mengetahui waktu pengukuran optimal, yaitu saat nilai absorbansi stabil. Larutan kuersetin 100 ppm diukur pada 435 nm selama 60 menit. Hasil menunjukkan bahwa pada menit ke-20, absorbansi telah stabil dan tidak berubah signifikan. Selanjutnya, dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum untuk memperoleh nilai serapan paling tinggi. Larutan kuersetin 100 ppm diukur pada rentang panjang gelombang 400–500 nm setelah didiamkan sesuai *operating time*. Hasilnya menunjukkan bahwa λ maksimum berada pada 432,5 nm nilai absorbansi 0,733.

Pengukuran kurva baku kuersetin disiapkan dalam lima variasi konsentrasi, yaitu 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm. Masing-masing larutan diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 432,5 nm setelah didiamkan sesuai waktu *operating time*. Hasil pengukuran kurva baku kuersetin dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Kurva Hubungan antara Konsentrasi dan Absorbansi Larutan Standar Kuersetin

Hasil pengukuran menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi dan absorbansi dengan persamaan regresi $y = 0,0062x + 0,0824$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,9979 yang mendekati angka 1. Hal ini menunjukkan bahwa persamaan regresi bersifat linier, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat antara konsentrasi dan absorbansi [35]. Dengan demikian, persamaan regresi dapat digunakan untuk menghitung kadar flavonoid total dalam ekstrak, yang dinyatakan dalam mg QE/g ekstrak. Hasil penetapan kadar flavonoid total pada ekstrak kacang hijau disajikan pada **Tabel 4**.

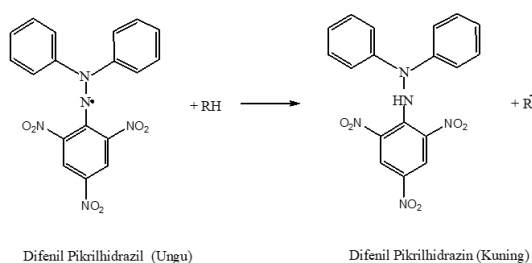
Tabel 4. Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kacang Hijau

Replikasi	Absorbansi	Kadar Flavonoid Total (mg QE/g)	$\bar{x} \pm SD$ (mg QE/g)	CV (%)
1	0,633	10,958	11,052 \pm 0,243	2,918
2	0,659	11,328		
3	0,623	10,870		

Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar flavonoid total ekstrak kacang hijau sebesar 11,052 \pm 0,243 mg QE/g, menunjukkan bahwa kacang hijau mengandung flavonoid dalam jumlah relatif tinggi dan berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Idris *et al.* (2025), yang melaporkan kadar flavonoid pada berbagai varietas kacang hijau sebesar 1,42–2,22 mg QE/g. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh terbentuknya kompleks yang lebih banyak antara $AlCl_3$ dan senyawa flavonoid, terutama flavon dan flavonol, yang menghasilkan intensitas warna kuning lebih kuat sehingga meningkatkan nilai absorbansi. Faktor lain yang dapat memengaruhi kadar flavonoid termasuk varietas kacang hijau, jenis pelarut ekstraksi, tingkat kematangan biji, serta metode preparasi sampel.

Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam dan kacang hijau menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Metode ini dipilih karena memiliki prosedur yang sederhana, cepat, dan mudah dilakukan, serta hanya memerlukan sedikit sampel dan memiliki sensitivitas yang baik dalam mengevaluasi aktivitas antioksidan senyawa dari bahan alam [36]. Prinsip metode DPPH yaitu adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal sehingga menyebabkan perubahan dari radikal bebas (*diphenylpicrylhydrazyl*) menjadi bentuk non-radikal (*diphenylpicrylhydrazine*). Reaksi ini ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning, yang menunjukkan bahwa radikal bebas telah mengalami reduksi oleh keberadaan senyawa antioksidan [37]. Perubahan warna tersebut menyebabkan penurunan nilai absorbansi sampel dalam setiap peningkatan konsentrasi dan terjadi peningkatan nilai % inhibisi [38]. Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh antioksidan disajikan pada Gambar 6.

