

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ANTOSIANIN BERAS KETAN HITAM SELAMA FERMENTASI

[Antioxidant Activity of Anthocyanin of Black Glutinous Rice During Fermentation]

Nanik Suhartatik^{1)*}, Muhammad Nur Cahyanto²⁾, Sri Raharjo²⁾ dan Endang S. Rahayu²⁾

¹⁾Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Slamet Riyadi Surakarta, Surakarta

²⁾Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta

Diterima 07 November 2012 / Disetujui 22 Juli 2013

ABSTRACT

Anthocyanin is a group of bioactive compound found to be abundant in black glutinous rice. It has been widely studied for their health beneficial effect. Hydrolysis of anthocyanin glycoside into anthocyanidin and sugar by β ,D-glucosidase is presumed to be the first step in anthocyanin metabolism. Enzymatic degradation of anthocyanin was reported to produce not only more stable compounds, but also healthier compounds with better bioavailability. Some species of Lactic Acid Bacteria showed β ,D-glucosidase activity. The research aims to study the functional property's change's of anthocyanin extracted from black glutinous rice as an antioxidant compound after being fermented using *Lactobacillus plantarum* Mut 7. The results showed that fermentation process did not give a significant effect to the antioxidant activity of black glutinous rice anthocyanin. The antioxidant activity as determined by Radical Scavenging Activity and Ferrous Reducing Activity Power value were 59.2% (6 hours of incubation, 30 mM anthocyanin) and 96.7% (5 hours of incubation, 10 mM anthocyanin). The lactic acid bacterial count increased up to 2 log cycle after being fermented for 5 hours.

Keywords: anthocyanin, antioxidant, black glutinous rice, *L. plantarum* Mut 7

ABSTRAK

Antosianin merupakan kelompok komponen bioaktif yang banyak ditemukan pada beras ketan hitam. Komponen ini banyak dipelajari karena efeknya yang menguntungkan bagi kesehatan. Hidrolisis antosianin menjadi antosianidin dan gula oleh enzim β ,D-glukosidase diduga merupakan langkah awal dalam metabolisme antosianin. Degradasi enzimatik antosianin dilaporkan tidak hanya dapat menghasilkan komponen yang lebih stabil, akan tetapi juga komponen yang lebih menyehatkan dan menjadi lebih tersedia bagi tubuh. Beberapa spesies bakteri asam laktat menunjukkan adanya aktivitas enzim ini. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari perubahan antosianin sebagai senyawa antioksidan terutama sifat fungsionalnya, setelah mengalami fermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum* Mut 7. Hasil menunjukkan bahwa proses fermentasi tidak memberikan efek yang signifikan terhadap aktivitas antioksidan antosianin beras ketan hitam. Aktivitas antioksidan yang diukur berdasarkan kemampuannya untuk menangkap radikal bebas dan kemampuan menangkap ion Fe memberikan hasil 59.2% RSA (Radical Scavenging Activity) setelah diinkubasi selama 6 jam (kadar antosianin setara dengan 30 mM) dan FRAP (Ferrous Radical Activity Power) value 96.7% (5 jam inkubasi dan 10 mM antosianin). Jumlah sel bakteri asam laktat mengalami peningkatan sebanyak 2 siklus log setelah diinkubasi selama 5 jam.

Kata kunci: antioksidan, antosianin, beras ketan hitam, *L. plantarum* Mut 7

PENDAHULUAN

Antosianin termasuk dalam golongan flavonoid, satu golongan polifenol yang berperan dalam pangan karena efek biologisnya dan berada dalam bentuk glikosida atau terikat dengan komponen gula (mono, di, atau triglikosida dengan ikatan α atau β). Komponen gula yang biasanya dijumpai adalah glukosa, galaktosa, ramnosa, arabinosa, dan xilosa (Avila *et al.* 2009). Antosianin merupakan pigmen alami yang terdapat dalam buah, sayuran, atau sereal yang berwarna merah, biru, ungu hingga kehitaman. Senyawa ini merupakan turunan dari polyhydroxy atau polymethoxy dari 2-phenyl-benzopyrilum. Salah satu sumber antosianin yang juga merupakan salah satu kekayaan alam di Indonesia selain buah dan sayuran adalah beras (*Oryza sativa*). Saat ini telah dikenal

