

**PENGARUH *NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS* (NADES)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BEKATUL (*Oryza
sativa L.*)**

SKRIPSI

**Oleh:
WINDI AULIA SYAFIRA
NIM. 19630014**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**PENGARUH *NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS* (NADES)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BEKATUL (*Oryza
sativa* L.)**

SKRIPSI

**Oleh:
WINDI AULIA SYAFIRA
NIM. 19630014**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**PENGARUH *NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS* (NADES)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BEKATUL (*Oryza
sativa* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
WINDI AULIA SYAFIRA
NIM. 19630014

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 20 Desember 2023

Pembimbing I



Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Pembimbing II



Lulu'atul Hanfidatu Ulva, M.Sc
NIP. 19900906 202321 2 033

Mengetahui,
Ketua Program Studi



Rachmawan Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

**PENGARUH *NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS* (NADES)
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BEKATUL (*Oryza
sativa* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
WINDI AULIA SYAFIRA
NIM. 19630014

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 20 Desember 2023

Ketua Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

Anggota Penguji I : Fadilah Nor Laili Lutfia, M.Biotech
LB. 63033

Anggota Penguji II : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Anggota Penguji III : Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc
NIP. 19900906 202321 2 033

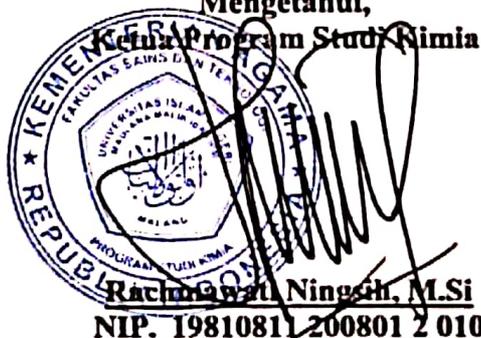
(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia


Rachmawati Ningthi, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Windi Aulia Syafira
NIM : 19630014
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bekatul (*Oryza sativa* L.)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 20 Desember 2023

nyataan,


Windi Aulia Syafira
NIM. 19630014

MOTTO

“ Teruslah tersenyum, karena hidup adalah hal yang indah dan ada banyak hal yang harus disyukuri ” – Marilyn Monroe

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil'alamin, dengan mengucapkan rasa syukur kepada Allah Swt. atas limpahan dan nikmatNya mengizinkan saya menyelesaikan satu tahap yang sangat berarti untuk saya. Skripsi ini saya persembahkan kepada:

Pertama, kedua orang tua saya, Ibu Sutiyowati dan Bapak Sarwi yang setiap saat senaniasa memberikan doa dan kasih sayang yang tidak ternilai sehingga penelitian dan skripsi saya dapat terselesaikan dengan baik. Ibu dan Bapak terimakasih banyak sudah mengusahakan banyak hal untuk anakmu ini, semoga selalu diberikan kesehatan, kebahagiaan, dan umur panjang agar dapat menemani setiap langkah perjalananku hingga sukses

Kedua, kepada keluarga besar saya yang selalu mendoakan dan memberikan semangat kepada saya selama masa perkuliahan ini.

Ketiga, kepada ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P selaku dosen pembimbing I dan ibu Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc selaku dosen pembimbing II yang selalu memberikan arahan, pembelajaran, dan dukungan kepada saya. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si dan Ibu Fadilah Nor Laili Lutfiah, M.Biotech selaku penguji, terimakasih telah memberikan arahan, saran, kritik, dan ilmunya. Semoga Allah Swt. membalas segala kebaikan dan bantuan dari Bapak/Ibu.

Keempat, kepada teman-teman saya yang sudah menghadirkan banyak momen indah dan sudah mau mendengarkan keluh kesah saya dan memberikan dukungan selama masa perkuliahan yakni Yarra Kartika Sari, Siti Nina Handayani, Ananda Amelia, Risma Hasna, Luwis Marta Della, Sulfani Arummidah, Jazilatur Rif'ah, Rindi Arifiani, Aidina Qurotul Aini, Novalia Wahyu Try S.P, dan Elvitra Rifanti. Semoga diberikan kelancaran oleh Allah Swt. dalam segala urusan.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Swt., Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat, hidayah, serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul **“PENGARUH *NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS* (NADES) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BEKATUL”** sebagai persyaratan dalam memenuhi syarat dalam memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si).

Dalam proses penulisan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bantuan, nasehat dan dukungan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis menyampaikan banyak terimakasih kepada semua orang yang terlibat dan berperan dalam menyelesaikan skripsi ini. Secara khusus penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. H. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Rachmawati Ningsih, M.Si, selaku ketua program studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Akyunul Jannah, M.Si, M.P, selaku dosen pembimbing yang senantiasa membimbing penulis dengan sabar sehingga skripsi ini selesai dengan baik.
5. Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc, selaku dosen pembimbing agama yang telah meluangkan waktu dan memberikan pengarahan.
6. Seluruh dosen dan laboran jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Orang tua saya beserta saudara dan keluarga besar, yang selalu memberi dukungan baik moril maupun material, teriring doa dan cinta selalu kepada penulis.
8. Seluruh teman kimia angkatan 2019 Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberi semangat dan dukungan hingga penyusunan skripsi ini selesai.

Penulis menyadari akan keterbatasan penulisan skripsi ini jauh dari kata sempurna, sehingga dengan sepenuh hati penulis membuka kritik dan saran guna perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan semoga skripsi ini memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Malang, 20 Desember 2023

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR PERSAMAAN.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
ملخص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Batasan Masalah.....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Tumbuhan dan Pemanfaatannya Dalam Perspektif Islam.....	8
2.2 Bekatul	9
2.3 Kandungan Senyawa pada Bekatul	10
2.4 Manfaat Bekatul	11
2.5 Pelarut <i>Natural Deep Eutectic Solvent</i> (NADES).....	12
2.5.1 Asam Sitrat	15
2.5.2 Sukrosa.....	16
2.5.3 Glukosa	18
2.5.4 Gliserol.....	19
2.6 Ekstraksi	21
2.6.1 Metode Ekstraksi dengan <i>Ultrasound Assisted Extraction</i> (UAE)	22
2.7 Antioksidan	23
2.8 Radikal Bebas.....	24
2.9 Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)	25
2.10 <i>Microplate Reader</i> (ELISA Reader)	28

BAB III METODOLOGI PENELITIAN	30
3.1 Waktu dan Tempat	30
3.2 Alat dan Bahan	30
3.2.1 Alat.....	30
3.2.2 Bahan	30
3.3 Rancangan Penelitian	30
3.4 Tahapan Penelitian	31
3.5 Prosedur Penelitian.....	32
3.5.1 Preparasi Sampel (Moko et al., 2014).....	32
3.5.2 Pembuatan Natural Deep Eutectic Solvent (NADES).....	32
3.5.3 Ekstraksi Bekatul dengan Metode Ultrasonik	33
3.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)	34
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 37
4.1 Preparasi Sampel	37
4.2 Preparasi Natural Deep Eutectic Solvent (NADES)	38
4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode <i>Ultrasound Assisted Extraction</i> (UAE)	42
4.4 Uji Aktivitas Antioksidan.....	47
4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH (<i>1,1-difenil-2-pikrilhidrazil</i>).....	47
4.4.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Bekatul	48
4.5 Pemanfaatan Senyawa Antioksidan dalam Perspektif Islam	58
 BAB V PENUTUP.....	 61
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran.....	61
 DAFTAR PUSTAKA	 62
LAMPIRAN.....	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi gabah	10
Gambar 2.2 Struktur AsamSitrat.....	16
Gambar 2.3 Struktur Sukrosa	17
Gambar 2.5 Struktur Glukosa	18
Gambar 2.7 Struktur Gliserol.....	20
Gambar 2.9 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan	26
Gambar 4.1 Preparasi sampel bekatul.....	38
Gambar 4.2 Hasil pembuatan NADES.....	40
Gambar 4.3 Prediksi interaksi yang terjadi antara komponen NADES	41
Gambar 4.4 Filtrat hasil ekstraksi bekatul.....	43
Gambar 4.5 Ekstrak pekat bekatul hasil ultrasonik variasi NADES (a) asam sitrat-sukrosa (b) asam sitrat-gliserol (c) asam sitrat-glukosa	46
Gambar 4.6 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM.....	47
Gambar 4.7 Dugaan interaksi yang terjadi antara NADES dengan senyawa fenolik pada bekatul	54

DAFTAR PERSAMAAN

2.1 % Aktivitas Antioksidan	27
2.2 Nilai AAI	27
3.1 % Rendemen	33
3.2 % Aktivitas Antioksidan	35
3.3 Nilai AAI	35

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Daftar <i>Natural Deep Eutectic Solvent</i> (NADES).....	13
Tabel 2.2 Spesifikasi Asam Sitrat	16
Tabel 2.3 Spesifikasi Sukrosa	17
Tabel 2.4 Spesifikasi Glukosa.....	19
Tabel 2.5 Spesifikasi Gliserol	20
Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan dengan tiga kali pengulangan	31
Tabel 3.2 Komposisi dan Akronim NADES.....	33
Tabel 3.3 Komposisi NADES	33
Tabel 4.1 Preparasi NADES dan Lama Pembuatannya	39
Tabel 4.2 Rendemen ekstrak bekatul	45
Tabel 4.3 Data hasil % aktivitas antioksidan, nilai IC50, dan AAI ekstrak bekatul	50
Tabel 4.4 Data hasil % aktivitas antioksidan NADES	50
Tabel 4.5 Hasil analisa statistik aktivitas antioksidan bekatul dengan pelarut NADES.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	70
Lampiran 2. Diagram Penelitian	71
Lampiran 3. Pehitungan	75
Lampiran 4. Data Hasil Penelitian dan Perhitungan	83
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian	91
Lampiran 6. Data Hasil Absorbansi Panjang Gelombang Maksimum Menggunakan UV-Vis	93
Lampiran 7. Data Absorbansi	94

ABSTRAK

Syafira, Windi Aulia. 2023. **Pengaruh Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bekatul**. Skripsi. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Dosen Pembimbing I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P., Pembimbing II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc.

Kata kunci: *Bekatul, NADES, DPPH, Aktivitas Antioksidan, microplate reader*

Bekatul adalah suatu komoditi yang dihasilkan dari proses penggilingan padi. Bekatul mengandung senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, sehingga dapat bermanfaat bagi kesehatan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggunaan pelarut NADES terhadap aktivitas antioksidan ekstrak bekatul beras putih yang diekstraksi menggunakan metode ultrasonik.

Metode penelitian ini yaitu menggunakan metode ekstraksi *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) dalam variasi pelarut NADES (5:1) asam sitrat-sukrosa, asam sitrat-glukosa, dan asam sitrat-gliserol selama 30 menit dengan suhu 50°C. Hasil ekstraksi masing-masing dipekatkan menggunakan freeze drying dengan suhu -55°C hingga diperoleh ekstrak kental. Masing-masing ekstrak bekatul diuji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Pengujian antioksidan dilakukan menggunakan instrument *microplate reader* dengan konsentrasi 10.000, 5.000, 2.500, 1.250, dan 600 ppm.

Hasil penelitian menunjukkan pengaruh NADES terhadap aktivitas antioksidan ekstrak bekatul. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak NADES asam sitrat-sukrosa sebesar 63,328% dengan nilai IC_{50} sebesar 4.256 ppm dan nilai AAI sebesar 0,0188 ppm pada konsentrasi ekstrak 5.000 ppm. Aktivitas antioksidan pada ekstrak NADES asam sitrat-glukosa sebesar 53,032% dengan nilai IC_{50} sebesar 7.013 ppm dan nilai AAI sebesar 0,0114 ppm pada konsentrasi ekstrak 5.000 ppm. Ekstrak NADES asam sitrat-gliserol didapatkan aktivitas antioksidan sebesar 14,162% dengan nilai IC_{50} sebesar 36.976 ppm dan nilai AAI sebesar 0,0022 ppm pada konsentrasi 10.000 ppm.

ABSTRACT

Syafira, Windi Aulia. 2023. **The Effect of Natural Deep Eutectic Solvents (NADES) on the Antioxidant Activity of Rice Bran Extract**. Thesis. Chemistry Study Program, Faculty of Science and Technology. State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P., Advisor II: Lulu'atul Hamidatu Ulya, M.Sc.

Keywords: *Bran, NADES, DPPH, Antioxidant Activity, microplate reader*

Rice bran is a commodity produced from the rice milling process. Rice bran contains phenolic compounds which have high antioxidant activity, so they can be beneficial for health. The aim of this research was to determine the effect of using NADES solvent on the antioxidant activity of white rice bran extract extracted using the ultrasonic method.

This research method uses the Ultrasound Assisted Extraction (UAE) extraction method in a variety of NADES solvents (5:1), citric acid-sucrose, citric acid-glucose, and citric acid-glycerol for 30 minutes at a temperature of 50°C. The results of each extraction were concentrated using freeze drying at a temperature of -55°C until a thick extract was obtained. Each rice bran extract was tested for antioxidant activity using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. Antioxidant testing was carried out using a microplate reader instrument with concentrations of 10.000, 5.000, 2.500, 1.250 and 600 ppm.

The research results showed the effect of NADES on the antioxidant activity of rice bran extract. The highest antioxidant activity was found in the NADES citric acid-sucrose extract at 63,328% with an IC₅₀ value of 4.256 ppm and an AAI value of 0,0188 ppm at an extract concentration of 5.000 ppm. The antioxidant activity of the NADES citric acid-glucose extract was 53,032% with an IC₅₀ value of 7.013 ppm and an AAI value of 0,0114 ppm at an extract concentration of 5.000 ppm. The NADES extract of citric acid-glycerol obtained antioxidant activity of 14.162% with an IC₅₀ value of 36.976 ppm and an AAI value of 0,0022 ppm at a concentration of 10.000 ppm.

ملخص البحث

شافيرا، ويندي أوليا. ٢٠٢٣. تأثير المذيبات الطبيعية سهلة الانصهار العميق (NADES) على النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص النخالة . بحث جامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: الدكتورة أعين الجنة، الماجستير، المشرفة الثانية: لولو الحميدة العليا، الماجستير

الكلمات الرئيسية: نخالة، المذيبات الطبيعية سهلة الانصهار العميق، DPPH، نشاط مضاد للأكسدة، قارئ الصفائح الدقيقة

نخالة الأرز هي سلعة تنتج من عملية طحن الأرز. تحتوي نخالة الأرز على مركبات فينولية لها نشاط مضاد للأكسدة عالي، لذلك يمكن أن تكون مفيدة للصحة. كان الغرض من هذا البحث هو تحديد تأثير استخدام مذيب المذيبات الطبيعية سهلة الانصهار العميق (Nades) على النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص نخالة الأرز الأبيض المستخرج باستخدام طريقة الموجات فوق الصوتية.

تستخدم طريقة البحث هي طريقة الاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية (الإمارات العربية المتحدة) في اختلافات مذيب المذيبات الطبيعية سهلة الانصهار العميق (١:٥) حمض الستريك - السكروز، حمض الستريك - الجلوكوز، وحمض الستريك - الجليسيرول لمدة ٣٠ دقيقة بدرجة حرارة ٥٠ درجة مئوية. نتائج استخراج كل منها تركزت باستخدام تجميد الجاف بدرجة حرارة - ٥٠ درجة مئوية. للحصول على مستخلص علاوة على ذلك، تم اختبار كل مستخلص نخالة لنشاط مضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH (١,١) -ثنائي فينيل -٢- بيكريليهيدرازيل). تم إجراء اختبار مضادات الأكسدة باستخدام أدوات قارئ الصفائح الدقيقة بتركيزات ١٠٠٠٠ و ٥٠٠٠ و ٢٥٠٠ و ١٢٥٠ و ٦٢٥ جزء في المليون.