**Gambar 6.** Reaksi Penangkapan Radikal DPPH oleh Antioksidan [38]

Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif karena dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi dan mampu menetralkan radikal bebas DPPH secara efektif, sehingga menjadi standar perbandingan untuk menilai potensi antioksidan ekstrak sampel [39]. Pada panjang gelombang maksimum 516 nm, larutan DPPH 0,15 mM dalam etanol menunjukkan absorbansi sebesar 0,832. Nilai tersebut adalah absorbansi kontrol negatif (blanko DPPH tanpa penambahan sampel) yang dijadikan sebagai absorbansi kontrol pada penentuan persentase inhibisi aktivitas antioksidan. Selain itu, penetapan *operating time* dilakukan untuk mengetahui waktu yang diperlukan agar reaksi antara larutan uji dan DPPH mencapai kestabilan dalam meredam radikal bebas [40]. Kestabilan absorbansi dicapai pada menit ke-25 untuk vitamin C, menit ke-29 untuk ekstrak beras hitam, serta 25 menit 40 detik untuk ekstrak kacang hijau, yang selanjutnya digunakan sebagai acuan waktu inkubasi pada pengujian aktivitas antioksidan.

Parameter yang digunakan untuk menilai kemampuan suatu senyawa sebagai antioksidan adalah nilai IC_{50} (*inhibitory concentration*), yaitu konsentrasi senyawa antioksidan yang diperlukan untuk meredam 50% radikal bebas DPPH. Nilai ini diperoleh melalui persamaan regresi linier yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi larutan (x) dan persen inhibisi (y) [41]. Semakin rendah nilai IC_{50} , semakin tinggi aktivitas antioksidan senyawa tersebut, sedangkan nilai IC_{50} yang tinggi menunjukkan kemampuan antioksidan yang

lebih rendah [42]. Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap vitamin C, ekstrak beras hitam dan kacang hijau dapat dilihat pada **Tabel 5-7**.

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
2	45,923%	44,873%	46,356%
4	52,877%	51,869%	53,763%
6	57,913%	57,539%	58,661%
8	64,148%	62,364%	63,799%
10	68,225%	67,068%	69,534%
Persamaan Regresi Linier	$y = 2,7938x + 41,055$ $R^2 = 0,9934$	$y = 2,7442x + 40,277$ $R^2 = 0,9926$	$y = 2,8196x + 41,505$ $R^2 = 0,9946$
IC ₅₀ (ppm)	3,201	3,543	3,012
Rata-rata ± SD	3,252 ± 0,269		

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Beras Hitam

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
50	40,071%	39,036%	40,024%
75	51,196%	50,361%	51,201%
100	59,688%	56,746%	57,572%
125	67,822%	65,421%	66,947%
150	75,837%	72,891%	74,639%
Persamaan Regresi Linier	$y = 0,3526x + 23,66$ $R^2 = 0,9952$	$y = 0,3316x + 23,759$ $R^2 = 0,9925$	$y = 0,3399x + 24,086$ $R^2 = 0,9940$
IC ₅₀ (ppm)	74,702	79,143	76,240
Rata-rata ± SD	76,692 ± 2,250		

Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Kacang Hijau

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
75	40,821%	41,556%	41,636%
100	50,241%	50,299%	50,782%
125	55,434%	58,562%	57,039%
150	62,318%	64,910%	63,056%
175	69,082%	71,377%	70,036%
Persamaan Regresi Linier	$y = 0,2744x + 21,28$ $R^2 = 0,9927$	$y = 0,297x + 20,214$ $R^2 = 0,9942$	$y = 0,2763x + 21,973$ $R^2 = 0,9937$
IC ₅₀ (ppm)	104,664	100,289	101,436
Rata-rata ± SD	102,130 ± 2,268		