beberapa jenis beras yang kaya akan antosianin, seperti beras hitam, beras merah, beras ketan hitam (*Oryza sativa* L. cv Kam Doi Saked), dan lain-lain (Perera dan Jansz, 2000; Itani dan Ogawa, 2004). Beras ketan hitam memiliki sifat yang berbeda dengan beras hitam karena kandungan amilopektinnya yang lebih tinggi daripada beras hitam (Deepa *et al.* 2008). Komponen antosianin utama yang terdapat pada beras hitam (*Oryza sativa* L.) adalah sianidin-3-glikosida dan peonidin-3-glikosida (Hu *et al.* 2003; Abdel-Aal *et al.* 2006; Zawistowski *et al.* 2009). Berbeda dengan hasil yang ditunjukkan sebelumnya, Hiemori *et al.* (2009), mengidentifikasi adanya antosianin jenis lain pada beras hitam (*Oryza sativa* L. japonicavar SBR) yaitu sianidin diheksosida (dalam 3 isomer yang berbeda) dan satu jenis sianidin heksosida selain sianidin-3-glukosida dan peonidin-3-glukosida.

Beras ketan hitam biasanya dikonsumsi dalam bentuk olahan. Namun beberapa hasil penelitian telah mengembangkan minuman isotonik yang terbuat dari ekstrak antosianin

*Korespondensi Penulis:
Email : n_suhartatik@yahoo.com; Telp: 081328757776

(Narwidina, 2009). Antosianin mempunyai efek yang menguntungkan bagi tubuh, seperti perlindungan terhadap penyakit kardiovaskuler, diabetes militus, antiinflamasi, antikanker dan antioksidan (Bagchi *et al.* 2004; Kano *et al.* 2005; Wang dan Stoner, 2009). Kemampuan beras berwarna sebagai pangan fungsional berkaitan erat dengan adsorpsi dan bioavailabilitas-nya di dalam tubuh.

Kelompok pigmen ini (antosianin) diabsorpsi oleh tubuh dengan jumlah yang sangat sedikit daripada jenis flavonoid yang lain (Manach *et al.* 2005). Reaksi hidrolisis diduga merupakan langkah awal dari jalur degradasi antosianin atau pembentukan metabolit lain. Studi secara *in vitro* menunjukkan bahwa deglikosidasi antosianin monoglukosida dan diglukosida oleh mikrobiota intestin terjadi 20 menit setelah konsumsi hingga 2 jam, tergantung pada struktur kimianya (Aura *et al.* 2005; Keppler dan Humpf, 2005).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Avila *et al.* (2009), menunjukkan bahwa beberapa sub spesies bakteri asam laktat menunjukkan adanya aktivitas enzim β -glukosidase. Adapun strain yang diuji dalam penelitian tersebut adalah *L. plantarum* IFPL711, IFPL715, IFPL722, IFPL724, IFPL935, dan dari spesies *L. casei* terdapat dua strain yang positif mempunyai aktivitas enzim β -glukosidase, yaitu *L. casei* LC-01 dan *L. casei* IFPL7190. *Lactobacillus plantarum* Mut 7 adalah bakteri asam laktat koleksi FNCC (*Food and Nutrition Culture Collection*) yang diisolasi dari makanan fermentasi growol. Bakteri ini telah diuji kemampuannya untuk memperbaiki proses fermentasi makanan dan produk-produk makanan fermentasi. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mempelajari peran bakteri asam laktat indigenous dalam mendegradasi antosianin beras ketan hitam selama fermentasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Beras ketan hitam yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Balai Penelitian Padi Sukamandi Jawa Barat varietas *Setail*. Padi/beras yang digunakan adalah padi pecah kulit. Beras ketan hitam disimpan pada suhu -4°C sampai dipergunakan untuk eksperimen. Perlakuan penggilingan beras ketan hitam menjadi tepung, dilakukan dengan alat giling tepung kemudian diayak dengan ayakan ukuran 60 mesh.