أظهرت النتائج أعلى نشاط مضاد للأكسدة موجود في مستخلص المذيبات الطبيعية سهلة الانصهار العميق لحمض الستريك والسكروز (١:٥) بنسبة ٦٣,٣٢٪. بقيمة التركيز القيمة الفعالة لنصف الحد ٤,٢٥٦ جزء في المليون لقيمة AAI ٠,٠١٨٨ جزء في المليون بتركيز مستخلص ٥٠٠٠ جزء في المليون. النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص حمض الستريك - الجلوكوز بنسبة ٥٣,٠٣٢٪. بقيمة التركيز القيمة الفعالة لنصف الحد ٧,٠١٣ جزء في المليون. مستخلص حمض الستريك - الجليسيرول بنسبة ١٤,١٦٢٪. بقيمة التركيز القيمة الفعالة لنصف الحد ٣٦,٩٧٦ جزء في المليون لقيمة AAI ٠,٠٠٢٢ جزء في المليون بتركيز مستخلص ١٠,٠٠٠ جزء في المليون.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bekatul merupakan komoditi yang dihasilkan dari proses penggilingan padi yang telah disaring dan dipisahkan dari sekam (kulit luar gabah), bekatul berasal dari kulit ari padi-padian. Produksi bekatul sangat melimpah di Indonesia tetapi pemanfaatan bekatul hanya terbatas pada ternak dan unggas saja, namun sebenarnya diketahui memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi pangan fungsional. Bekatul mengandung banyak manfaat seperti karbohidrat, protein, mineral, lemak, vitamin B kompleks (Yogiastuti, 2019), mengandung senyawa bioaktif seperti oryzanol, asam ferulat, asam kumarat, asam fitat, vitamin E, fitosterol, dan karotenoid (Henderson *et al.*, 2012). Senyawa bioaktif tersebut dapat bermanfaat bagi kesehatan sebagai antikanker, antiinflamasi, antidiabetes, hipoalergenik, dan hipolipidemik (Faizah *et al.*, 2020). Bekatul mengandung beberapa senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan bermanfaat bagi kesehatan seperti senyawa fenolik, tokoferol, tokotrienol, dan γ -oryzanol (Chen dan Bergman, 2005).

Kandungan senyawa yang sangat berlimpah serta banyak memiliki manfaat tersebut tidak sebanding dengan pemanfaatan bekatul yang masih rendah. Bekatul sering disebut sebagai limbah dari proses penggilingan padi. Pemanfaatan limbah pertanian ini secara tersirat dijelaskan oleh Allah Swt. dalam Al-Qur'an surat Ali-Imran ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۗ الَّذِينَ
يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ
رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۝

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi serta pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri, duduk, atau dalam keadaan berbaring, dan memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata), “Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia. Mahasuci Engkau. Lindungilah kami dari azab neraka”* (QS. Ali-Imran (3):190-191).

Surat Ali Imran ayat 190-191 dalam tafsir *Al-Mishbah* menjelaskan bahwa segala sesuatu yang ada pada langit dan bumi, yang melahirkan perbedaannya baik dalam masa, maupun dalam panjang dan pendeknya menggambarkan kesempurnaan alam dan kekuasaan Allah bagi orang-orang yang memiliki akal yang murni, yaitu yang tidak diselubungi oleh “kulit” atau kabut ide, yang dapat melahirkan kerancuan dalam berpikir disebut sebagai ulul albab. Yang memikirkan mengenai fenomena alam raya dan selalu mengingat Allah dengan ucapan, dan atau hati dalam segala situasi dan kondisi untuk mendalami pemahamannya dengan pikirannya untuk mengambil manfaat dari apa yang telah diciptakan oleh Allah Swt. yang menunjukkan keesaan dan kekuasaan Allah Swt. (Shihab, 2001). Ayat ini menerangkan bahwa Allah tidak menciptakan sesuatu yang sia-sia atau tidak memiliki manfaat. Bekatul sejauh ini hanya dimanfaatkan sebagai bahan pakan ternak, namun kandungan senyawa yang terdapat pada bekatul dapat dimanfaatkan dengan optimal jika dilakukan pengolahan secara tepat.

Pemanfaatan bekatul dapat diperoleh dari proses bekatul menjadi minyak atau disebut dengan minyak bekatul *rice bran oil* (RBO). Minyak bekatul mengandung asam lemak tak jenuh yang dapat bermanfaat bagi kesehatan untuk menurunkan tekanan darah sehingga mengurangi resiko penyakit arterosklerosis dan kardiovaskular. Banyaknya manfaat bekatul maupun minyak bekatul dapat dimanfaatkan untuk meningkatkan kualitas kesehatan manusia (Sukma *et al.*, 2010). Ekstrak bekatul dapat diambil melalui proses ekstraksi.

Metode ekstraksi dibedakan menjadi metode ekstraksi konvensional dan metode ekstraksi modern. Metode konvensional yaitu maserasi dan refluks. Sedangkan metode modern yaitu ekstraksi *Microwave Assisted Extraction* (MAE) dan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). *Ultrasound Assisted Extracion* (UAE) disebut juga sebagai ekstraksi ultrasonik atau sonikasi yang memanfaatkan energi gelombang ultrasonik dalam proses ekstraksi. Ulfa (2016) melakukan ekstraksi bekatul menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol menghasilkan aktivitas antioksidan sebesar 61,17% dengan IC_{50} 0,43 mg/mL, sedangkan menurut (Zaitun, 2021) ekstraksi bekatul dengan metode ultrasonik menggunakan pelarut etanol menghasilkan aktivitas antioksidan lebih tinggi yaitu sebesar 73,92%. Kelebihan dari metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) yaitu dapat meningkatkan efisiensi ekstraksi, dapat dilakukan pada suhu rendah untuk menghindari terjadinya kerusakan akibat pemanasan (Suryanto dan Taroreh, 2020). Sehingga menunjukkan bahwa metode ultrasonik memiliki kemampuan untuk ekstraksi dibandingkan dengan metode lainnya.

Proses ekstraksi senyawa bioaktif dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah jenis pelarut. Pemilihan pelarut harus sesuai dengan prinsip

kelarutan yaitu *like dissolve like*, dimana pelarut polar akan melarutkan senyawa polar sedangkan pelarut non polar akan melarutkan senyawa yang bersifat non polar. Selain itu, pemilihan jenis pelarut terdapat dua pertimbangan yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut tidak berbahaya atau beracun (Maslukhah *et al.*, 2016). Jurić *et al.*, (2021) membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak daun papermin menggunakan pelarut NADES dan etanol 70% menghasilkan nilai IC_{50} dengan NADES sebesar 0,67 mg/mL dan 0,91 mg/mL dengan etanol 70%. Martinović *et al.*, (2022) melakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak buah bilberry menggunakan pelarut NADES dan etanol 50% menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 1,05 mg/mL dan 3,24 mg/mL. Santos *et al.*, (2021) menunjukkan aktivitas antioksidan pada bekatul yang diekstraksi dengan ekstraksi *ultrasonic bath* dengan pelarut NADES dihasilkan nilai EC_{50} sebesar 360 mg/L.

Penggunaan pelarut organik banyak digunakan dalam proses ekstraksi dan memiliki nilai yang bagus, tetapi penggunaan pelarut ini memiliki toksisitas dan bahaya terhadap lingkungan yang ditimbulkan dari pelarut organik tersebut. Sehingga, dibutuhkan pelarut alternatif untuk melakukan ekstraksi pada bekatul untuk mengambil senyawa antioksidan seperti senyawa fenolik yang ada pada bekatul. Proses ekstraksi dapat dilakukan dengan pelarut alternatif seperti penggunaan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES). NADES adalah pelarut eutektik alami yang dapat dibentuk dari kombinasi metabolit primer (gula, gula alkohol, asam organik, asam amino, dan amina) pada molar rasio tertentu (Choi *et al.*, 2011). Penggunaan pelarut NADES memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan pelarut organik konvensional yaitu memiliki sifat stabil pada

suhu tinggi, tidak mudah menguap, tidak toksik, dan ramah lingkungan (Ahmad dan Prabowo, 2020).

Hasil penelitian Ahmad dan Prabowo, (2020) melakukan ekstraksi pada daun kadamba menggunakan pelarut NADES asam sitrat – glukosa dengan perbandingan mol 5:1 menghasilkan kandungan fenolik total sebesar 314,924 mg GAE/g. Pertiwi (2018) melakukan ekstraksi pada biji kopi hijau arabika menggunakan pelarut NADES asam sitrat – sukrosa dengan perbandingan mol 2:1 menghasilkan kandungan fenolik total sebesar 87,01 mg GAE/g. Kurtulbaş *et al.*, (2022) melakukan ekstraksi pada *Hisbiscus sabdariffa* menggunakan pelarut NADES asam sitrat – gliserol dengan perbandingan mol 1:4 menghasilkan kandungan fenolik total sebesar 31.897 mg GAE/g. Semakin tinggi total fenolik akan semakin menurunkan nilai IC_{50} , sehingga menunjukkan tingkat aktivitas antioksidan yang tinggi atau kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam sampel sangat kuat dalam menangkal radikal bebas (Gultom *et al.*, 2021).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Ahmad dan Prabowo, (2020) kombinasi perbandingan molar rasio NADES terbaik yang dapat menarik senyawa fenolik paling optimal adalah 5:1. Penelitian Zikri (2018) melakukan variasi waktu sonikasi pada proses ekstraksi, dihasilkan waktu ekstraksi paling optimal adalah 30 menit. Akan tetapi, belum ditemukan literatur yang menunjukkan keberhasilan NADES berbasis asam organik dalam mengekstraksi senyawa fenolik dan uji antioksidan pada bekatul. Oleh karena itu, penulis akan melakukan penelitian uji aktivitas antioksidan yang terkandung dalam bekatul dengan pelarut NADES berbasis asam sitrat.

Dalam penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antioksidan yang terkandung dalam bekatul menggunakan pelarut NADES. Ekstraksi dilakukan pada satu variabel, yaitu komposisi senyawa NADES berbasis asam sitrat sebagai akseptor ikatan hidrogen. Asam sitrat memungkinkan banyak ikatan hidrogen yang terbentuk, sehingga dapat meningkatkan kestabilan cairan. Senyawa donor ikatan hidrogen yang berbeda pada NADES memiliki struktur yang berbeda, sehingga dapat berpengaruh pada pembentukan dan stabilitas NADES (Dai *et al.*, 2013). Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh penggunaan pelarut NADES terhadap aktivitas antioksidan ekstrak bekatul dengan penggunaan jenis pelarut NADES yakni asam sitrat – sukrosa, asam sitrat – glukosa, dan asam sitrat – gliserol dengan perbandingan mol 5:1. Ekstraksi dilakukan dengan metode ultrasonik dengan lama ekstraksi 30 menit. Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka masalah penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut, bagaimana pengaruh variasi pelarut NADES terhadap aktivitas antioksidan bekatul yang diekstraksi menggunakan metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak bekatul yang diekstrak dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction* dengan variasi pelarut NADES.

1.4 Batasan Masalah

Menghindari luasnya objek kajian dalam penelitian ini maka diberikan batasan masalah sebagai berikut:

1. Bekatul beras yang digunakan yaitu varietas IR64 berasal dari penggilingan padi di Desa Tasikmadu, Kota Malang.
2. Ekstraksi dilakukan dengan metode *Ultrasound Assisted Extraction*.
3. Campuran pelarut NADES yang digunakan adalah asam sitrat – sukrosa, asam sitrat – glukosa, dan asam sitrat – gliserol dengan perbandingan mol 5:1.
4. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

1.5 Manfaat Penelitian

Secara garis besar, manfaat penelitian ini diharapkan dapat:

1. Mengetahui aktivitas antioksidan dalam ekstrak bekatul dengan pelarut NADES sebagai *green solvent* yang ramah lingkungan.
2. Meningkatkan manfaat bekatul dalam segi ekonomi.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan dan Pemanfaatannya Dalam Perspektif Islam

Penciptaan alam dan seisinya seperti hewan dan tumbuh-tumbuhan saling berkaitan erat dalam kehidupan. Penciptaan alam dan isinya mempunyai hikmah yang sangat besar serta tidak ada yang sia-sia dalam ciptaanNya. Keberadaan tumbuhan adalah berkah dan nikmat Allah Swt. kepada seluruh makhluknya. Allah Swt. berfirman

﴿ فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ^y وَعِنَبًا ^v وَقَضْبًا ^u وَزَيْتُونًا ^w وَنَخْلًا ^y وَحَدَائِقَ ^z غُلْبًا ^r وَفَاكِهَةً ⁿ وَأَبًّا ⁿ مَتَاعًا ⁿ لَكُمْ
وَلَا نَعْمَامِكُمْ ^q ﴾

Artinya: “ *Lalu, Kami tumbuhkan padanya biji-bijian, 28). anggur, sayur-sayuran, 29). zaitun, pohon kurma, 30. kebun-kebun (yang) rindang, 31). buah-buahan, dan rerumputan. 32). (Semua itu disediakan) untuk kesenanganmu dan hewan-hewan ternakmu*” (QS. Abasa (80):27-32).

Berdasarkan penjelasan ayat di atas sebagaimana tertera dalam tafsir *Juz ‘Amma* ayat tersebut menjelaskan besarnya nikmat yang diberikan oleh Allah Swt. kepada makhluknya. Dalam ayat tersebut pada kata “ حَبًّا ” dijelaskan bahwa biji-bijian yang dimaksud seperti biji gandum, beras, biji dzurrah, biji sya’ir dan biji-biji lainnya. Allah menciptakan biji-bijian, sayuran, buah-buahan dan rumput untuk makhluknya sebagai bahan pangan bagi manusia dan hewan. Segala unsur yang diciptakan memiliki manfaat bagi manusia dan hewan yang dapat dipelajari untuk mendapatkan pandangan mendalam terhadap unsur tersebut (Al-Utsaimin, 2008).

Firman Allah Swt. dalam surat Ar-Rahman ayat 11-13:

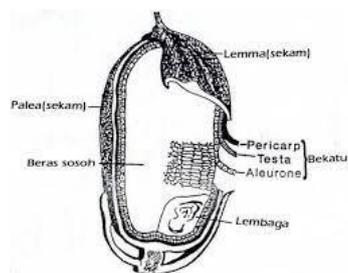
﴿ فِيهَا فَاكِهَةٌ وَالنَّخْلُ ذَاتُ الْأَكْمَامِ وَالْحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ ۗ فَبِأَيِّ آلَاءِ رَبِّكُمَا تُكَذِّبِينَ ۝ ﴾

Artinya: “adanya terdapat buah-buahan dan pohon kurma yang mempunyai kelopak mayang, 12). biji-bijian yang berkulit, dan bunga-bunga yang harum baunya. 13). Maka, nikmat Tuhanmu manakah yang kamu dustakan (wahai jin dan manusia)?” (QS.Ar-Rahman (55):11-13).

Berdasarkan ayat tersebut sebagaimana terdapat dalam tafsir *Ibnu Katsier* ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menciptakan bumi sebagai hamparan bagi makhlukNya, dan dari permukaannya manusia dapat menikmati berbagai macam biji-bijian yang berkulit dan bunga-bunga yang harum baunya, indah rupanya dan memberi kesegaran bagi alam sekitarnya, maka nikmat Tuhan yang manakah di antara nikmat-nikmatNya yang kamu ingkari dan dustakan? (Bahreisy dan Bahreisy, 1994). Allah Swt. menetapkan makhlukNya untuk mengakui atas firman-firmanNya. Salah satu caranya yaitu dengan melakukan penelitian untuk mendalami dan mencari obat dari bahan-bahan yang terdapat pada alam, seperti bekatul.

2.2 Bekatul

Bekatul adalah lapisan terluar dari beras, lapisan ini terlepas saat proses penggilingan gabah menjadi beras. Bekatul memiliki karakteristik warna krem atau coklat muda. Bekatul adalah hasil samping dari proses penggilingan padi yang telah disaring dan dipisahkan dari sekam (kulit luar gabah), bekatul berasal dari kulit ari pada padi-padian (Luthfianto *et al.*, 2017).