Berdasarkan **Tabel 5-7** terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel, semakin besar persentase inhibisi yang dihasilkan. Persamaan regresi linier untuk setiap replikasi menunjukkan nilai koefisien korelasi mendekati 1, yang mengindikasikan adanya hubungan linier yang kuat antara konsentrasi dan kemampuan penghambatan radikal. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ vitamin C sebesar 3,252 ± 0,269 ppm (kategori sangat kuat), ekstrak beras hitam sebesar 76,692 ± 2,250 ppm (kategori kuat) dan ekstrak kacang hijau sebesar 102,130 ± 2,268 ppm (kategori sedang). Secara deskriptif, ekstrak beras hitam menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak kacang hijau, meskipun keduanya masih lebih rendah dibandingkan vitamin C sebagai kontrol positif. Hasil analisis statistik menggunakan uji *independent samples t-test* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara nilai IC₅₀ ekstrak beras hitam dan ekstrak kacang hijau dengan nilai (*Sig. 2-tailed* = 0,000; *p* < 0,05), yang mengindikasikan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam secara signifikan lebih kuat dibandingkan ekstrak kacang hijau.

Aktivitas antioksidan ekstrak beras hitam yang lebih tinggi dibandingkan kacang hijau berkaitan dengan keberadaan antosianin sebagai pigmen flavonoid yang memiliki kemampuan antioksidan tinggi, serta didukung oleh kandungan polifenol yang berperan dalam menangkap radikal bebas. Antosianin memiliki beberapa gugus hidroksil pada struktur cincin aromatikanya, khususnya gugus orto-dihidroksil pada cincin B, yang berperan dalam mekanisme penangkapan radikal bebas melalui donasi atom hidrogen dan transfer

elektron. Keberadaan gugus tersebut memungkinkan terbentuknya radikal yang lebih stabil melalui delokalisasi elektron dan resonansi, sehingga meningkatkan efisiensi aktivitas antioksidan [43,44]. Sementara itu, ekstrak kacang hijau juga menunjukkan kemampuan menangkal radikal bebas melalui kandungan polifenol dan flavonoid, meskipun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan beras hitam. Flavonoid pada kacang hijau, seperti vitexin memiliki jumlah gugus hidroksil yang lebih sedikit serta tidak memiliki susunan orto-dihidroksil pada cincin aromatiknya, sehingga kemampuan stabilisasi radikal melalui resonansi menjadi lebih terbatas. Hal ini mengindikasikan bahwa efektivitas antioksidan tidak hanya ditentukan oleh jumlah, tetapi juga oleh jenis dan struktur kimia senyawa bioaktif yang dominan dalam ekstrak.

Penelitian ini memiliki keterbatasan dalam karakterisasi senyawa bioaktif beras hitam. Meskipun beras hitam diketahui mengandung flavonoid yang berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan, kadar flavonoid total tidak ditetapkan dalam penelitian ini. Hal tersebut karena penelitian difokuskan pada analisis antosianin sebagai senyawa bioaktif utama yang menjadi karakteristik khas beras hitam, serta polifenol total sebagai parameter pendukung. Oleh karena itu, kontribusi spesifik flavonoid terhadap aktivitas antioksidan beras hitam belum dapat dievaluasi secara menyeluruh. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan penetapan kadar flavonoid total guna memperoleh karakterisasi senyawa bioaktif yang lebih komprehensif.