Penyiapan ekstrak antosianin beras ketan hitam

Ekstrak antosianin beras ketan hitam dibuat dengan cara merendam 20 g bubuk beras ketan hitam ke dalam 400 ml metanol 70% asam (dilakukan dengan penambahan 1% HClp) selama 1 jam. Setelah direndam selama 1 jam, ekstrak disaring menggunakan kertas saring kasar. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan (vakum) pada 60 rpm selama 1.5 jam. Filtrat pekat kemudian diukur kandungan antosianinnya menggunakan metode dari Giusti dan Wrosted (2001) dan dibuat seri pengenceran sehingga mengandung antosianin setara dengan 10 mM, 20 mM, dan 30 mM antosianin.

Penyiapan medium

Media yang digunakan dalam pengujian ini adalah medium MRS broth (*deMann Rogosa Sharp*) tanpa gula dan yeast

ekstrak. Setiap 1 liter medium yang digunakan mengandung: *Protease peptone* No. 3 sebanyak 1%; *Beef Extract* 1%; *Yeast Extract* 0.5%; *Polysorbate 80* 0.1%; *Ammonium Citrate* 0.2%; Na asetat 0.5%; Magnesium Sulfat 0.01%; Mn Sulfat 0.005%; dan *Dipotassium phosphate* 0.2%. Sterilisasi medium dilakukan menggunakan autoklaf (Hirayama, HL-Clave 25) pada suhu 121°C selama 15 menit. Dengan tidak adanya glukosa dalam medium, maka diharapkan bakteri asam laktat dipaksa untuk memotong ikatan glikosidik pada antosianin untuk menggunakan gula yang terikat pada struktur utama antosianin.

Penyiapan bakteri

Bakteri asam laktat berumur 18 jam sebanyak 10^9 sel diinokulasikan ke dalam media fermentasi. Starter disiapkan dengan cara menginokulasikan 3-5 ose isolat dalam 5 ml media MRS broth dan diinkubasikan selama 18 jam. Massa sel kemudian dipanen dan dicuci menggunakan larutan isotonis sebanyak 2 kali. Pemisahan sel dan massa sel dilakukan dengan cara sentrifuse (Labofuge 200, Heraeus) pada 3000 rpm selama 15 menit. Sebanyak 2.5 mL bakteri yang mengandung 10^9 sel/mL kemudian ditambahkan pada 22.5 mL substrat fermentasi.

Kondisi fermentasi

Fermentasi dilakukan pada suhu 37°C selama 6 jam menggunakan erlenmeyer (ukuran 100 mL, pyrex) dan dilakukan pemantauan terhadap kadar fenol, aktivitas antioksidan (DPPH dan FRAP), kadar antosianin, dan jumlah sel pembentuk asam. Pemantauan terhadap parameter-parameter tersebut dilakukan pada menit ke 0 dan 30, jam ke-1, 2, 4, 5, dan ke-6. Proses fermentasi dihentikan dengan cara menempatkan sampel ke dalam freezer suhu -4°C .

Analisis kadar fenol menggunakan metode Singleton dan Rossi (1965) yang dimodifikasi sesuai dengan jenis sampelnya, yaitu dilakukan dengan cara menambahkan 200 μL sampel (medium fermentasi) dengan 1.8 mL 0.2 N larutan Folin Ciocalteu dan 1.8 mL 60 g/L Na_2CO_3 pada suhu kamar. Sebelum ditera pada λ 760 nm (Shimadzu UV-1601), campuran divorteks terlebih dahulu dan didiamkan pada suhu kamar selama 1.5 jam. Kadar fenol dinyatakan dalam mg asam galat/100 mL sampel dengan menggunakan asam galat sebagai larutan standar dengan perlakuan analisis yang sama (Qiu *et al.* 2010).