Gambar 2.1 Morfologi gabah (Park *et al.*, 2017)

Gabah memiliki dua lapisan utama, yaitu endosperma atau biji beras dan kulit padi. Kulit padi terdiri dari bagian terluar (*hull*) dan kulit bagian dalam atau selaput (bekatul). Bekatul terdiri dari lapisan *pericarp*, *testa*, dan *aleurone* (Dwi, Suter dan Widarta, 2015). Bekatul dihasilkan dari proses penggilingan padi. Penggilingan padi adalah proses pengolahan gabah yang sudah kering menjadi beras. Umumnya proses penggilingan padi terdiri dari dua tahap, yaitu pengupasan kulit gabah dan penyosohan yakni proses pengolahan beras pecah kulit menjadi beras sosoh untuk menghilangkan bagian kulit aleuron (Noor dan Saleh, 2021).

Proses penyosohan adalah proses untuk menghilangkan dedak dan bekatul dari bagian endosperma beras. Pada proses penggilingan padi akan menghasilkan sekam sebanyak 16,28%, dedak 6-11%, bekatul 2-4%, dan endosperma sekitar 60%. Bekatul merupakan salah satu limbah dari proses penyosohan beras. Bekatul secara umum memiliki beberapa manfaat yaitu mampu memberikan efek dalam meningkatkan kesehatan tubuh, memperbaiki stamina dan sebagai terapi yang aman dan efektif untuk mengatasi berbagai penyakit karena banyaknya senyawa yang bermanfaat pada bekatul (Sidadolog *et al.*, 2018)

2.3 Kandungan Senyawa pada Bekatul

Bekatul tersusun dari lapisan *pericarp*, *testa* dan lapisan aleuron. Bekatul mengandung komponen makro, mikro dan senyawa bioaktif. Komponen senyawa

pada bekatul sangat bervariasi yang disebabkan oleh varietas, jenis mesin penyosoh, perlakuan sebelum penyosohan dan derajat penyosoh. Varietas beras yang berbeda akan menyebabkan komposisi nutrisi dan karakteristik komponen makro yang berbeda dari bekatul. Kandungan nutrisi pada bekatul meliputi 12-22% minyak, 11-17% protein, 6-14% serat, 10-15% air dan 8-17% abu (Estiasih, Ahmadi dan Santoso, 2021). Senyawa bioaktif pada bekatul yaitu senyawa fenolik, oryzanol, asam ferulat, asam kafeat, tricine, asam kumarat, asam sitrat, vitamin E, fitosterol, karotenoid (Henderson *et al.*, 2012), fenol, flavonoid, fitosterol, tokotrienol, tokoferol, skualen, dan polikosanol (Estiasih *et al.*, 2021).

2.4 Manfaat Bekatul

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa bekatul mengandung berbagai senyawa bermanfaat yang memiliki nilai gizi yang tinggi. Bekatul mengandung senyawa fenolik yang mampu meredam senyawa radikal bebas, mempengaruhi kinerja enzim, dan mengubah jalur biokimia seperti sintesis kolesterol dan mempengaruhi ekspresi gen yang dapat mencegah kanker. Selain itu, bekatul mengandung protein sekitar 10-15% yang memiliki kualitas baik dan banyak digunakan untuk pangan seperti roti, minuman, permen, dan makanan bayi, dan digunakan untuk industri farmasi dan kualitas nutrisinya setara dengan protein hewani. Bekatul mengandung fitosterol sebesar 12.655 mg/kg yang berperan menurunkan kadar LDL kolesterol serta dapat digunakan untuk pencegahan hipertensi bagi orang normal. Skualen adalah senyawa *intermediate* dalam biosintesis kolesterol yang berperan seperti obat penurun kolesterol. Polikosanol pada bekatul dapat menghambat mRNA pengkode sintesis HMGCoA reduktase, sehingga menghambat sintesis kolesterol dalam tubuh. Bekatul mengandung serat

yang dapat mengikat air setara dengan serat komersial FIBREX, serat ini dapat digunakan untuk memperbaiki sifat fisik, kemampuan pengikatan air, kapasitas pengikatan minyak, viskositas, tekstur, dan umur simpan produk (Estiasih *et al.*, 2021).

2.5 Pelarut *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES)

Pelarut *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) adalah pelarut yang terbentuk dari metabolit utama (gula, alkohol, asam organik, asam amino, dan amina) yang berikatan karena interaksi intermolekul yang kuat, terutama ikatan hidrogen (Hardianti dan Tonica, 2018). NADES adalah pelarut yang dapat terbentuk dari campuran dari dua atau lebih komponen alami dengan rasio mol tertentu dapat terjadi penurunan pada titik lebur dan menjadi cair pada suhu kamar (Dewi *et al.*, 2021). Campuran pelarut dua atau lebih dengan penambahan air dalam rasio molar tertentu dapat membentuk cairan eutektik. Variasi rasio molar pelarut dengan penambahan air dapat mengontrol sifat fisikokimianya (Alcalde *et al.*, 2019).

Berdasarkan senyawa penyusunnya NADES dapat dikelompokkan menjadi beberapa kelompok sebagai berikut (Dai *et al.*, 2016):

- a. Cairan ionik, yaitu terdiri dari asam-asam organik (asam sitrat, asam maleat, dan asam laktat) dengan senyawa basa diantaranya yaitu *choline chloride*, *betaine chloride*, dan *betaine*.
- b. NADES bersifat netral, yaitu tidak adanya konstituen ionik, seperti campuran polyalcohols (gliserol, glisin, dan 1-2 propanadiol).

- c. NADES bersifat asam, yaitu terdiri dari senyawa netral, seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, maltose, trehalose, dan senyawa asam.
- d. NADES bersifat basa, yaitu terdiri dari senyawa netral dan senyawa basa.
- e. NADES bersifat amfoter, yaitu terdiri dari kombinasi dari asam amino (α -proline, β -Alamine) dan gula polyalcohol atau dengan senyawa-senyawa asam.

Tabel 2.1 Daftar *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) (Choi *et al.*, 2011)

Kombinasi	Molar Rasio
Asam sitrat:choline chloride	1:2, 1:3
Asam maleat:choline chloride	1:1, 1:2, 1:3
Aconitic acid:choline chloride	1:1
Glysin:choline chloride:air	1:1:1
Fruktosa:choline chloride:air	1:1:1
Sukrosa:choline chloride:air	1:1:1
Asam sitrat:Proline	1:1, 1:2, 1:3
Asam maleat:Glysin	1:1
Asam maleat:Fruktosa	1:1
Asam maleat:Sukrosa	1:1
Asam sitrat:Glysin	2:1
Asam sitrat:trihalose	2:1
Asam sitrat:sukrosa	1:1
Glycine:Fruktosa	1:1
Fruktosa:sukrosa	1:1
Glysin:Sukrosa	1:1
Sukrosa:Glysin:Fruktosa	1:1:1

Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) adalah salah satu pelarut alternatif dengan penerapan prinsip *green chemistry* dalam mengeksplorasi kandungan dan potensi senyawa aktif dari bahan alam. Pelarut NADES memiliki ketersediaan yang melimpah, keragaman sifat kimia, biodegradabilitas, dan toksisitasnya rendah, sehingga meningkatkan potensi NADES sebagai pelarut yang ramah lingkungan (Dai *et al.*, 2013). Komponen NADES dapat dipilih untuk menyempurnakan karakteristik fisikokimia pelarut dan meningkatkan aktivitas biologis senyawa aktif pelarut. Komposisi rasio molar dapat mempengaruhi

karakteristik DES. Rasio yang tidak tepat pada larutan DES dapat menyebabkan pembentukan padatan seperti lilin (Aini, 2017). Komposisi pada NADES terdapat HBD (*Hydrogen Bond Donor*) dan HBA (*Hydrogen Bond Acceptor*). Interaksi antara HBA dan HBD meliputi atom hidrogen yang mengacu pada ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen antara dua senyawa dapat berbentuk intermolekular atau intramolekular (Putri, 2015).

NADES memiliki kemampuan mendonorkan dan menerima proton dan elektron, sehingga memiliki kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen yang dapat meningkatkan kemampuan disolusinya. NADES memiliki kemampuan untuk mengekstraksi senyawa fenolik, karena adanya interaksi ikatan hidrogen antara NADES dengan senyawa fenolik. Selain itu sifat fisik NADES, seperti viskositas dan polaritas memiliki pengaruh yang besar dalam ekstraksi. Sifat-sifat tersebut dapat disesuaikan dengan peningkatan suhu, penambahan air, dan rasio HBA-HBD yang tepat (Dai *et al.*, 2013).

Viskositas yang tinggi pada NADES dapat mengurangi koefisien difusi analit, sehingga menyebabkan perpindahan massa yang rendah dan waktu ekstraksi yang lama (Hikmawanti *et al.*, 2021). Polaritas pada NADES mempengaruhi kemampuan solubilitas NADES. Polaritas berpengaruh terhadap senyawa target larut dengan mudah pada pelarut dengan polaritas serupa (Felita, 2014). Prinsip pembuatan NADES dilakukan dengan mencampurkan dua bahan kimia dan diaduk pada kurun waktu 30 menit hingga 2 jam. Jika NADES terbentuk dari dua padatan, maka dilakukan pengadukan dan dipanaskan pada suhu 80-100°C (Putri, 2015). Peningkatan suhu dapat menurunkan tegangan permukaan, viskositas, dan meningkatkan kelarutan. Penambahan air pada NADES dapat menurunkan

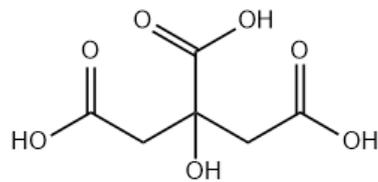
viskositas dan meningkatkan polaritas dari NADES. Penambahan air yang berlebih dapat merusak ikatan hidrogen antara HBA dan HBD, serta menyebabkan menurunnya efisiensi ekstraksi senyawa target (Putri, 2018).

Penggunaan larutan eutektik umumnya digunakan sebagai pelarut dalam proses ekstraksi dan juga dapat digunakan untuk proses ekstraksi *impurities* yang ada pada biodiesel. NADES berfungsi sebagai bahan aktif dan ekstraknya dapat digunakan secara langsung untuk formulasi kosmetik atau farmasi (Grozdanova *et al.*, 2020).

2.5.1 Asam Sitrat

Asam sitrat adalah senyawa asam organik yang lemah dengan rumus kimia $C_6H_8O_7$ dengan nama IUPAC asam 2-hidroksi-1,2,3-propanatrikarboksilat. Asam sitrat memiliki sifat fisik tidak berwarna, berbentuk kristal, tidak berbau, dan memiliki rasa asam. Asam sitrat dapat larut dalam etanol, eter, etil asetat, dan tidak dapat larut dalam benzene dan kloroform (Putri, 2022). Penggunaan asam sitrat dalam larutan dapat mengkondisikan pH asam pada larutan, sehingga dapat menghasilkan ekstrak pigmen yang lebih banyak. Asam sitrat merupakan salah satu senyawa yang dapat menaikkan dan menstabilkan aktivitas antioksidan (Putri, 2022).

Kegunaan asam sitrat banyak digunakan sebagai zat pemberi cita rasa dan pengawet makanan dan minuman. Selain itu, asam sitrat juga dapat digunakan sebagai larutan penyangga untuk mengendalikan pH untuk larutan pembersih dalam rumah tangga dan obat-obatan (Ovelando *et al.*, 2013). Asam sitrat memiliki 7 HBA dan 4 HBD (NCBI, 2022). Pada penelitian ini, asam sitrat digunakan sebagai HBA yaitu sebagai penerima ikatan hidrogen dalam pembentukan DES.



Gambar 2.2 Struktur Asam Sitrat (NCBI, 2022)

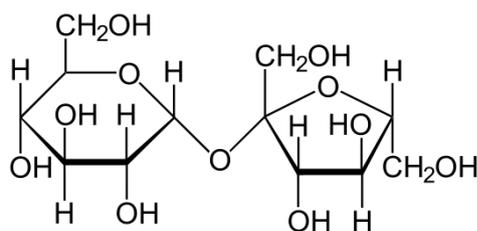
Tabel 2.2 Spesifikasi Asam Sitrat

Spesifikasi	Keterangan
Rumus Molekul	$C_6H_8O_7$
Massa Molar	$198,08 \text{ g mol}^{-1}$
Bentuk	Tidak berwarna, berbentuk kristal
Densitas	$1,67 \text{ g/cm}^3$
Titik Leleh	$153 - 159^\circ\text{C}$
Titik Didih	200°C

(Sumber: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

2.5.2 Sukrosa

Sukrosa adalah senyawa yang memiliki rumus molekul $C_{12}H_{22}O_{11}$ memiliki bentuk serbuk kristal putih, sedikit berbau, dan memiliki rasa manis. Sukrosa banyak digunakan sebagai agen pemanis, dapat meningkatkan viskositas, dan memiliki stabilitas yang tinggi pada suhu kamar (Pertiwi, 2018). Pada penelitian ini, sukrosa digunakan sebagai HBD yaitu sebagai pendonor ikatan hidrogen.



Gambar 2.3 Struktur Sukrosa (Rowe, 2009)

Sukrosa adalah glikosil glikosida yang dibentuk oleh glukosa dan fruktosa yang dihubungkan oleh jembatan oksigen asetal dari hemiasetal glukosa ke hemiketal fruktosa. Beberapa peneliti melakukan ekstraksi menggunakan campuran asam sitrat dengan sukrosa sebagai komponen pelarut NADES. Contoh dari penelitian yang telah dilakukan adalah ekstrak senyawa fenolik pada tanaman *Cajanus cajan* diperoleh kadar sebanyak 12,19 mg/g serbuk (Wei *et al.*, 2015), ekstrak senyawa fenolik pada *Coffea arabila* L. diperoleh kadar sebesar 87,01 mg GAE/g (Pertiwi, 2018).

Tabel 2.3 Spesifikasi Sukrosa

Spesifikasi	Keterangan
Rumus Molekul	$C_{12}H_{22}O_{11}$
Massa Molar	$342,30 \text{ g mol}^{-1}$
Bentuk	Serbuk kristal putih
Densitas	$1,6 \text{ g/cm}^3$
Titik Leleh	$185,5 \text{ }^\circ\text{C}$

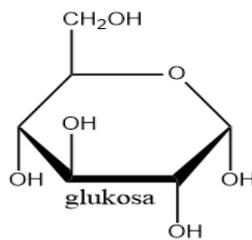
(Sumber: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

Sukrosa sebagai HBD saling berinteraksi satu sama lain dengan perbandingan rasio molar asam sitrat-sukrosa adalah 5:1, yang membentuk ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen terjadi karena adanya interaksi tarik menarik antara atom yang bersifat elektronegatif dengan atom hidrogen yang terikat pada atom lain yang juga

bersifat elektronegatif. DES akan membentuk ikatan hidrogen akibat adanya interaksi antara H pada HBD dengan O.

2.5.3 Glukosa

Glukosa adalah senyawa dengan rumus molekul $C_6H_{12}O_6$ dengan nama IUPAC *2,3,4,5,6- pentahydroxyhexanal*. Glukosa adalah monosakarida sederhana yang digunakan sebagai sumber tenaga utama bagi makhluk hidup. Glukosa memiliki nama lain yaitu dekstrosa, D-glukosa, atau gula, glukosa banyak terdapat pada buah-buahan. Glukosa memiliki karakteristik senyawa yang berwarna putih, berwujud padat, tidak berbau, dan tidak beracun (Felita, 2014). Glukosa memiliki 6 HBA dan 5 HBD (NCBI, 2022). Pada penelitian ini, glukosa digunakan sebagai HBD yaitu sebagai pendonor ikatan hidrogen.