Kesimpulan

Hasil analisis kadar menunjukkan bahwa ekstrak beras hitam mengandung antosianin total $0,802 \pm 0,009$ mg/g dan polifenol total $7,798 \pm 0,178$ mg GAE, sedangkan ekstrak kacang hijau mengandung polifenol total $15,113 \pm 0,396$ mg GAE/g dan flavonoid total $11,052 \pm 0,243$ mg QE/g. Aktivitas antioksidan menggunakan DPPH menunjukkan nilai IC_{50} beras hitam $76,692 \pm 2,250$ ppm dan kacang hijau $102,130 \pm 2,268$ ppm, yang menandakan beras hitam memiliki potensi antioksidan lebih tinggi dibandingkan kacang hijau. Temuan ini mengindikasikan bahwa beras hitam berpotensi lebih besar untuk dikembangkan sebagai bahan baku sumber antioksidan alami, misalnya dalam formulasi pangan fungsional atau suplemen kesehatan. Sementara itu, kacang hijau tetap berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber polifenol dan flavonoid pada pengembangan produk pangan fungsional.

Conflict of Interest

Penelitian ini dilaksanakan secara mandiri dan objektif tanpa adanya konflik kepentingan maupun pengaruh eksternal yang dapat memengaruhi validitas dan integritas hasil penelitian.

Acknowledgment

Pelaksanaan penelitian ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Ahmad Dahlan atas bantuan dan fasilitasi yang diberikan selama pelaksanaan penelitian.

Referensi

- [1] Yuslianti ER. Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan. Yogyakarta: Deepublish; 2018.
- [2] Nainggolan RM, Rahayu MP, Rejeki ES, Total F, Daun F. Uji Aktivitas Antioksidan, Kadar Flavonoid, dan Fenolik Total Ekstrak dan Fraksi Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) 2024;10:397–410.
- [3] Wulansari AN. Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami: Review. Farmaka 2018;16:419–29.
- [4] Das M, Dash U, Mahanand SS, Nayak PK, Kesavan RK. Black rice: A comprehensive review on its bioactive compounds, potential health benefits and food applications. Food Chem Adv 2023;3:100462. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100462>.
- [5] Zahroh F, Agustini R. Determination Of The Total Anthocyanins Content In Yeast Black Rice (*Oryza sativa* L.) Using pH Differential Method. vol. 10. 2021.
- [6] Ghasemzadeh A, Karbalaii MT, Jaafar HZE, Rahmat A. Phytochemical constituents, antioxidant activity, and antiproliferative properties of black, red, and brown rice bran. Chem Cent J 2018;12:1–13.

<https://doi.org/10.1186/s13065-018-0382-9>.