Aktivitas antioksidan (DPPH) ditentukan dengan mencampur 0.2 mL sampel (medium fermentasi) dengan 3.8 mL larutan 1 mM DPPH (dalam metanol) dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu kamar serta kondisi gelap (Li *et al.* 2007). Peneraan dilakukan pada panjang gelombang 515 nm. Blanko dibuat dengan menggantikan sampel dengan aquades dengan volume yang sama. Persentase penangkapan radikal bebas dinyatakan dalam persentase penghambatan radikal bebas DPPH.

$$\% \text{ Penghambatan DPPH} = \frac{\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Analisis aktivitas antioksidan berdasarkan kemampuan untuk menangkap logam Fe (*FRAP value*) sesuai dengan

metode yang telah dikemukakan oleh Wang *et al.* (2009). Analisis dilakukan dengan cara mencampur 1 mL sampel dengan 0.05 mL 2 mM FeCl₂, 0.2 mL 5 mM ferrozine, dan 2.75 mL aquades. Setelah divorteks, didiamkan selama 10 menit pada kondisi gelap, campuran kemudian ditera pada λ 562 nm. Kemampuan antioksidan dinyatakan dalam persentase FRAP, dengan aquades sebagai blanko dan EDTA sebagai kontrol positif.

$$\%FRAP \text{ value} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan: A₀ adalah absorbansi kontrol positif, A₁ adalah absorbansi sampel, dan A₂ adalah absorbansi blanko.

Analisis kadar antosianin (Giusti dan Wrosted, 2001) dilakukan dengan cara membandingkan absorbansi sampel pada panjang gelombang 700 nm dan 512 nm pada pH 1 dan pH 4.5. Penghitungan jumlah bakteri pembentuk asam dilakukan dengan menanam sampel dengan seri pengenceran tertentu pada media MRS (deMann Rogosa Sharp, Oxoid, USA) yang ditambah dengan 1% CaCO₃ dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 menunjukkan perubahan total fenol cairan fermentasi setelah diinkubasi selama 6 jam. Hasil analisis kadar fenol pada Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar fenol dalam cairan fermentasi awal, akan memberikan hasil beda nyata untuk masing-masing perlakuan. Pada kadar antosianin 20 mM terjadi peningkatan kadar fenol yang sangat tinggi, yaitu pada jam ke-5, mencapai 58 mg asam galat/100 mL.

Tabel 1. Total fenol cairan fermentasi (mg asam galat/100 mL) dengan kadar antosianin 10, 20, dan 30 mM antosianin beras ketan hitam

Waktu Inkubasi (Jam)	mg Asam galat/100 mL Medium pada Konsentrasi Antosianin Beras Ketan Hitam		
	10	20	30
0	23.75 ± 0.042 ^o	12.86 ± 0.071 ^d	20.66 ± 0.071 ^k
0.5	21.69 ± 0.177 ^m	17.79 ± 0.085 ⁱ	39.43 ± 0.028 ^g
1	28.45 ± 0.057 ⁿ	16.00 ± 0.099 ^h	21.53 ± 0.177 ^m
2	21.16 ± 0.219 ⁱ	10.91 ± 0.042 ^c	14.59 ± 0.085 ^f
4	23.21 ± 0.057 ⁿ	26.56 ± 0.099 ^p	13.94 ± 0.085 ^e
5	15.10 ± 0.087 ^g	58.06 ± 0.071 ^r	13.99 ± 0.099 ^e
6	17.31 ± 0.057 ⁱ	6.49 ± 0.099 ^a	8.91 ± 0.057 ^b

Keterangan: Angka yang diikuti notasi huruf yang tidak sama berarti berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%