Gambar 2.4 Struktur Glukosa (NCBI, 2022)

Glukosa adalah monosakarida gula sederhana yang memiliki dua isoform, alfa dan beta. Beberapa peneliti melakukan ekstraksi menggunakan campuran asam sitrat dengan glukosa sebagai komponen pelarut NADES. Contoh dari penelitian yang telah dilakukan adalah ekstrak senyawa fenolik pada tanaman daun kadamba diperoleh kadar sebesar 314,924 mg GAE/g (Ahmad dan Prabowo, 2020).

Tabel 2.4 Spesifikasi Glukosa

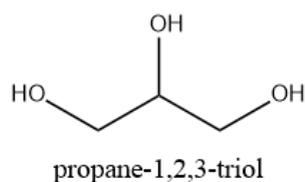
Spesifikasi	Keterangan
Rumus Molekul	$C_6H_{12}O_6$
Massa Molar	$180,16 \text{ g mol}^{-1}$
Bentuk	berwarna putih, berwujud padat,

(Sumber: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

Glukosa sebagai HBD saling berinteraksi satu sama lain dengan perbandingan rasio molar asam sitrat-glukosa adalah 5:1, yang membentuk ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen terjadi karena adanya interaksi tarik menarik antara atom yang bersifat elektronegatif dengan atom hidrogen yang terikat pada atom lain yang juga bersifat elektronegatif. DES akan membentuk ikatan hidrogen akibat adanya interaksi antara H pada HBD dengan O.

2.5.4 Gliserol

Gliserol adalah senyawa yang memiliki rumus molekul $C_3H_8O_3$ dengan nama IUPAC propane-1,2,3-triol. Gliserol memiliki karakteristik senyawa yang tidak berwarna, tidak berbau dan merupakan cairan kental yang memiliki rasa manis. Gliserol merupakan senyawa golongan polisakarida hidrokoloid yang larut dalam air. Gliserol banyak digunakan dalam berbagai industri seperti, bahan kosmetika, bahan dasar di industri makanan dan minuman (*emulsifier*, *freeze*, *preventer*, dan *coating*), dan pembuatan antibiotik dan kapsul pada industri farmasi (Selpiana *et al.*, 2016). Gliserol digunakan sebagai HBD dalam pembentukan DES.



Gambar 2.5 Struktur Gliserol (NCBI, 2022)

Gliserol memiliki tiga gugus hidroksil, sehingga menjadikannya larut dalam air dan bersifat higroskopis. Gliserol memiliki toksisitas yang rendah. Gliserol jika disimpan lama pada suhu rendah dapat memadat (Felita, 2014). Beberapa peneliti melakukan ekstraksi menggunakan campuran asam sitrat dengan gliserol sebagai komponen pelarut NADES. Contoh dari penelitian yang telah dilakukan adalah ekstrak senyawa fenolik pada tanaman Hibiscus sabdariffa diperoleh kadar sebesar 31.897 mg GAE/g (Kurtulbaş *et al.*, 2022).

Tabel 2.5 Spesifikasi Gliserol

Spesifikasi	Keterangan
Rumus Molekul	$C_3H_8O_3$
Massa Molar	92,09 g mol ⁻¹
Bentuk	Tidak berwarna
Densitas	1,261 g/cm ³
Titik Leleh	18°C
Titik Didih	290°C

(Sumber: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

Gliserol sebagai HBD saling berinteraksi satu sama lain dengan perbandingan rasio molar asam sitrat-gliserol adalah 5:1, yang membentuk ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen terjadi karena adanya interaksi tarik menarik antara atom yang bersifat elektronegatif dengan atom hidrogen yang terikat pada atom lain yang juga

bersifat elektronegatif. DES akan membentuk ikatan hidrogen akibat adanya interaksi antara H pada HBD dengan O.

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik pemisahan kimia yang banyak digunakan untuk memisahkan atau menarik satu atau lebih komponen atau senyawa-senyawa dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Leba, 2017). Prinsip metode pemisahan ekstraksi yaitu menggunakan prinsip *like dissolve like* dimana suatu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar. Tujuan proses pemisahan ekstraksi yaitu untuk menarik atau memisahkan senyawa dari simplisia atau campurannya (Syamsul *et al.*, 2020). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi adalah lama ekstraksi, suhu, jenis pelarut, titik didih, sifat toksik, dan sifat korosif (Margarita, 2018).

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam melakukan ekstraksi sebagai berikut (Ananda, 2022):

a. Jumlah Simplisia yang Diekstrak

Jumlah simplisia yang diekstrak harus diperhatikan, karena berpengaruh pada jumlah pelarut yang digunakan. Semakin banyak simplisia yang diekstrak, maka jumlah pelarut yang digunakan akan semakin banyak.

b. Derajat Kehalusan Simplisia

Semakin halus simplisia maka luas kontak permukaan dengan pelarut akan semakin besar. Sehingga, proses ekstraksi akan berlangsung secara optimal.

c. Jenis Pelarut

Pemilihan pelarut harus sesuai dengan kepolaran pelarut itu sendiri. Senyawa dengan kepolaran yang sama akan lebih mudah larut dalam pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang sama, sesuai dengan prinsip *like dissolve like*.

d. Waktu Ekstraksi

Kondisi kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam bahan dengan senyawa pada pelarut ditentukan dengan waktu yang digunakan selama proses ekstraksi.

e. Metode Ekstraksi

Pemilihan metode ekstraksi bergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Oleh karena itu, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu untuk mengetahui metode ekstraksi yang digunakan.

2.6.1 Metode Ekstraksi dengan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE)

Ultrasound Assisted Extraction (UAE) disebut juga sebagai ekstraksi ultrasonik atau sonikasi merupakan metode ekstraksi non termal yang dapat meningkatkan laju transfer massa dan memecahkan dinding sel (Ananda, 2022). Metode ekstraksi ini berbantu ultrasonik, yaitu gelombang dengan frekuensi diatas pendengaran manusia (≥ 20 kHz) (Hildayanti, 2022). Prinsip kerja yaitu dengan mengamati sifat akustik gelombang ultrasonik yang dirambatkan pada medium yang dilewati. Ketika gelombang merambat, maka medium yang dilewati akan mengalami getaran. Getaran memberikan efek pengadukan intensif terhadap proses ekstraksi. Sehingga, meningkatkan osmosis antara bahan dengan pelarut yang akan meningkatkan proses ekstraksi (Setyantoro *et al.*, 2019).

Faktor yang meningkatkan proses ekstraksi salah satunya adalah pemilihan metode ekstraksi, karena hasil ekstraksi akan menunjukkan tingkat keberhasilan metod tersebut. Metode konvensional memiliki kekurangan karena waktu ekstraksi yang lama, membutuhkan banyak pelarut, dan hasil ekstrak yang dihasilkan kurang maksimal (Handayani, Sriherfyna dan Yunianta, 2016). Metode UAE memiliki beberapa kelebihan yaitu, memberikan hasil ekstrak yang optimal sehingga dapat mengefisien waktu dan pelarut yang digunakan, lebih ekonomis dan alat yang digunakan mudah. Selain itu, ekstraksi dengan metode UAE dapat dilakukan pada suhu yang rendah untuk menghindari terjadinya kerusakan akibat pemanasan. Ekstraksi sonikasi dapat dilakukan untuk mengekstraksi antioksidan dalam suatu bahan (Suryanto dan Taroreh, 2020).

2.7 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (*electron donors*) yang mampu mengatasi dampak negatif dari senyawa oksidan dalam tubuh seperti kerusakan elemen vital sel tubuh (Sakka dan Muin, 2022). Antioksidan adalah molekul yang mampu menghambat oksidasi molekul lain, sehingga dapat memberi perlindungan endogen dan tekanan oksidatif eksogen dengan menangkap radikal bebas (Haerani *et al.*, 2018). Prinsip kerja dari antioksidan yaitu dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan, sehingga aktivitas senyawa oksidan dapat dihambat (Nur *et al.*, 2021). Proses menghambat jalannya reaksi dapat dilakukan oleh senyawa antioksidan melalui beberapa cara, yaitu mekanisme donor proton, radical scavenger, oxygen quencher, inhibisi dengan enzim dan sinergis (Saefudin, 2012). Antioksidan berdasarkan sumbernya terdiri dari antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan sintetis yaitu

BHA (*butylated hydroxyanisole*), BHT (*butylated hydroxytoluene*), TBHQ (*tertiary butyl hydroquinone*), dan PG (*propyl gallate*). Antioksidan sintetik dapat memiliki efek karsinogenis sehingga penggunaan antioksidan alami mengalami peningkatan. Antioksidan alami dapat ditemukan dalam tumbuhan yang berasal dari golongan polifenol, flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan β -karoten (Hani and Milanda, 2021).

Antioksidan memiliki popularitas besar sebagai bahan dasar dalam produk sediaan, dimana senyawa tersebut dapat mencegah penuaan dan menjaga kulit dalam kondisi yang baik, perlindungan dari ROS akibat stress oksidatif dan perlindungan UV. Kandungan antioksidan yang cukup dapat meningkatkan pertahanan tubuh terhadap timbulnya penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas (Margarita, 2018) . Antioksidan yang dihasilkan dari dalam tubuh pada kondisi tertentu tidak mencukupi perannya, oleh karena itu tubuh memerlukan antioksidan dari luar untuk mencukupi kebutuhan tubuh. Tumbuhan menghasilkan banyak antioksidan yang dapat mengendalikan stres oksidatif yang disebabkan oleh sinar matahari dan oksigen dan dapat menjadi sumber senyawa baru dengan aktivitas antioksidan. Asupan antioksidan dari bahan alam dapat menurunkan risiko kanker, penyakit kardiovaskular, diabetes dan penyakit lainnya yang berhubungan dengan penuaan (Haerani *et al.*, 2018).

2.8 Radikal Bebas

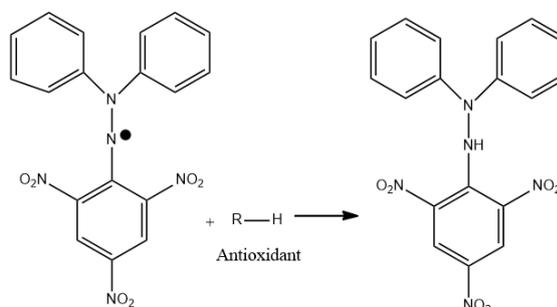
Radikal bebas adalah suatu atom, gugus, molekul atau senyawa yang dapat berdiri sendiri yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Molekul tersebut diantaranya yaitu atom hydrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen. Adanya satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan menyebabkan molekul mudah tertarik pada suatu medan magnetik

(paramagnetik) yang menyebabkan molekul sangat reaktif. Radikal bebas akan menyerang molekul yang stabil didekatnya dan mengambil elektron yang akan membentuk radikal bebas baru, sehingga terjadi reaksi berantai yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negatif (anion) atau tidak bermuatan. Reaksi berantai ini berlangsung terus menerus dan akan berhenti sampai terjadi peredaman oleh senyawa lain yang bersifat antioksidan. Dampak negatif dari radikal bebas terjadi karena sifat radikal bebas yang dapat mengikat elektron dari molekul sel, sehingga dapat merusak komponen-komponen sel yang dapat mempertahankan integritas dan kehidupan sel (Yuslianti,2018).

2.9 Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

Metode DPPH adalah metode yang banyak digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Senyawa DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) adalah radikal bebas yang stabil dalam larutan berair. Senyawa ini banyak digunakan untuk menyelidiki aktivitas dari senyawa alami seperti fenolik dan antosianin dari sampel tumbuhan. Prinsip kerja metode DPPH adalah adanya atom hidrogen dari senyawa antioksidan yang berikatan dengan elektron bebas pada senyawa radikal akan menyebabkan perubahan dari radikal bebas (diphenylpicrylhydrazyl) menjadi senyawa non radikal (diphenylpicrylhydrazine) yang ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (senyawa radikal bebas tereduksi oleh adanya antioksidan) (Setiawan *et al.*, 2018). Senyawa DPPH menunjukkan serapan yang kuat pada

panjang gelombang 517 nm. Kelebihan dari metode DPPH yaitu sederhana, mudah, cepat, peka, dan hanya memerlukan sedikit sampel.



Gambar 2.6 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan (Khairunnisa,2021)

Senyawa DPPH bereaksi dengan senyawa antioksidan yang mengakibatkan penurunan intensitas warna, karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada senyawa DPPH. Perubahan warna yang semula berwarna ungu berubah menjadi kuning yang terjadi pada radikal DPPH disebabkan adanya senyawa antioksidan yang mampu mendonorkan atom hidrogen terhadap radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dan terjadi proses reduksi menghasilkan molekul DPPH-H (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) yang merupakan molekul yang stabil (Khairunnisa, 2021). Pengurangan intensitas warna ungu larutan DPPH secara kuantitatif dapat dihitung dari berkurangnya absorbansi larutan tersebut. Semakin tinggi konsentrasi bahan uji maka absorbansi yang terbaca semakin kecil, sehingga aktivitas bahan uji dalam menangkap radikal DPPH semakin besar (Andriani dan Murtisiwi, 2020).

Aktivitas antioksidan ditentukan dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi DPPH absorbansi larutan uji. Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat

dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai ini dapat diperoleh dengan persamaan berikut (Ulfa, 2016).

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \dots\dots\dots 2.1$$

Keterangan: A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi sampel

Aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dapat ditentukan dengan *Inhibition Concentration* 50% atau IC_{50} yaitu konsentrasi sampel yang dapat menghambat aktivitas DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} semakin kecil maka semakin tinggi aktivitas antioksidan. Suatu senyawa memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 0,05 mg/mL, aktivitas antioksidan kuat jika nilai IC_{50} antara 0,05 – 0,1 mg/mL, aktivitas antioksidan sedang jika nilai IC_{50} 0,101 – 0,150 mg/mL dan aktivitas antioksidan lemah jika nilai IC_{50} 0,151 – 0,200 mg/mL (Blois, 1958).

AAI (*Antioxidant Activity Index*) adalah nilai yang digunakan untuk mengetahui index aktivitas antioksidan. Nilai ini dapat diperoleh dengan rumus:

$$\text{Nilai AAI} = \frac{\text{Konsentrasi DPPH (ppm)}}{IC_{50} \text{ sampel (ppm)}} \dots\dots\dots 2.2$$

Aktivitas antioksidan berdasarkan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) dikategorikan lemah sebagai antioksidan jika nilai $AAI < 0,5$, aktivitas antioksidan sedang jika nilai $0,5 < AAI < 1,0$, aktivitas antioksidan kuat jika nilai $1,0 < AAI < 2,0$, dan aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai $AAI > 2,0$ (Scherer and Godoy, 2009).

2.10 Microplate Reader (ELISA Reader)

Microplate reader adalah salah satu spektrofotometer yang disusun untuk membaca lempeng mikro (*microplate*). Prinsip kerja *microplate reader* yaitu berbasis kalorimeter, yaitu intensitas cahaya yang diserap dalam larutan berwarna menggunakan panjang gelombang tertentu merupakan nilai absorbansi yang terbaca (Santoso *et al.*, 2021). Perbedaan *microplate reader* dengan spektrofotometer konvensional yaitu pembacaan pada bagian panjang gelombang, *microplate reader* memiliki filter atau kisi difraksi yang membatasi rentang pada berbagai panjang gelombang, panjang gelombang dalam ELISA yaitu antara 400 – 750 nm. Beberapa *microplate reader* bekerja dengan rentang ultraviolet dan analisis dilakukan antara 340 – 700 nm. Sistem optik yang banyak digunakan yaitu menggunakan serat optik untuk menyuplai cahaya pada sumur lempeng mikro yang berisi sampel. Berkas cahaya melewati sampel dengan diameter berkisar antara 1 – 3 mm. Suatu sistem mendeteksi adanya cahaya yang berasal dari sampel, menguatkan sinyal, dan menentukan absorbansi sampel. Selanjutnya sistem pembacaan akan mengubahnya menjadi data yang memungkinkan interpretasi hasil pengujian (Utomo, 2012) .