- [7] Hou D, Yousaf L, Xue Y, Hu J, Wu J, Hu X, et al. Mung bean (*Vigna radiata* L.): Bioactive polyphenols, polysaccharides, peptides, and health benefits. *Nutrients* 2019;11:1–28. <https://doi.org/10.3390/nu11061238>.
- [8] Suryani S, Amalia R, Fajriati JR, Febrianto YE, Aziizah RN, Kahla MG, et al. Aktivitas Antioksidan Dan Inhibitor Nitrit Oksida Ekstrak Etanol Kulit Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.). *Kartika J Ilm Farm* 2023;8:109–19. <https://doi.org/10.26874/kjif.v8i2.712>.
- [9] Fakhruddin N, Kurniailla NA, Fatimah KN. Potensi Antioksidan Biji dan Daun Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) dan Studi Korelasinya Dengan Kadar Flavonoid Total. *J Penelit Pascapanen Pertan* 2020;17:48. <https://doi.org/10.21082/jpasca.v17n1.2020.48-58>.
- [10] Pasaribu SF, Wiboworini B, Kartikasari LR. Analisis Antosianin dan Flavonoid Ekstrak Kecambah Beras Hitam. *J Dunia Gizi* 2021;4:08–14. <https://doi.org/10.33085/jdg.v4i1.4852>.
- [11] Tullah TV, Yanti EF, Nuri. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kacang kedelai Kuning (*Glycine max* L.) Dengan Metode DPPH. *J Ilm Farm Akad Farm* 2023;6:31–9.
- [12] Pine ATD, Basir H, Anwar M. Uji Parameter Spesifik Dan Nonspesifik Ekstrak Etanol Daun Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.). *J Kesehat Yamasi Makassar* 2023;7:1–9. <https://doi.org/10.59060/jurkes.v7i1.250>.
- [13] Anggraeni VJ, Ramdanawati L, Ayuantika W. Determination Total Antocyanin in Brown Rice (*Oryza nivara*). *J Kartika Kim* 2018;1:11–6. <https://doi.org/10.26874/jkk.v1i1.11>.
- [14] Kementerian Kesehatan RI. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II, Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2017.
- [15] Amalia A, Kusumawinahyu R, Rohenti IR. Studi Potensi Sifat Anti-Aging Ekstrak Kedelai Hitam (*Glycine max* (L.) Merrill) Varietas Detam 1 melalui Uji Antioksidan. *War Akab* 2021;45:43–50. <https://doi.org/10.55075/wa.v45i2.29>.
- [16] Hetharia GE, Brianiannita A, Astuti M, Marsono Y. Antioxidant extraction based on black rice (*Oryza Sativa* L. *Indica*) to prevent free radical. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng* 2020;823. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/823/1/012002>.
- [17] Salim R. Uji Aktivitas Antioksidan Infusa Daun Ungu Dengan Metode DPPH (1,1- diphenil- 2- picrylhidrazil). *J Katalisator* 2018;3:153. <https://doi.org/10.22216/jk.v3i2.3372>.
- [18] Kusbandari A, Prasetyo DY, Susanti H. Penetapan Kadar Fenolik Total Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kopi Kawa Dengan Metode Dpph. *Media Farm J Ilmu Farm* 2018;15:72. <https://doi.org/10.12928/mf.v15i2.12658>.
- [19] Rahimah H, Hasan R. Determination Of Vitamin C Content Of Ethanol Extract Of Green Bean (*Phaseolus radiatus* L.) Using Spectrophotometry UV-Vis 2023;12:326–9.
- [20] Andriani D, Murtisiwi L. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH. *Pharmacon J Farm Indones* 2020;17:70–6. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v17i1.9245>.
- [21] Khairi N, Hapiwaty S, Yusuf S, Indrisari M. Pengukuran Parameter Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Beras Hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) Asal Toraja. *J Katalisator* 2023;8:464–78.
- [22] Sayakti PI, Hidayatullah M. Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etil Asetat Buah Okra Hijau (*Abelmoschus esculentus* L.). *J Islam Pharm* 2023;8:56–61. <https://doi.org/10.18860/jip.v8i2.21066>.
- [23] Ayun Q, Khomsiyah, Ajeng A. Pengaruh pH Larutan Terhadap Kestabilan Warna Senyawa Antosianin yang Terdapat Pada Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylocereus costaricensis*). *J Cryst Publ Penelit Kim Dan Ter* 2022;4:1–6. <https://doi.org/10.36526/jc.v4i1.2090>.
- [24] Yumas M, Loppies JE, Sampe Barra AL. Stabilitas Dan Efektivitas Antioksidan Zat Warna Antosianin Tepung Kakao Tanpa Fermentasi (*Theobroma cacao* L) Secara In Vivo. *J Ind Has Perkeb* 2020;15:61–73. <https://doi.org/10.33104/jihp.v15i1.6124>.
- [25] Richart JE, Salempa P, Faika S. Analisis Kadar Antosianin pada Daun Miana (*Lamiaceae*). *J Chem* 2023;24:40–52.
- [26] Herlina, Mulyani E, Anlika R. Analisa Antosianin Pada Sediaan Minuman Effervescent Sari Bunga Telang (*Clitoria ternatea*) dan Jeruk Rimau Gerga Lebong (*Citrus nobilis* sp.) Menggunakan Metode pH Diferensial. *J Insa Farm Indones* 2023;6:211–21. <https://doi.org/10.36387/jifi.v6i2.1653>.
- [27] Sari AK, Ayuhecacia N. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L) dari Kalimantan Selatan. *J Ilm Ibnu Sina* 2017;2:327–35.
- [28] Sitorus FCE, Wulansari ED, Sulistyarini I. Uji Kandungan Fenolik Total Dan Aktivitas Antibakteri