Aktivitas antioksidan (radical /DPPH scavenging activity, %) cairan hasil fermentasi menunjukkan (Tabel 2) bahwa tidak ada perubahan yang signifikan setelah antosianin mengalami fermentasi selama 6 jam. Hasil tertinggi dijumpai pada sampel cairan fermentasi pada kadar antosianin awal 30 mM dan setelah difermentasi selama 6 jam, yaitu 59.2%. Dari hasil pengujian, terlihat bahwa aktivitas antioksidan cairan fermentasi tidak banyak mengalami perubahan. Komponen antioksidan yang berada bersamaan dalam satu sistem, dapat bersifat

sinergik, antagonik, atau bahkan bisa saling tidak berpengaruh. Meskipun tidak terjadi perubahan aktivitas antioksidan yang signifikan dan dengan adanya indikasi terhadap perubahan kadar antosianin selama fermentasi, maka diduga terjadi degradasi antosianin menjadi komponen lain yang lebih sederhana dengan interaksinya masing-masing. Sehingga akan menghasilkan aktivitas antioksidan yang cenderung tidak berubah selama fermentasi.

Tabel 2. DPPH scavenging activity (%) antosianin beras ketan hitam setelah difermentasi menggunakan *L. plantarum* Mut 7

Waktu Inkubasi (Jam)	%RSA Cairan Fermentasi pada Konsentrasi Antosianin Beras Ketan Hitam		
	10 mM	20 mM	30 mM
0	57.5 ^{bc}	51.0 ^{abc}	53.6 ^{abc}
0.5	51.9 ^{abc}	46.9 ^{ab}	57.8 ^{bc}
1	49.5 ^{abc}	49.8 ^{abc}	56.8 ^{abc}
2	53.00 ^{abc}	52.1 ^{abc}	50.8 ^{abc}
4	49.6 ^{abc}	54.9 ^{abc}	53.8 ^{abc}
5	45.6 ^a	47.2 ^{ab}	48.6 ^{abc}
6	56.6 ^{abc}	58.6 ^{bc}	59.2 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti notasi huruf yang tidak sama berarti berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%

Pada pengujian aktivitas antioksidan beras berwarna untuk beberapa varietas yang dimiliki Negara Thailand, Sri Lanka, dan China, diperoleh hasil bahwa warna beras tidak mempunyai hubungan yang signifikan dengan besarnya aktivitas antioksidan beras (*Ferric Reducing Antioxidant Power*, FRAP). Suatu bahan yang mempunyai warna ungu lebih gelap, akan mempunyai kadar antosianin yang lebih tinggi pula. Pengujian yang menggunakan beras merah dan beras hitam (dengan beberapa varietas) ini melaporkan bahwa aktivitas antioksidan terbesar dimiliki oleh beras merah Bahng Gawk (BG) dengan nilai FRAP mencapai 8.08 mmol Fe (II)/100 g. Sedangkan beras hitam varietas Niaw Dam Pleuak Khao hanya selisih sedikit dengan nilai FRAP 7.58 mmol Fe (II)/100 g (Sompong *et al.* 2011).

Kemampuan untuk mereduksi ion logam (disajikan dalam nilai FRAP, Tabel 3) juga secara umum tidak mengalami penurunan selama fermentasi menggunakan *L. plantarum* Mut 7. Satu hal yang perlu diperhatikan adalah bahwa pada masing-masing kadar antosianin yang berbeda, terdapat pola perubahan kemampuan penangkapan ion logam yang sama. Pada jam ke-5 inkubasi, terdapat kenaikan angka FRAP untuk semua jenis perlakuan dan terdapat penurunan kemampuan untuk menangkap ion logam setelah difermentasi selama 2 jam. Dilihat dari jumlah sel bakteri pembentuk asam selama inkubasi, jumlah sel cenderung mengalami kenaikan sebanyak 2 log cycle untuk semua jenis perlakuan (Gambar 1). Masing-masing perlakuan juga menunjukkan pola perubahan jumlah sel yang sama. Terdapat kenaikan jumlah sel pada jam kedua setelah sebelumnya sempat turun. Medium yang digunakan adalah medium MRS tanpa glukosa yang ditambahkan dengan ekstrak antosianin beras ketan hitam sesuai dengan perlakuan.