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2023 - Oktober 2023 bertempat di Laboratorium Riset Biokimia dan Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, pipet tetes, neraca analitik, kertas saring, ayakan *40 mesh*, *aluminium foil*, *magnetic stirrer*, bola hisap, labu ukur 100 mL, penjepit kayu, oven, *hotplate*, botol tutup, corong gelas, spatula, *microplate reader*, dan *ultrasonic assisted extraction*.

3.2.2 Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul dengan jenis beras pertiwi hasil penggilingan padi yang diperoleh dari mesin penggilingan padi di Desa Tasikmadu, Kota Malang, Jawa Timur. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah, akuades, methanol p.a (Smart-LAB), DPPH (1,1-difenil-2-pikril hidrazil), asam sitrat (merck), sukrosa (Himedia), glukosa (merck), gliserol (merck), dan asam askorbat (merck).

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan melalui pengujian eksperimental di Laboratorium. Penelitian ini dirancang dengan rancangan acak kelompok (RAK) yang terdiri dari satu faktor yaitu variasi pelarut yang digunakan yaitu asam sitrat –

sukrosa, asam sitrat – glukosa, dan asam sitrat – gliserol dengan perbandingan mol 5:1. NADES memiliki kelebihan yaitu tidak bersifat volatil dan tidak mudah terbakar, sehingga penyimpanannya lebih mudah.

Sampel bekatul disaring dengan ayakan 40 *mesh*. Serbuk yang telah dipreparasi kemudian diekstraksi dengan *ultrasonic* menggunakan 3 variasi pelarut NADES yaitu asam sitrat – sukrosa, asam sitrat – glukosa, dan asam sitrat – gliserol, dengan lama ekstraksi yaitu 30 menit. Hasil ekstraksi yang diperoleh dipisahkan pelarutnya menggunakan *freeze dry* dengan suhu -55°C . Hasil ekstraksi berbentuk pekat tersebut diperoleh 3 kombinasi perlakuan dengan 3 kali ulangan, sehingga didapatkan 9 satuan percobaan.

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan dengan tiga kali pengulangan

Pengulangan	NADES		
	CASU	CAGU	CAGLY
1	CASU ₁	CAGU ₁	CAGLY ₁
2	CASU ₂	CAGU ₂	CAGLY ₂
3	CASU ₃	CAGU ₃	CAGLY ₃

Keterangan: CASU = Asam sitrat – sukrosa

CAGU = Asam sitrat – glukosa

CAGLY = Asam sitrat – gliserol

Masing-masing hasil ekstrak bekatul yang dihasilkan kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan terhadap DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel
2. Pembuatan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES)

3. Ekstraksi bekatul dengan metode *ultrasound assisted extraction* dengan variasi pelarut NADES
4. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)
5. Analisis data.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel (Moko *et al.*, 2014)

Penelitian ini menggunakan bekatul jenis beras putih dengan varietas IR64 yang merupakan hasil penggilingan padi di Desa Tasikmadu, Kota Malang, Jawa Timur. Bekatul ditimbang sebanyak 40 gram kemudian diayak dengan ukuran 40 *mesh* dan dibungkus dengan *aluminium foil*. Setelah itu, sampel dilakukan inkubasi dengan oven selama 30 menit dengan suhu 100°C kemudian didinginkan pada suhu ruang selama semalaman. Selanjutnya, sampel disimpan dengan suhu 4°C di dalam kulkas untuk analisa lebih lanjut.

3.5.2 Pembuatan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES) (Pertiwi, 2018)

Pelarut NADES yang akan dibuat terdiri dari kombinasi senyawa yakni asam sitrat – sukrosa (CASU) dan asam sitrat – glukosa (CAGU), dan asam sitrat – gliserol (CAGLY) dengan rasio mol yang telah ditentukan yaitu 5:1 M. Selanjutnya, campuran pelarut NADES tersebut ditambahkan akuades 50% (v/v) dan dilakukan pencampuran dengan suhu 80°C dengan dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* 500 rpm hingga diperoleh larutan yang stabil (ditandai dengan campuran tetap bening, tidak mengendap, dan tidak mengkristal atau berubah warna).

Tabel 3.2 Komposisi dan Akronim NADES

No	Komponen 1	Komponen 2	Akronim
1	Asam sitrat	Sukrosa	CASU
2	Asam sitrat	Glukosa	CAGLU
3	Asam sitrat	Gliserol	CAGLY

Tabel 3.3 Komposisi NADES

NADES	Komponen 1	Komponen 2
CASU	Asam Sitrat 74,3153 gram	Sukrosa 25,6847 gram
CAGU	Asam Sitrat 84,6090 gram	Glukosa 15,3909 gram
CAGLY	Asam Sitrat 91,4927 gram	Gliserol 6,7517 mL

3.5.3 Ekstraksi Bekatul dengan Metode Ultrasonik (Martinović *et al.*, 2022)

Ekstraksi pada bekatul menggunakan metode ultrasonik dengan variasi pelarut NADES. Sebanyak 10 gram bekatul diletakkan di Erlenmeyer kemudian dilarutkan dalam campuran pelarut NADES sebanyak 100 mL. Ekstraksi dilakukan dengan ultrasonik dengan suhu 50°C selama 30 menit. Setelah dilakukan ekstraksi, hasil ekstraksi disaring dengan penyaring vacuum hingga filtrat dan residu terpisah. Pada masing-masing filtrat dipekatkan menggunakan alat *freeze dry* pada suhu -55°C untuk mendapatkan ekstrak kental.

Ekstrak kental yang dihasilkan kemudian ditimbang untuk menentukan rendemen. Selanjutnya ekstrak dimasukkan kedalam gelas vial yang dilapisi *aluminium foil* dan disimpan pada suhu 4°C.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel yang digunakan}} \times 100\% \dots\dots\dots 3.1$$

3.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) (Margarita, 2018)

3.5.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Methanol p.a dimasukkan sebanyak 4,5 mL ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1,5 mL, kemudian ditutup tabung reaksi dengan *aluminium foil*. Setelah itu, dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan ditentukan λ_{maks} larutan dengan rentang panjang gelombang 500 – 600 nm dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} yang akan digunakan pada tahap selanjutnya.

3.5.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Sampel ekstrak dibuat dengan konsentrasi 625, 1.250, 2.500, 5.000, dan 10.000 ppm. Pertama dibuat larutan induk 10.000 ppm dengan cara ekstrak sampel diambil sebanyak 100 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a.

Pada pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan 2 plate. Plate pertama dengan sampel CASU, CAGU, dan asam askorbat. Sedangkan plate kedua diisi dengan CAGLY dan kontrol negatif. Uji aktivitas antioksidan dilanjutkan dengan larutan konsentrasi 10.000 ppm. Tiap masing-masing sampel dipipet 100 μ l lalu dimasukkan ke dalam sumur A (*96 well plate*). Sumur pada baris B sampai F dimasukkan metanol p.a sebanyak 50 μ l. Kemudian larutan sampel pada baris A dipipet sebanyak 50 μ l dimasukkan ke dalam sumur B, lalu baris B dipipet kembali sebanyak 50 μ l ke baris C, perlakuan dilakukan berulang hingga baris E dan dipipet 50 μ l kemudian dibuang. Sumur baris A sampai E menunjukkan variasi konsentrasi larutan dengan sumur baris A (10.000 ppm), sumur baris B (5.000 ppm), sumur baris C (2.500 ppm), sumur baris D (1.250 ppm), dan sumur baris E

(625 ppm). Setelah itu dipipet larutan DPPH sebanyak 80 μ l dimasukkan baris A sampai F. Sumur baris F hanya diisi dengan 50 μ l metanol p.a dan 80 μ l larutan DPPH sebagai kontrol. Perlakuan pada ekstrak sampel dilakukan 6 kali pengulangan tiap konsentrasi.

Pengenceran yang telah dilakukan pada (96 well plate) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan ditutup agar bereaksi sempurna, lalu *dishaker* dengan kecepatan 300 rpm selama 1 menit dan diukur absorbansinya pada λ_{maks} yang telah diketahui sebelumnya menggunakan instrument *microplate reader*. Data absorbansi yang diperoleh dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya.

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \dots\dots\dots 3.2$$

Keterangan: A_0 = Absorbansi kontrol

A_1 = Absorbansi sampel

Nilai persen (%) aktivitas antioksidan diperoleh diplotkan masing-masing pada sumbu x dan y dengan persamaan regresi linear $y = a \pm bx$. Persamaan tersebut selanjutnya dihitung nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*) dari masing-masing sampel. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x dengan mengganti nilai y menjadi 50.

Perhitungan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) digunakan untuk mengetahui index aktivitas antioksidan menggunakan rumus:

$$\text{Nilai AAI} = \frac{\text{Konsentrasi DPPH (ppm)}}{IC_{50} \text{ sampel (ppm)}} \dots\dots\dots 3.3$$

Nilai aktivitas antioksidan suatu ekstrak berdasarkan nilai AAI terbagi menjadi 4, yaitu AAI < 0,5 artinya aktivitas antioksidan rendah, AAI 0,5 – 1 artinya aktivitas antioksidan sedang, AAI 1 – 2 artinya aktivitas antioksidan kuat, dan AAI > 2 artinya aktivitas antioksidan sangat kuat (Scherer dan Godoy, 2009).

3.5.4.3 Analisis Data

Data yang diperoleh pada penelitian ini diinterpretasikan berupa bentuk tabel dan grafik. Data yang diperoleh berupa absorbansi-absorbansi dari kontrol, sampel, dan pembanding asam askorbat. Setelah didapatkan data aktivitas antioksidan (%) menggunakan metode DPPH dengan konsentrasi 625, 1.250, 2.500, 5.000, dan 10.000 ppm. Data aktivitas antioksidan ekstrak bekatul dilakukan perbandingan nilai sampel dengan pembanding untuk mengetahui aktivitas antioksidan alami dengan antioksidan sintetis. Pada uji aktivitas antioksidan, nilai IC_{50} diperoleh dari nilai konsentrasi dan persen antioksidan yang dilakukan analisis menggunakan persamaan regresi menggunakan program “*Graphad Prism9 Software*”. Data hasil aktivitas antioksidan dengan pengaruh pelarut NADES dianalisis dengan varian *one ways* ANOVA pada minitab untuk menguji adanya pengaruh perlakuan terhadap aktivitas antioksidan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bekatul dari padi yang berasal dari daerah Tasikmadu, Kota Malang. Proses pengayakan bekatul dilakukan menggunakan ayakan berukuran 40 *mesh*, tujuan pengayakan yaitu untuk memisahkan pengotor dan memperluas permukaan, serta untuk mempermudah kelarutan komponen bioaktif yang ada dan meningkatkan rendemen ekstraksi. Ukuran partikel adalah salah satu faktor yang dapat berpengaruh terhadap ekstraksi. Semakin kecil ukuran partikel maka semakin besar dan luas permukaan kontak padatan dengan pelarut (Asworo dan Widwiasuti, 2023), sehingga semakin efektif proses ekstraksi dan senyawa aktif yang terekstrak akan semakin banyak. Tahap selanjutnya yaitu sampel dioven untuk proses stabilisasi bekatul, stabilisasi bertujuan untuk menginaktifkan kerja enzim lipase pada bekatul yang dapat terjadi akibat adanya lemak yang terkandung dalam bekatul terhidrolisis oleh enzim lipase menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak tersebut kemudian teroksidasi sehingga menyebabkan bekatul cepat busuk dengan mengeluarkan bau tengik. Pengovenan juga bertujuan untuk menurunkan kadar air dari bekatul (Purwanto *et al.*, 2014). Hasil pengeringan 5 kilogram sampel basah menghasilkan 4 kilogram serbuk bekatul berwarna coklat kekuning-kuningan. Hasil dari preparasi dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Preparasi sampel bekatul

4.2 Preparasi Natural Deep Eutectic Solvent (NADES)

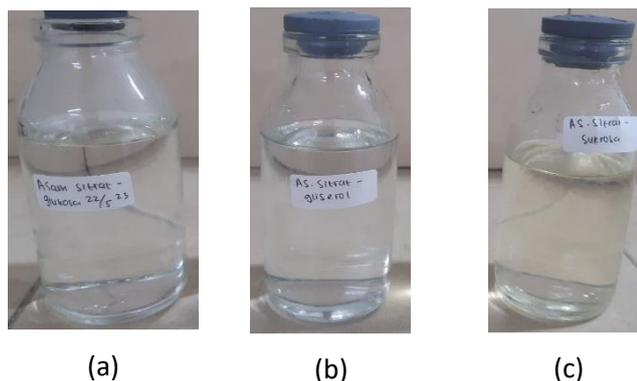
Natural Deep Eutectic Solvent dibuat dengan menggunakan metode pemanasan dan pengadukan menggunakan *hotplate stirrer*. Preparasi NADES dilakukan dengan mencampurkan dua senyawa dengan rasio molar 5:1. Campuran tersebut akan membentuk cairan yang jernih dan mampu menarik senyawa saat proses ekstraksi. Penentuan massa yang ditambahkan dalam pembuatan NADES dilihat melalui berat molekul setiap senyawa, sebagaimana yang telah dipaparan pada bab 3 tabel 3.3.

Preparasi NADES dilakukan dengan menimbang setiap HBA serta HBD yang digunakan. Selanjutnya dilakukan pengadukan dengan konstan dan pemanasan pada suhu 80°C hingga mencapai titik eutektik yang akan membentuk campuran yang kental. Campuran kental ini diakibatkan karena adanya ikatan intermolekular pada NADES. Campuran tersebut kemudian ditambahkan akuades sebanyak 50% hingga terbentuk cairan jernih yang ditandai dengan viskositas yang berkurang. Penambahan akuades bertujuan untuk menurunkan viskositas, sehingga diharapkan kombinasi NADES tersebut mampu menarik senyawa target. Selain itu penambahan akuades juga mempengaruhi interaksi ikatan hidrogen antara kedua komponen (Dai *et al.*, 2015).

Tabel 4.1 Preparasi NADES dan Lama Pembuatannya

Jenis NADES	Rasio molar	Kode	Waktu pembuatan (menit)
Asam Sitrat - Sukrosa	5:1	CASU	180
Asam Sitrat - Glukosa	5:1	CAGU	180
Asam Sitrat - Gliserol	5:1	CAGLY	90

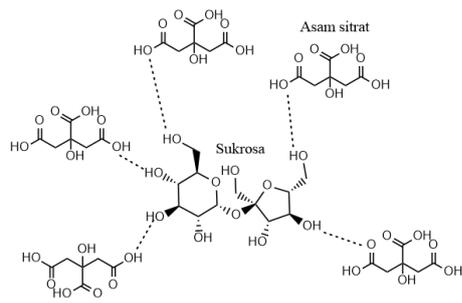
Preparasi NADES menggunakan HBD yang berbeda-beda menghasilkan lama pembentukan yang berbeda-beda. NADES dengan komponen padatan membutuhkan waktu yang lebih lama untuk membentuk NADES yang stabil berupa cairan bening. Hal ini ditunjukkan pada pembentukan CASU dan CAGU yang lebih lama dibandingkan dengan CAGLY. Waktu pembuatan NADES bervariasi disebabkan karena adanya perbedaan waktu yang dibutuhkan oleh masing-masing campuran senyawa untuk mencapai titik eutektik yaitu saat dua komponen senyawa dicampur pada rasio mol dari kedua senyawa dengan titik leleh yang lebih rendah dibandingkan dengan senyawa itu sendiri (Husraini *et al.*, 2020). Energi yang dibutuhkan untuk menurunkan titik leleh dari senyawa padatan seperti asam sitrat, sukrosa, dan glukosa yang memiliki titik leleh tinggi lebih besar dibandingkan energi untuk menurunkan titik leleh gliserol yang rendah. Oleh karena itu, pembuatan NADES dengan asam sitrat-sukrosa dan asam sitrat-glukosa membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan pembuatan NADES asam sitrat-gliserol.