- Ekstrak Kulit Buah Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* (Griff.) Burret) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Media Farm Indones* 2020;15:1617–24.
- [29] Nofita D, Sari SN, Mardiah H. Penentuan Fenolik Total dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata* J.R& G.Forst) secara Spektrofotometri. *Chim Nat Acta* 2020;8:36. <https://doi.org/10.24198/cna.v8.n1.26600>.
- [30] Furi M, Meldayanti, Octaviani M. Penentuan Kadar Total Fenolik dan Flavonoid Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Terap (*Artocarpus odoratissimus* Blanco). *J Penelit Farm Indones* 2024;13:57–64. <https://doi.org/10.51887/jpfi.v13i1.1765>.
- [31] Ramadhan H, Rezky DP, Susiani EF. Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman). *J Farm Dan Ilmu Kefarmasian Indones* 2021;8:58. <https://doi.org/10.20473/jfiki.v8i12021.58-67>.
- [32] Dewi SR, Argo BD, Ulya N. Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Tek Pertan* 2018;11:1–10. <https://doi.org/10.17969/rtp.v11i1.9571>.
- [33] Candra LMM, Andayani Y, Wirasisya DG. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Pijar Mipa* 2021;16:397–405. <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i3.2308>.
- [34] Vifta RL, Shutiawan MA, Maulidya A, Yuswantina R. Skrining Flavonoid Ekstrak Bauh Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Asal Kabupaten Kudus dan Semarang dengan Pembanding Kuersetin dan Rutin. *Media Inf Penelit Kabupaten Semarang* 2021;4:3–13. <https://doi.org/10.55606/sinov.v4i1.57>.
- [35] Astuti P, Rohama R, Budi S. Profil Kromatografi Dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Fraksi N-Heksan Daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *J Pharm Care Sci* 2023;3:30–41. <https://doi.org/10.33859/jpcs.v3i2.237>.
- [36] Situmeang B, Muamaliyah E, Yulianti N, Kilo AK. Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana dan Etil Asetat Daun Sirih Kuning (*Piper betle*). *J Med Sains [J-MedSains]* 2023;3:12–20. <https://doi.org/10.30653/medsains.v3i1.487>.
- [37] Setiawan F, Yunita O, Kurniawan A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharm Indones* 2018;2:82–9.
- [38] Hasan H, Ain Thomas N, Hiola F, Nuzul Ramadhani F, Ibrahim AS. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH). *Indones J Pharm Educ* 2022;2:67–73. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v2i1.10995>.
- [39] Siskawati, Haeruddin, Nurlansi. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Melalui Ekstraksi Maserasi. *Sains J Kim Dan Pendidik Kim* 2023;12:1–9. <https://doi.org/10.36709/sains.v12i1.26>.
- [40] Rahmatia L, Nasrudin, Nurlansi. Fitokimia dan Aktivitas Antiradikal DPPH Seduhan Daun Salam (*Zsyzgium polyanthum* Wight.). *J Ilmu Kim Dan Pendidik Kim* 2022;11:52–61.
- [41] Pratiwi A., Yusran, Islawati, Artati. Analisis Kadar Antioksidan pada Ekstrak Daun Binahong Hijau *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *Bioma J Biol Makassar* 2023;8:66–74.
- [42] Manao M, Karo RMB, Razoki R. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Fraksi Etil Asetat Ekstrak Metanol Daun Kerai Payung (*Filicium decipiens*). *Jambura J Heal* 2024;306–18.
- [43] Kunnaryo HJB, Wikandari PR. Antosianin dalam Produksi Fermentasi dan Perannya sebagai Antioksidan. vol. 10. 2021.
- [44] Sadowska-bartosz I, Bartosz G. Antioxidant Activity of Anthocyanins and Anthocyanidins : A Critical Review. *Int J Mol Sci* 2024;25:1–28.