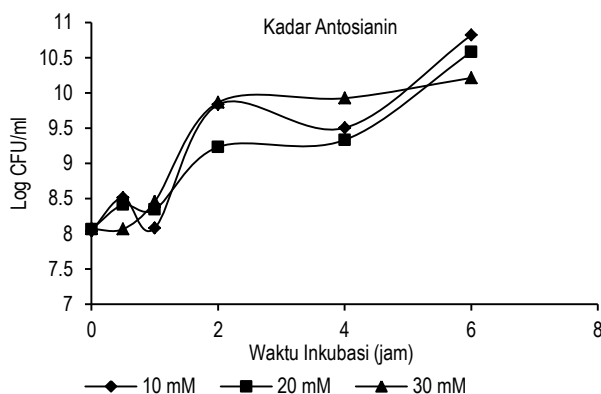
Antosianin merupakan suatu glikosida dan dengan bantuan bakteri *L. plantarum* Mut 7 maka glikosida ini akan terhidrolisis menjadi gula dan aglikonnya. Gula dari antosianin inilah yang akan digunakan sebagai sumber karbon oleh bakteri. Melalui

proses hidrolisis sempurna, 10 mM antosianin akan dihasilkan 10 mM glukosa untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Karena dalam medium tidak tersedia gula sederhana (*available sugar*), maka *L. plantarum* Mut 7 dipaksa untuk memotong glikosida antosianin dan menggunakan gula yang terikat pada struktur utama. Sesuai dengan hasil pengujian aktivitas antioksidan yang telah dibahas sebelumnya, jelaslah bahwa pertumbuhan bakteri asam laktat tidak banyak merubah aktivitas antioksidan (FRAP dan DPPH *scavenging activity*). Setelah difermentasi selama 1 jam, terlihat bahwa jumlah sel mengalami penurunan. Diduga pada tahapan ini telah terjadi adaptasi oleh sel dan akan mengalami peningkatan jumlah sel setelah 1 jam kemudian. Jumlah sel awal dibuat pada konsentrasi relatif tinggi, yaitu 10^8 CFU/mL. Pada percobaan dengan konsentrasi sel awal yang lebih rendah (10^6 CFU/mL), sel mengalami kematian sedangkan pada percobaan menggunakan sel awal 10^7 CFU/mL, tingkat keberhasilan proses fermentasi yang ditunjukkan oleh peningkatan jumlah sel, relatif rendah.

Tabel 3. Nilai FRAP (%) cairan hasil fermentasi ekstrak beras ketan hitam setelah difermentasi menggunakan *L. plantarum* Mut 7

Waktu Inkubasi (Jam)	Ferric Reducing Antioxidant Power (%)		
	10 mM	20 mM	30 mM
0	89.1 ^{fg}	84.1 ^{bode}	81.9 ^{abc}
0.5	83.6 ^{bcd}	81.8 ^{abc}	82.8 ^{abc}
1	83.9 ^{bcd}	82.5 ^{abc}	82.2 ^{abc}
2	79.4 ^{ab}	80.9 ^{abc}	78.1 ^a
4	87.9 ^{defg}	85.7 ^{cdef}	85.8 ^{cdef}
5	96.7 ^h	88.9 ^{efg}	91.8 ^g
6	88.0 ^{defg}	85.1 ^{cdef}	85.8 ^{cdef}

Keterangan: Angka yang diikuti notasi huruf yang tidak sama berarti berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%



Gambar 1. Jumlah bakteri pembentuk asam pada media ekstrak beras ketan hitam (setara 10, 20, 30 mM antosianin)

Menurut Avila *et al.* (2009), aglikon akan difermentasi menjadi asam galat, asam homogentisat, asam p-kumarat, asam sinapat, *DMP propionic acid*, dan asam siringat serta senyawa lain yang tidak teridentifikasi oleh bakteri (dalam bentuk *single culture*) *Bifidobacterium lactis* BB-12, *Lactobacillus plantarum* IFPL722, *L. casei* LC-01, *L. acidophilus* LA-5 dengan substrat malvidin-3-glukosida. Bakteri-bakteri ini juga menunjukkan adanya aktivitas enzim β -glukosidase. Enzim β -glukosidase merupakan enzim yang terperangkap di dalam

dinding sel dan namun ada juga yang mempunyai aktivitas ekstra seluler.