Gambar 4.2 Hasil pembuatan NADES (a) asam sitrat-glukosa (b) asam sitrat-gliserol (c) asam sitrat-sukrosa

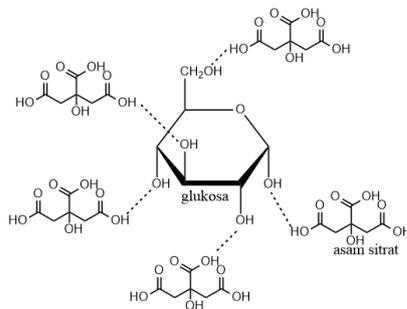
Hasil dari pembuatan NADES dapat dilihat pada Gambar 4.2 NADES dengan kombinasi asam sitrat – sukrosa memiliki cairan yang sedikit kental, jernih, dan sedikit berwarna kekuningan, sedangkan NADES dengan kombinasi asam sitrat – glukosa memiliki cairan yang sedikit kental, jernih, dan tidak berwarna. NADES dengan kombinasi asam sitrat – gliserol memiliki cairan yang jernih dan tidak berwarna. Kekentalan yang tinggi pada NADES salah satunya disebabkan karena adanya ikatan hidrogen yang terbentuk dari campuran HBA dan HBD (Putri, 2022).

NADES adalah campuran dua senyawa atau lebih yang penyusunnya tersebar di alam seperti basa dan asam organik, gula, alkohol, polialkohol, protein, dan asam amino. NADES terbentuk karena adanya interaksi antarmolekul dengan masing-masing senyawa penyusun dalam rasio tertentu (Afandi *et al.*, 2021). Pada penelitian ini NADES dibuat dengan mencampurkan asam organik yaitu asam sitrat dan sukrosa, glukosa, serta gliserol sebagai donor ikatan hidrogen. Sukrosa, glukosa, dan gliserol sebagai HBD saling berinteraksi satu sama lain (pada perbandingan rasio 5:1 M asam sitrat/HBD (sukrosa, glukosa, dan gliserol)) yaitu membentuk ikatan hidrogen.



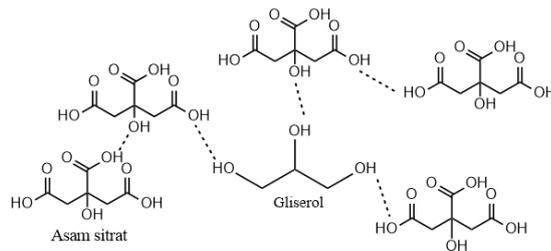
(a)

Prediksi interaksi kombinasi asam sitrat-sukrosa



(b)

Prediksi interaksi NADES kombinasi asam sitrat-glukosa



(c)

Prediksi interaksi NADES kombinasi asam sitrat-gliserol

Gambar 4.3 Prediksi interaksi yang terjadi antara komponen NADES

Berdasarkan analisis chemdraw yang ditunjukkan pada Gambar 4.3 menunjukkan prediksi interaksi NADES dari campuran asam sitrat dengan sukrosa akan membentuk interaksi CH---O, yaitu interaksi antara oksigen dari asam sitrat sebagai HBA dengan hidrogen pada sukrosa sebagai HBD. Sedangkan NADES dari campuran asam sitrat dengan glukosa akan membentuk interaksi CH---O, interaksi terjadi antara oksigen dari asam sitrat sebagai HBA dengan hidrogen pada glukosa sebagai HBD. NADES campuran asam sitrat dengan gliserol akan membentuk interaksi CH---O, interaksi terjadi antara oksigen dari asam sitrat sebagai HBA dengan hidrogen pada gliserol sebagai HBD.

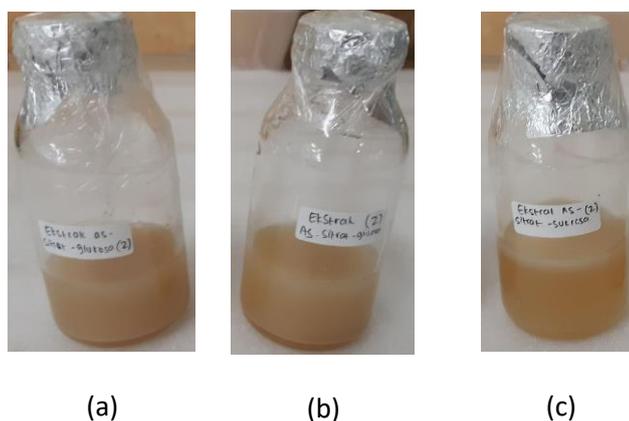
Ikatan hidrogen dapat terjadi jika ada interaksi tarik menarik antara atom yang memiliki elektronegatif tinggi dengan hidrogen yang terikat pada atom lain yang juga bersifat elektronegatif. Atom yang memiliki elektronegatif tinggi yaitu N, F, Cl, dan O (Aini, 2017). Sehingga pada NADES ini akan membentuk ikatan hidrogen karena adanya interaksi antara H pada HBD dengan O pada HBA, dimana O adalah unsur pada golongan VI A yang memiliki keelektronegatifan besar yaitu 3,44.

4.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE)

Senyawa metabolit sekunder pada bekatul dapat diperoleh dengan cara ekstraksi. Metode ekstraksi senyawa metabolit sekunder yang digunakan pada penelitian ini yaitu menggunakan metode *ultrasound assisted extraction*. Metode ini memanfaatkan energi ultrasonik dan penggunaan pelarut yang dapat membantu proses ekstraksi dari bekatul. Prinsip kerja metode *ultrasound assisted extraction* berdasarkan gelombang ultrasonik yang akan menginduksi perpindahan dan

pelepasan senyawa yang akan mengakibatkan dinding sel tanaman mengalami gangguan selama kavitasi, sehingga senyawa target dalam sampel mudah larut dalam pelarutnya. Ekstraksi menggunakan metode ultrasonik memiliki keuntungan diantaranya waktu ekstraksi dan pelarut yang sedikit, serta menurunkan kemungkinan degradasi termal dari senyawa bioaktif (Putri, 2018).

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder menggunakan metode ultrasonik menggunakan 3 jenis NADES berbasis asam sitrat dengan HBD dari senyawa yang berbeda. Penelitian ini menggunakan pelarut NADES dan sampel dengan perbandingan 1:10. Penggunaan pelarut NADES bertujuan untuk memaksimalkan proses ekstraksi senyawa target pada sampel yang disebabkan adanya interaksi ikatan hidrogen antara molekul NADES dengan senyawa target. Pada pelarut NADES terdapat gugus fungsional yang terlibat pada ikatan hidrogen yaitu gugus hidroksil dan gugus karboksilat yang banyak terdapat pada NADES, sementara gugus hidroksil juga terdapat pada senyawa fenolik.



Gambar 4.4 Filtrat hasil ekstraksi bekatul (a) asam sitrat-glukosa (b) asam sitrat-gliserol (c) asam sitrat-sukrosa

Ekstraksi bekatul menggunakan 3 jenis pelarut NADES dengan HBD yang berbeda menghasilkan hasil yang berbeda. Ekstraksi dilakukan selama 30 menit.

Filtrat hasil penyaringan berwarna coklat kekuningan pada sampel CASU, sedangkan pada sampel CAGU dan CAGLY didapatkan filtrat berwarna coklat muda pudar. Berdasarkan hasil filtrat yang didapatkan, dapat diketahui bahwa hasil filtrat pada sampel CASU memiliki warna yang lebih pekat dibandingkan dengan CAGU dan CAGLY. Perbedaan warna filtrat yang dihasilkan diduga karena adanya perbedaan banyaknya senyawa antioksidan yang dapat terekstrak pada variasi NADES yang digunakan. Ketika warna filtrat yang dihasilkan tidak pekat atau pudar hal ini dapat disebabkan karena sedikitnya senyawa fenolik yang terlarut dalam sampel (Amperawati *et al.*, 2019). Filtrat hasil ekstraksi kemudian dipekatkan menggunakan *freeze dryer*.

Freeze drying adalah metode pengeringan yang menerapkan prinsip sublimasi, yaitu bahan dibekukan lebih dahulu dan kemudian air dikeluarkan dari bahan secara sublimasi dalam kondisi tekanan vakum (Ratnaningsih *et al.*, 2017). Prinsip *freeze drying* yaitu dengan proses pembekuan ekstrak yang kemudian dilanjutkan dengan pengeringan yaitu dengan memisahkan hampir sebagian air dalam ekstrak melalui proses sublimasi. Proses pengeringan dilakukan dengan vakum, berlangsung pada saat bahan sudah dalam keadaan beku kemudian dihilangkan airnya dengan mengubahnya dari bentuk beku (es) ke bentuk gas (uap air) (Anna R *et al.*, 2013). Proses sublimasi dapat terjadi jika suhu dan tekanan ruang sangat rendah yaitu dibawah *triple point*. Proses *freeze drying* terjadi pada suhu dingin yaitu -55°C selama 4 hari. Setelah dipekatkan, dihitung rendemen ekstrak yang diperoleh. Hasil rendemen ekstrak bekatul ditunjukkan pada Tabel 4.2.

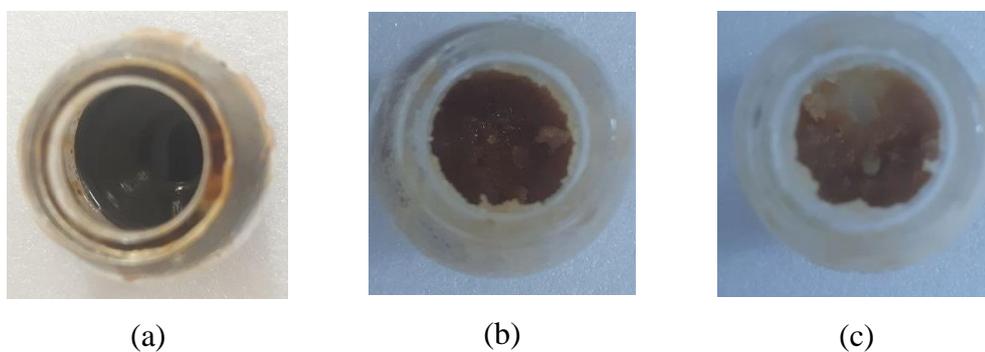
Tabel 4. 2 Rendemen ekstrak bekatul

Pelarut	Rendemen (%)			Rata-Rata (%)	Warna Ekstrak Pekat
	1	2	3		
CASU (Asam sitrat – sukrosa)	16,17	18,21	18,45	17,61±1,25	Coklat kehitaman
CAGU (Asam sitrat – Glukosa)	7,97	11,73	13,72	11,14±2,92	Coklat
CAGLY (Asam sitrat – gliserol)	7,75	11,12	12,95	10,61±2,64	Coklat

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui bahwa ekstrak CASU menghasilkan rendemen tertinggi sebesar 17,61%, nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya (Senduk *et al.*, 2020). Nilai rendemen yang besar terjadi karena senyawa-senyawa metabolit sekunder berada dalam bentuk glikosida. Glikosida yaitu senyawa yang terbentuk dari gugus non-gula (aglikon) dan gugus gula (glikon). Senyawa metabolit sekunder sebagai aglikon yang berikatan dengan gugus gula sehingga cenderung bersifat polar karena adanya gugus –OH (Fessenden dan Fessenden, 1982).

Ekstraksi bekatul menggunakan 3 jenis pelarut NADES dengan HBD yang berbeda menghasilkan rendemen yang berbeda. Hasil rendemen yang berbeda disebabkan karena perbedaan struktur senyawa pada komponen variasi pelarut NADES yang digunakan, dimana HBD yang berbeda memiliki kemampuan yang berbeda dalam berinteraksi dengan senyawa antioksidan pada ekstrak bekatul. Pada CASU terdapat 8 gugus hidroksil pada senyawa sukrosa yang digunakan sebagai

HBD, sedangkan pada CAGU terdapat 6 gugus hidroksil pada senyawa glukosa yang digunakan sebagai HBD, dan pada CAGLY terdapat 3 gugus hidroksil pada senyawa gliserol yang digunakan sebagai HBD. Banyaknya gugus hidroksil akan meningkatkan kelarutan senyawa fenolik dalam NADES tersebut. Menurut Suhendra *et al.*, (2019) gugus hidroksil akan berikatan dengan gugus hidrogen dengan senyawa fenolik yang dapat meningkatkan kelarutan senyawa fenolik dalam pelarut, apabila gugus hidroksil semakin banyak maka dapat meningkatkan kelarutan senyawa fenolik dalam pelarut tersebut yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Sehingga dapat diketahui bahwa CASU memiliki gugus hidroksil yang lebih banyak dibandingkan dengan CAGU dan CAGLY yang dapat menyebabkan kelarutan senyawa fenolik dalam sampel CASU lebih tinggi sehingga rendemen yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan CAGU dan CAGLY. Hasil ekstrak pekat NADES bekatul dapat dilihat pada Gambar 4.3

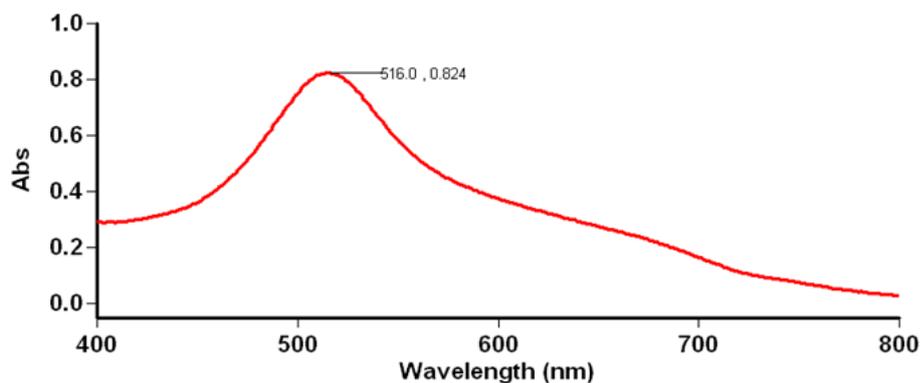


Gambar 4.5 Ekstrak pekat bekatul hasil ultrasonik variasi NADES (a) asam sitrat-sukrosa (b) asam sitrat-gliserol (c) asam sitrat-glukosa

4.4. Uji Aktivitas Antioksidan

4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)

Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak bekatul diawali dengan proses pengukuran panjang gelombang maksimal DPPH yang akan digunakan untuk mengukur seberapa besar kemampuan ekstrak bekatul sebagai antioksidan. Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk memperoleh absorbansi sampel agar berada pada panjang gelombang maksimum sehingga didapatkan hasil yang maksimal (Anngela *et al.*, 2021). Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal larutan DPPH 0,2 mM ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.6 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM

Gambar 4.4 merupakan hasil pengukuran dari penentuan panjang gelombang maksimal DPPH 0,2 mM yang akan digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak bekatul, hasil penentuan panjang gelombang maksimal didapatkan hasil 516 nm. Pengukuran sampel uji aktivitas antioksidan harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar didapatkan kepekaan yang maksimal dan meminimalkan kesalahan, karena pada panjang gelombang maksimal

tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar. Warna komplementer pada radikal bebas DPPH yaitu berwarna ungu dan memberikan panjang gelombang maksimum pada panjang gelombang 515 – 520 nm (Hasan *et al.*, 2022).

4.4.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Bekatul

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bekatul dilakukan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 516 nm yaitu panjang gelombang maksimum untuk metode DPPH yang digunakan. Sampel diuji menggunakan variasi konsentrasi 10.000 ppm; 5.000 ppm; 2500 ppm; 1.250 ppm; dan 625 ppm dengan waktu inkubasi 30 menit pada suhu 37°C. Pada suhu tersebut terjadi reaksi antara radikal bebas dengan senyawa metabolit sekunder pada sampel yang dapat berlangsung lebih optimal. Pada saat sampel bereaksi dengan DPPH akan mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang disebabkan karena adanya donor atom H pada DPPH sehingga akan membentuk 1,1-difenil-2-picrylhydrazine (DPPH-H) (Khairunnisa, 2021).