Selain asam protokatekoat, metabolit lain yang mempunyai efek menguntungkan adalah asam galat. Adanya aktivitas enzim β -glukosidase dari bakteri asam laktat juga banyak dikembangkan untuk makanan atau minuman fermentasi berbasis kedelai. Kandungan glikosida yang terdapat dalam kedelai adalah isoflavon, yang akan dihidrolisis oleh enzim β -glukosidase menjadi bentuk aglikonnya, yaitu daidzein dan genistein. Bentuk aglikon ini mempunyai nilai cerna dan bioaktivitas yang lebih baik daripada bentuk glikosidanya (genistin dan daidzin). Adapun strain bakteri asam laktat yang dikembangkan dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus plantarum* KFR1 00144 dan *L. delbrueckii* subsp. *Lactis* KFR1 01181 (Pyo *et al.* 2005).

KESIMPULAN

Lactobacillus plantarum Mut 7 dapat tumbuh pada medium fermentasi yang dimodifikasi dengan penambahan antosianin dari beras ketan hitam. Aktivitas antioksidan beras ketan hitam tidak banyak mengalami perubahan setelah difermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum* Mut 7. Aktivitas antioksidan mencapai 59.2% DPPH *scavenging activity* setelah 6 jam inkubasi pada medium fermentasi yang mengandung antosianin awal setara 30 mM dan nilai FRAP 96.7% pada sampel yang telah difermentasi selama 5 jam pada medium fermentasi dengan konsentrasi antosianin awal setara 10 mM. Inkubasi dengan jumlah sel akhir mencapai 10.21-10.82 log CFU/mL. Fermentasi menggunakan *L. plantarum* Mut 7 tidak memberikan pengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan medium pertumbuhan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh Program IMHERE 2011 Fakultas Biologi UGM Yogyakarta.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Aal EM, Young JC, Rabalski I. 2006. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *J Agr Food Chem* 54: 4696-4704. DOI: [10.1021/jf0606609](https://doi.org/10.1021/jf0606609).
- Aura AM, Lopez PM, O'Leary KA, Williamson G, Caldenty KMO, Poutanen K, Buelga CS. 2005. *In vitro* metabolism of anthocyanins by human gut microflora. *Eur J Nutr* 44: 133-142. DOI: [10.1007/s00394-004-0502-2](https://doi.org/10.1007/s00394-004-0502-2).
- Avila M, Hidalgo M, Moreno CS, Pelaez C, Requena T, de-Pascual Teresa S. 2009. Bioconversion of anthocyanin glycosides by *Bifidobacteria* and *Lactobacillus*. *Food Res Int* 42: 1453-1461. DOI: [10.1016/j.foodres.2009.07.026](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.026).
- Bagchi D, Sen CK, Bagchi M, Atalay M. 2004. Anti-angiogenic, antioxidant, and anticarcinogenic properties of a novel