Uji aktivitas antioksidan larutan ekstrak sampel dan larutan kontrol diuji menggunakan *instrument microplate reader (96 well plate)*. Uji ini diawali dengan pengenceran konsentrasi larutan sampel dengan metanol p.a dan ditambahkan larutan DPPH. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit untuk terjadinya reaksi pendonoran terhadap radikal bebas yang optimal, sehingga akan terjadi perubahan warna dari ungu menjadi degradasi ungu muda hingga kuning. Namun pada penelitian ini tidak terjadi perubahan warna hingga kuning dikarenakan beberapa faktor yaitu komposisi antioksidan dalam ekstrak sampel yang kurang efektif dalam

mereduksi DPPH, sehingga larutan tetap berwarna ungu tanpa terjadi perubahan warna yang terlihat. Faktor lainnya yaitu reaksi antara senyawa antioksidan dengan DPPH yang membutuhkan waktu lama untuk mencapai perubahan warna yang teramati. Oleh karena itu, perubahan warna kuning mungkin terjadi setelah waktu yang lebih lama atau membutuhkan kondisi khusus, seperti suhu tertentu. Perubahan warna DPPH bukan merupakan satu-satunya indikator aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} dan AAI yang baik dapat menunjukkan bahwa sampel memiliki kemampuan menghambat oksidasi DPPH, meskipun perubahan warna tidak teramati dengan visual.

Uji aktivitas antioksidan selanjutnya menggunakan *96 well plate* yang kemudian dishaker dengan kecepatan 300 rpm selama 1 menit menggunakan *microplate reader* untuk proses pencampuran bahan menjadi homogen, sehingga DPPH dapat bereaksi secara maksimal dengan larutan sampel serta metanol p.a dan tahap terakhir yaitu pembacaan nilai absorbansi. Hasil pengujian % aktivitas antioksidan, nilai IC_{50} , dan AAI ekstrak bekatul dari berbagai sampel ditunjukkan pada Tabel 4.3

Tabel 4. 3 Data hasil % aktivitas antioksidan, nilai IC₅₀, dan AAI ekstrak bekatul

NO	Sampel	Aktivitas Antioksidan (%)	IC ₅₀ (ppm)	AAI (ppm)
Ekstrak CASU (Asam sitrat-sukrosa)				
1	625 ppm	22,411±12,35	4.256	0,0188
	1250 ppm	24,143±16,60		
	2500 ppm	32,58±18,60		
	5000 ppm	63,804±0,87		
	10000 ppm	61,959±8,51		
Ekstrak CAGU (Asam sitrat-glukosa)				
2	625 ppm	12,392±5,33	7.013	0,0114
	1250 ppm	13,748±5,54		
	2500 ppm	28,399±10,88		
	5000 ppm	53,032±10,63		
	10000 ppm	51,111±5,20		
Ekstrak CAGLY (Asam sitrat-gliserol)				
3	625 ppm	1,544±2,58	36.976	0,0022
	1250 ppm	1,657±5,49		
	2500 ppm	2,524±1,26		
	5000 ppm	6,026±4,27		
	10000 ppm	14,162±6,09		
Asam Askorbat				
4	625 ppm	90,923±2,94	0,0001924	415,8
	1250 ppm	92,844±1,32		
	2500 ppm	93,07±1,14		
	5000 ppm	93,07±1,04		
	10000 ppm	93,296±0,62		

Tabel 4. 4 Data hasil % aktivitas antioksidan NADES

NADES	Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)
Asam sitrat-sukrosa	1000000	63,616±1,12
Asam sitrat-glukosa	1000000	21,036±2,21
Asam sitrat-gliserol	1000000	18,324±0,03

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat diketahui nilai IC₅₀ ekstrak NADES asam sitrat-sukrosa, asam sitrat-glukosa, dan asam sitrat-gliserol berturut-turut sebesar 4.256 ppm (AAI = 0,0188 ppm) yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang

sangat lemah karena memiliki nilai $IC_{50} > 200$ ppm dan nilai $AAI < 0,5$ ppm untuk sampel ekstrak NADES asam sitrat – sukrosa. Selanjutnya untuk sampel ekstrak NADES asam sitrat – glukosa dihasilkan nilai IC_{50} sebesar 7.013 ppm ($AAI = 0,0114$ ppm) yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah karena memiliki nilai $IC_{50} > 200$ ppm dan nilai $AAI < 0,5$ ppm. Sampel ekstrak NADES asam sitrat – gliserol menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 36.976 ppm ($AAI = 0,0022$ ppm) yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah karena memiliki nilai $IC_{50} > 200$ ppm dan nilai $AAI < 0,5$ ppm.

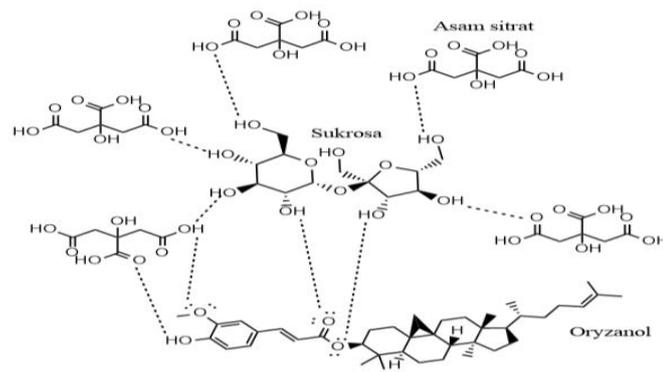
Pengujian nilai IC_{50} yang dihasilkan oleh sampel ekstrak NADES berpotensi sebagai antioksidan, namun nilai IC_{50} yang dihasilkan sangat lemah. Aktivitas antioksidan akan meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi. Hal tersebut terjadi karena semakin tingginya konsentrasi maka semakin banyak senyawa aktif yang mendonorkan atom H pada radikal DPPH sehingga terbentuknya senyawa DPPH-H yang stabil. Berdasarkan hasil yang didapat pada penelitian ini aktivitas antioksidan tertinggi pada sampel ekstrak CASU didapatkan nilai optimal aktivitas antioksidan tertinggi pada konsentrasi 5.000 ppm dengan nilai 63,804%, sedangkan pada sampel ekstrak CAGU didapatkan nilai optimal aktivitas antioksidan tertinggi pada konsentrasi 5.000 ppm dengan nilai 53,032%. Namun hal tersebut tumpang tindih dengan hasil yang ada dimana pada sampel ekstrak CASU dan CAGU 5.000 ppm memiliki persen antioksidan tertinggi (63,804%) dan (53,032%) dibanding larutan konsentrasi 10.000 ppm (61,959%) dan (51,111%), penurunan aktivitas antioksidan pada konsentrasi 10.000 ppm diduga karena senyawa antioksidan tidak optimal dalam menstabilkan radikal bebas sehingga kemungkinan yang terjadi adalah senyawa bersifat prooksidan (Membri *et al.*, 2021). Hal tersebut sesuai

dengan yang dikemukakan Gordon (1990) yang menyatakan bahwa konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan. Sedangkan pada sampel ekstrak CAGLY didapatkan nilai optimal aktivitas antioksidan tertinggi pada konsentrasi 10.000 ppm dengan nilai 14,162%.

Untuk mengetahui seberapa besar nilai aktivitas antioksidan suatu senyawa diperlukan pembandingan sebagai kontrol positifnya. Pada penelitian ini asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif. Hasilnya yaitu asam askorbat memiliki nilai IC_{50} sebesar 0,0001924 ppm ($AAI = 415.800,4158$ ppm) yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena memiliki nilai $IC_{50} < 50$ ppm dan nilai $AAI > 2,0$ ppm. Penggunaan asam askorbat sebagai kontrol positif bertujuan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan sudah benar. Untuk mengetahui apakah pelarut yang digunakan dalam penelitian memiliki pengaruh terhadap aktivitas antioksidan pada masing-masing ekstrak NADES bekatul diperlukan pelarut NADES sebagai kontrol negatifnya.

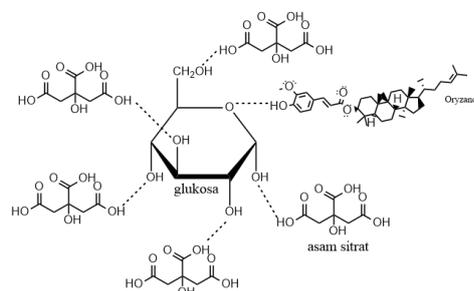
Berdasarkan Tabel 4.4 dapat diketahui nilai aktivitas antioksidan pada pelarut NADES asam sitrat-sukrosa, asam sitrat-glukosa, dan asam sitrat-gliserol berturut-turut sebesar 64,407%, 22,599%, dan 18,343% dengan konsentrasi 1000000 ppm. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa pada pelarut yang digunakan terdapat aktivitas antioksidan meskipun aktivitas antioksidan yang dihasilkan masih rendah. Adanya aktivitas antioksidan pada pelarut tersebut dikarenakan terdapat gugus hidroksil yang dapat berperan dalam menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga menjadi senyawa non

radikal yang stabil (Maanari *et al.*, 2014). Perbedaan aktivitas antioksidan yang dihasilkan disebabkan perbedaan jumlah gugus hidroksil pada pelarut, pada NADES asam sitrat-sukrosa memiliki 8 gugus hidroksil yang lebih banyak dibandingkan dengan NADES asam sitrat-glukosa yang berjumlah 6 gugus hidroksil, dan asam sitrat-gliserol yang berjumlah 3 gugus hidroksil. Apabila gugus hidroksil lebih dari satu maka aktivitas antioksidan akan meningkat, karena adanya aktivitas penangkap radikal bebas oleh gugus hidroksil (Christalina *et al.*, 2018).



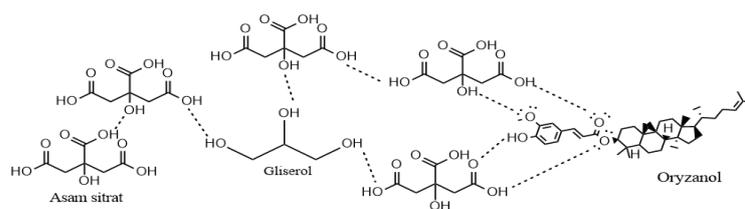
(a)

Interaksi NADES asam sitrat-sukrosa dengan senyawa fenolik bekatul



(b)

Interaksi NADES asam sitrat-glukosa dengan senyawa fenolik bekatul



(c)

Interaksi NADES asam sitrat-gliserol dengan senyawa fenolik bekatul

Gambar 4.7 Dugaan interaksi yang terjadi antara NADES dengan senyawa fenolik pada bekatul.

Berdasarkan analisis chemdraw yang ditunjukkan pada Gambar 4.7 menunjukkan dugaan reaksi yang terjadi ketika ekstrak bekatul dalam NADES. Bekatul mengandung senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan. Senyawa fenolik ini mengandung gugus $-OH$ yang berinteraksi dengan NADES. NADES memiliki gugus hidroksil yang dapat berikatan dengan gugus hidrogen dari gugus hidroksil pada senyawa fenolik yang dapat meningkatkan kelarutan senyawa fenolik dalam NADES. Pada penelitian ini NADES dengan HBD yang berbeda yaitu sukrosa, glukosa, dan gliserol memiliki struktur dan jumlah gugus hidroksil yang berbeda-beda. NADES dengan sukrosa sebagai HBD memiliki 8 gugus hidroksil, sedangkan NADES dengan glukosa sebagai HBD memiliki 6 gugus hidroksil, dan NADES dengan gliserol sebagai HBD memiliki 3 gugus hidroksil. Beberapa senyawa memiliki kepolaran yang berbeda-beda bergantung pada jumlah dan posisi gugus hidroksilnya, apabila gugus hidroksil lebih dari satu maka dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Suhendra *et al.*, 2019). Banyaknya gugus hidroksil yang terdapat pada NADES CASU menyebabkan tingginya aktivitas antioksidan pada ekstrak tersebut dibandingkan dengan CAGU dan CAGLY yang memiliki gugus hidroksil yang lebih sedikit.

Hasil uji aktivitas antioksidan yang dilakukan dapat diketahui bahwa ekstrak NADES berbasis asam sitrat dengan HBD yang berbeda yaitu sukrosa, glukosa, dan gliserol memiliki nilai aktivitas antioksidan yang sangat lemah diduga faktor yang menyebabkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah pada ekstrak bekatul adalah senyawa fenolik yang terdapat dalam ekstrak bekatul diduga masih dalam keadaan yang tidak murni. Selain itu, aktivitas antioksidan yang sangat lemah diduga disebabkan karena senyawa tersebut masih dalam keadaan tidak murni karena adanya pengotor. Pengotor contohnya seperti klorofil, mineral, pelarut yang tidak dipisahkan dari ekstrak, dan lain-lain. Keberadaan pengotor pada ekstrak dapat mengurangi kadar senyawa aktif dalam ekstrak (Fauziah *et al.*, 2021), sehingga perlu dilakukan proses penghilangan pengotor dengan harapan agar didapat nilai AAI dari senyawa spesifik yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak CAGLY (asam sitrat-gliserol) lebih lemah dibandingkan dengan ekstrak CASU dan CAGU. Hal tersebut menunjukkan bahwa NADES asam sitrat-gliserol tidak dapat mengeskrak senyawa fenolik dengan baik yang diduga karena sukar mendonorkan atom H ke senyawa radikal bebas karena sedikitnya kandungan atom H pada ekstrak bekatul CAGLY. Pada NADES asam sitrat-gliserol hanya memiliki gugus hidroksil yang berjumlah tiga, sehingga lebih sedikit dibandingkan dengan asam sitrat-sukrosa dan asam sitrat-gliserol, sehingga aktivitas antioksidan yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak CASU dan CAGU.

Ekstrak sampel dalam NADES CASU menghasilkan nilai IC_{50} lebih rendah dibandingkan dengan NADES lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa NADES CASU dapat mengeskrak senyawa fenolik lebih baik. Sukrosa merupakan senyawa

polar, sehingga lebih mudah berinteraksi dengan senyawa polar yang ada pada bekatul, akibatnya semakin banyak senyawa aktif yang terekstrak dan terjadi interaksi gaya *van der waals*. Banyaknya senyawa aktif yang terekstrak terjadi karena senyawa memiliki polaritas tinggi (bersifat polar) yang akan cenderung lebih mudah berinteraksi dengan senyawa yang memiliki kepolaran tinggi. Hal ini sesuai dengan teori "*like dissolve like*", dimana suatu senyawa akan lebih mudah berinteraksi dengan senyawa yang memiliki polaritas serupa karena memiliki gaya intermolekular yang serupa. Hal tersebut membuat senyawa aktif pada bekatul yang terekstrak pada NADES CASU lebih banyak dibandingkan dengan NADES lainnya.

Penelitian Ahmad dan Prabowo, (2020) melaporkan nilai total fenolik pada sampel daun kadamba dengan NADES asam sitrat-glukosa sebesar 314,924 mg GAE/g. Pertiwi (2018) menghasilkan nilai total fenolik pada sampel biji kopi hijau arabika dengan NADES asam sitrat-sukrosa sebesar 87,01 mg GAE/g. Kurtulbaş *et al.*, (2022) melaporkan nilai total fenolik pada *Hisbiscus sabdariffa* dengan NADES asam sitrat-gliserol sebesar 31,897 mg GAE/g. Semakin tinggi total fenolik maka menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi atau kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam sampel sangat kuat dalam menangkal radikal bebas (Gultom *et al.*, 2021). Beberapa data tersebut menunjukkan bahwa hasil uji antioksidan pada ekstrak sampel yang menggunakan pelarut NADES memiliki potensi antioksidan yang dapat digunakan dalam menangkal radikal bebas dengan keunggulan NADES yang merupakan pelarut yang tidak berbahaya sehingga dapat mengikuti konsep kimia hijau yaitu usaha untuk mengurangi dampak lingkungan yang dihasilkan dari

proses kimia, mengurangi pemakaian atau produksi bahan berbahaya yang dapat mengganggu kesehatan makhluk hidup dan pelestarian lingkungan.