- anthocyanin-rich berry extract formula. *Biochemistry-US* 69: 75-80.
- Deepa G, Singh V, Naidu A. 2008. Nutrient composition and physicochemical properties of Indian medicinal rice-Njavara. *Food Chem* 106: 165-171. DOI: [10.1016/j.foodchem.2007.05.062](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.05.062).
- Giusti MM, Wrosted RE. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanin by UV-Visible Spectroscopy. In R.E. Wrosted TE, Acree EA, Dekker MH, Penner DS, Reid SJ, Schwartz CF, Shoemaker D, Smith PS (eds). *Handbook of Food Analytical Chemistry: Pigments, Colorants, Flavors, Texture, and Bioactive Food Components*. Hoboken. New Jersey. John Wiley Sons.
- Hiemori M, Koh E, Mitchell AE. 2009. Influence of cooking on anthocyanins in black rice (*Oryza sativa* L. *japonica* var. SBR). *J Agr Food Chem* 57: 1908-1914. DOI: [10.1021/jf803153z](https://doi.org/10.1021/jf803153z).
- Hu C, Zawistowski J, Ling WH, Kitts DD. 2003. Black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. *J Agr Food Chem* 51: 5271-5277. DOI: [10.1021/jf034466n](https://doi.org/10.1021/jf034466n).
- Itani T, Ogawa M. 2004. History and recent trends of red rice in Japan. *Jpn J Crop Sci* 73: 137-147.
- Kano M, Takayanagi T, Harada K, Makino K, Ishikawa F. 2005. Antioxidative activity of anthocyanins from purple sweet potato, *Ipomoea batatas* cultivar Ayamurasaki. *Biosci Biotechnol Biochem* 69: 979-988.
- Kepler K, Humpf HU. 2005. Metabolism of anthocyanins and their phenolic degradation products by the intestinal microflora. *Bioorgan Med Chem* 13: 5195-5205. DOI: [10.1016/j.bmc.2005.05.003](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2005.05.003).
- Li W, Pickard M, Beta T. 2007. Effect of thermal processing on antioxidant properties of purple wheat bran. *Food Chem* 104: 1080-1086. DOI: [10.1016/j.foodchem.2007.01.024](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.024).
- Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A, Remesy C. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 81: 230S-242S.
- Narwidina P. 2009. Pengembangan Minuman Isotonik Antosianin Beras Hitam (*Oryza sativa* L. *indica*) dan Efeknya terhadap Kebugaran dan Aktivitas Antioksidan pada Manusia Pasca Stress Fisik. A Case Control Study. [Tesis]. FTP UGM Yogyakarta.
- Perera AS, Jansz ER. 2000. Preliminary investigations on the red pigment in rice and its effect on glucose release from rice starch. *J Natn Sci Foundation Sri Lanka* 28: 185-192. DOI: [10.4038/jnsfsr.v28i3.2660](https://doi.org/10.4038/jnsfsr.v28i3.2660).
- Pyo YH, Lee TC, Lee YC. 2005. Enrichments of Bioactives Isoflavones in Soymilk Fermentation with β -glukosidase-producing-lactic acid bacteria. *Food Res Int* 38: 551-559. DOI: [10.1016/j.foodres.2004.11.008](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.11.008).
- Qiu Y, Liu Q, Beta T. 2010. Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolics acids. *Food Chem* 121: 140-147. DOI: [10.1016/j.foodchem.2009.12.021](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.021).
- Sompong R, Siebenhandl-Ehn S, Linsberger-Martin G, Berghofer E. 2011. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China, and Sri Lanka. *Food Chem* 124: 132-140. DOI: [10.1016/j.foodchem.2010.05.115](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.115).
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American J Enology Viticulture* 16: 144-158.
- Wang LS, Stoner GD. 2009. Anthocyanin and their role in cancer prevention. *Cancer Lett* 269: 281-290. DOI: [10.1016/j.canlet.2008.05.020](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2008.05.020).
- Wang T, Jonsdottir R, Olafsdottir G. 2009. Total phenolics compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chem* 116: 240-248. DOI: [10.1016/j.foodchem.2009.02.041](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.041).
- Zawistowski J, Kopec A, Kitts DD. 2009. Effect of a blackrice extracts (*Oryza sativa* L. *Indica*) on cholesterol level and plasma lipids parameters in Wistar Kyoto Rats. *J Func Food I*: 50-56. DOI: [10.1016/j.jff.2008.09.008](https://doi.org/10.1016/j.jff.2008.09.008).