Hasil aktivitas antioksidan ekstrak bekatul dilakukan uji statistic dengan analisis varian (ANOVA) *One way*. Uji statistik bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh dari variasi pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak bekatul. Berdasarkan hasil analisa statistik aktivitas antioksidan ekstrak bekatul ditunjukkan dalam Tabel 4.5.

Tabel 4. 5 Hasil analisa statistik aktivitas antioksidan bekatul dengan pelarut

NADES

Difference of Levels	Difference of Means	SE of Difference	95% CI	T-Value	Adjusted P-Value
CAGU - CAGLY	27,53	6,38	(14,66; 40,40)	4,32	0,000
CASU - CAGLY	36,89	6,38	(24,03; 49,76)	5,79	0,000
CASU - CAGU	9,36	6,38	(-3,50; 22,23)	1,47	0,149

Berdasarkan hasil analisa varians (ANOVA) *one way*, diperoleh nilai p-value pada variabel CAGU-CAGLY sebesar 0,000 menunjukkan bahwa nilai signifikansi $< 0,05$, sehingga dapat diperoleh keputusan H_0 ditolak. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan CAGU dan CAGLY tidak sama. Selanjutnya pada interaksi variabel CASU-CAGLY didapatkan p-value sebesar 0,000 sehingga diperoleh keputusan H_0 ditolak, dimana menunjukkan bahwa kemampuan CASU dan CAGLY tidak sama. Kemudian pada interaksi variabel CASU-CAGU didapatkan p-value 0,149 yang menunjukkan bahwa nilai signifikansi $> 0,05$, sehingga diperoleh keputusan H_0 diterima yang berarti kemampuan ekstrak CASU dan CAGU pada aktivitas antioksidan ekstrak bekatul adalah tidak berbeda nyata. Aktivitas antioksidan pada ekstrak CASU dan CAGU tidak berbeda nyata karena banyaknya gugus hidroksil yang hampir sama, sehingga memiliki interaksi yang

serupa dalam mengikat senyawa antioksidan yang ada pada bekatul, sehingga aktivitas antioksidan yang dihasilkan pada keduanya tidak berbeda nyata.

4.5 Pemanfaatan Senyawa Antioksidan dalam Perspektif Islam

Segala sesuatu yang ada di bumi dan seluruh alam semesta beserta isinya merupakan tanda keesaan dan keagunganNya. Allah Swt. menciptakan alam semesta beserta isinya yang masing-masing memiliki manfaat. Kekuasaan Allah Swt. yang begitu besar merupakan tanda bagi manusia tentang adanya sang Maha pencipta. Hikmah yang ingin diberikan Allah Swt. terhadap makhlukNya yaitu dengan mengingatNya, memikirkan tentang penciptaanNya, serta bersyukur kepadaNya. Allah Swt. berfirman dalam Al-Qur'an surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَالْأَرْضِ رَوَاسِيَ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا
مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “ *Dia menciptakan langit tanpa tiang (seperti) yang kamu lihat dan meletakkan di bumi gunung-gunung (yang kukuh) agar ia tidak mengguncangkanmu serta menyebarkan padanya (bumi) segala jenis makhluk bergerak. Kami (juga) menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami menumbuhkan padanya segala tumbuhan yang baik*” (QS. Luqman (31):10).

Berdasarkan penjelasan ayat di atas sebagaimana dalam tafsir *Muyassar* ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah Swt. menciptakan langit dan meninggikan dari bumi tanpa tiang seperti yang dilihat oleh manusia, yang kemudian menciptakan gunung-gunung agar bumi seimbang dan tidak terguncang. Allah Swt. menurunkan air hujan dari awan yang rasanya tawar untuk menyuburkan tanah (Qarni, 2007). Dalam tafsir *Al Quranul Majid An-Nuur* menjelaskan bahwa tanah air yang subur

itulah tumbuh beraneka tumbuhan yang memiliki banyak manfaat (Ash Shiddieqy, 2000). Tanaman yang mudah menyesuaikan diri pada kondisi ini adalah bekatul.

Bekatul adalah hasil samping pada proses penggilingan padi menjadi beras. Bekatul mengandung karbohidrat, protein, mineral, lemak, vitamin B kompleks, serta mengandung senyawa bioaktif seperti oryzanol, asam ferulat, asam kumarat, asam fitat, vitamin E, fitosterol, dan karotenoid (Henderson *et al.*, 2012). Allah Swt. menciptakan alam semesta dan seisinya ini tidak ada yang sia-sia diantaranya sebagai salah satu sumber yang hasilnya dapat dimanfaatkan untuk kemaslahatan umat manusia. Bekatul berasal dari limbah penggilingan padi yang dapat dimanfaatkan sebagai obat untuk manusia. Sebagaimana Allah Swt. berfirman dalam Al-Qur'an surat Asy-Syu'ara ayat 80:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ۝

Artinya: “Apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkanku” (QS.Asy-Syu'ara (26):80).

Surat asy-Syu'ara dalam tafsir *Muyassar* menjelaskan bahwa Allah Swt. berfirman bila aku (manusia) sakit, tidak ada yang mampu menyembuhkanku dari penyakit kecuali Allah Yang Maha Esa. Dialah yang memberi penyakit dan menurunkan obat (Al-Qarni, 2007). Segala penyakit yang diberikan oleh Allah Swt., pasti terdapat obat atau penawarnya yang diberikan olehNya bahkan manusia tidak menyadarinya. Sebagian masyarakat tidak menyadari limbah yang dihasilkan dari penggilingan padi yaitu bekatul memiliki potensi sebagai antioksidan yang dapat mencegah reaksi oksidasi atau radikal bebas dalam tubuh, antioksidan mampu menghambat reaktivitas radikal bebas. Antioksidan akan bereaksi dengan oksidan

untuk menghambat oksidasi pada sel-sel tubuh yang disebabkan oleh radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit karsinogenik dan penuaan.

Dalam penelitian ini telah dikaji aktivitas antioksidan bekatul dalam pelarut NADES berbasis asam sitrat. Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan bahwa nilai aktivitas antioksidan tertinggi ekstrak NADES asam sitrat-sukrosa, asam sitrat-glukosa, dan asam sitrat-gliserol berturut-turut sebesar 63,804%; 53,032%; dan 14,162%. Selanjutnya nilai AAI ekstrak NADES asam sitrat-sukrosa, asam sitrat-glukosa, dan asam sitrat-gliserol berturut-turut sebesar 0,0188; 0,0114; dan 0,0022 ppm yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan lemah. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh aktivitas antioksidan tertinggi pada ekstrak sampel dalam pelarut NADES asam sitrat-sukrosa dengan nilai IC_{50} dan AAI sebesar 4.256 ppm dan 0,0188 ppm dengan aktivitas antioksidan tertinggi pada konsentrasi 5.000 ppm menghasilkan aktivitas antioksidan sebesar 63,804%.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan ekstrak bekatul memiliki aktivitas antioksidan, IC_{50} dan AAI pada pelarut NADES asam sitrat-sukrosa, asam sitrat-glukosa, dan asam sitrat-gliserol berturut-turut sebesar 63,804%, 4.256 ppm (AAI = 0,0188 ppm) pada konsentrasi 5.000 ppm ; 53,032%, 7.013 ppm (AAI = 0,0114 ppm) pada konsentrasi 5.000 ppm, dan 14,162% 36.976 ppm (AAI = 0,0022 ppm) pada konsentrasi 10.000 ppm yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan sangat lemah.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan terkait pemurnian senyawa antioksidan pada ekstrak bekatul menggunakan metode hidrolisis dan partisi menggunakan kromatografi kolom menggunakan eluen n-heksana:aseton, sehingga dapat meningkatkan nilai aktivitas antioksidan.
2. Perlu dilakukan uji fitokimia pada ekstrak, seperti uji total fenol untuk mengetahui jumlah fenol yang terdapat pada sampel ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Afandi, F., Siregar, V. O. dan Ahmad, I. 2021. Uji Toksisitas Ekstrak Berbasis NADES dari Daun Kadamba (*Mitragyna Speciosa* Korth) Terhadap Mencit (*Mus Musculus*). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. pp. 135–138. Available at: <http://prosiding.farmasi.unmul.ac.id/index.php/mpc/article/view/416/399>.
- Ahmad, I. dan Prabowo, W. C. 2020. Optimasi Metode Ekstraksi Berbantu Mikrowave Dengan Pelarut Hijau (Asam Sitrat-Glukosa) Terhadap Kadar Polifenol Total Dari Daun Kadamba (*Mitragyna Speciosa* Korth. Havil) Menggunakan Response Surface Methodology. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 24(1), pp. 11–16. doi: 10.20956/mff.v24i1.9456.
- Ahriani. 2021. Analisis Nilai Absorbansi Pada Penentuan Kadar Flavonoid Daun Jarak Merah (*Jatropha Gossypifolia* L.). *Skripsi*. Makassar: Jurusan Fisika Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Aini, H. 2017. Purifikasi Biodiesel Dari Minyak Dedak Padi Menggunakan Deep Eutectic Solvent : Pengaruh Rasio Molar Kolin Klorida Dan Etilen Glikol Terhadap Kemurnian Dan Yield Biodiesel. Surabaya: Departemen Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Al-Qarni, ‘Aidh. 2007. *Tafsir Muyasar*. Jakarta: Qitshi Press.
- Al-Utsaimin, S. 2008. *Tafsir Juz’Amma*. Solo: At-Tibyan.
- Alcalde, R. *et al.* 2019. An Experimental And Theoretical Investigation Of The Physicochemical Properties On Choline Chloride – Lactic Acid Based Natural Deep Eutectic Solvent (NADES). *Journal of Molecular Liquids*, 290, p. 110916. doi: 10.1016/j.molliq.2019.110916.
- Amperawati, S. *et al.* 2019. Efektifitas Frekuensi Ekstraksi Serta Pengaruh Suhu dan Cahaya Terhadap Antosianin dan Daya Antioksidan Ekstrak Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(1), pp. 38–45. doi: 10.17728/jatp.3527.
- Ananda, B. P. 2022. Pengaruh Metode Ekstraksi Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Streptococcus Mutans*. *Skripsi*. Jember: Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr.Soebandi.
- Andriani, D. dan Murtisiwi, L. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) dari Daerah Sleman dengan Metode DPPH. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 17(1), pp. 70–76. doi: 10.23917/pharmacon.v17i1.9321.

- Anngela, O., Muadifah, A. dan Nugraha, D. P. 2021. Validasi Metode Penetapan Kadar Boraks pada Kerupuk Puli Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(4), pp. 375–381. doi: 10.25026/jsk.v3i4.258.
- Ash-Shiddieqy., M. Hasbi, dan Tengku. 2000. Tafsir Al Quranul Majid An-Nuur. Semarang: Pustaka Rizki Putra.
- Asworo, R. Y. dan Widwiastuti, H. 2023. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education (e-Journal)*, 3(2), pp. 2775–3670. doi: 10.37311/ijpe.v3i2.19906.
- Bahreisy, H Salim dan Bahreisy, H. Said. 1994. *Terjemahan Singkat Tafsir Ibnu Katsier Jilid 7*. Kuala Lumpur: Victory Agencie.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant Determination By The Use of a Stable Free Radical, *Nature*. 181, pp. 1199–1200.
- Chen, M.-H. dan Bergman, C. J. 2005. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ -oryzanol contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(4), pp. 319–331. doi: 10.1016/j.jfca.2003.09.016.
- Choi, Y. H. *et al.* 2011. Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology. *Plant Physiology*, 156(4), pp. 1701–1705. doi: 10.1104/pp.111.178426.
- Dai, Y. *et al.* 2013. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766, pp. 61–68. doi: 10.1016/j.aca.2012.12.019.
- Dai, Y. *et al.* 2015. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications. *Food Chemistry*, 187 (February 2022), pp. 14–19. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.03.123.
- Dai, Y. *et al.* 2016. Application of natural deep eutectic solvents to the extraction of anthocyanins from *Catharanthus roseus* with high extractability and stability replacing conventional organic solvents. *Journal of Chromatography A*, 1434, pp. 50–56. doi: 10.1016/j.chroma.2016.01.037.
- Dewi, Y. P., Zahrina, I. dan Yelmida. 2021. Karakteristik NADES (Natural Deep Eutectic Solvents). *Jom FTEKNIK*, 8, pp. 1–5.
- Dwi, N. M. A. P., Suter, I. K. dan Widarta, I. W. R. 2015. Stabilisasi Bekatul Dalam Upaya Pemanfaatannya Sebagai Pangan Fungsional, p. 10.
- Estiasih, T., Ahmadi, K. dan Santoso, V. 2021. Senyawa Bioaktif Dan Potensi Bekatul Beras (*Oryza sativa*) Sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Teknologi*

Pangan: Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian, 12(1), pp. 33–46.

- Faizah, F., Kusnandar, F. dan Nurjanah, S. 2020. Senyawa Fenolik, Oryzanol, Dan Aktivitas Antioksidan Bekatul Yang Difermentasi Dengan *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 31(1), pp. 86–94. doi: 10.6066/jtip.2020.31.1.86.
- Fauziah, A., Sudirga, S. K. dan Parwanayoni, N. M. S. 2021. Uji Antioksidan Ekstrak Daun Tanaman Leunca (*Solanum nigrum* L.). *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 8(1), p. 28. doi: 10.24843/metamorfosa.2021.v08.i01.p03.
- Felita. 2014. Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) Sebagai Pelarut Ramah Lingkungan Untuk Ekstraksi α -Mangostin Dari Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Skripsi*. Depok:Program Studi Teknologi Bioproses Universitas Indonesia.
- Fessenden dan Fessenden. 1982. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Jakarta: Erlangga.
- Gordon, M. H. 1990. The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro. *Food Antioxidants*, (1), pp. 1–18. doi: 10.1007/978-94-009-0753-9_1.
- Grozdanova, T. *et al.* 2020. Extracts Of Medicinal Plants With Natural Deep Eutectic Solvents: Enhanced Antimicrobial Activity And Low Genotoxicity. *BMC Chemistry*, 14(1), pp. 1–10. doi: 10.1186/s13065-020-00726-x.
- Gultom, D. K., Saraswati, I. dan Sasikirana, W. 2021. Penetapan Kandungan Fenolik Total Dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanolik Kubis Ungu (*Brassica oleraceae* var. *capitata* L.). *Generics : Journal of Research in Pharmacy*, 1(12), pp. 79–87. doi: 10.1128/AEM.70.2.837-844.2004.
- Haerani, A. *et al.* 2018. Artikel Tinjauan: Antioksidan Untuk Kulit. *Farmaka, Universitas Padjadjaran, Bandung*, 16(2), pp. 135–151.
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H. dan Yunianta, Y. 2016. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan : Pelarut Dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), pp. 262–272. Available at: <https://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/327>.
- Hani, R. C. dan Milanda, T. 2021. Review: Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah Di Indonesia. *Farmaka*, 18(1), pp. 53–59.
- Hardianti, M. F. dan Tonica, W. W. 2018. Uji Kestabilan Kurkuminoid Dalam Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) Secara Spektrofotometri UV-Vis. *Skripsi*. Surabaya:Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.

- Hasan, H. *et al.* 2022. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 1(3), pp. 67–73. doi: 10.37311/ijpe.v2i1.10995.
- Henderson, A. J. *et al.* 2012. Chemopreventive Properties Of Dietary Rice Bran: Current Status And Future Prospects. *Advances in Nutrition*, 3(5), pp. 643–653. doi: 10.3945/an.112.002303.
- Hikmawanti, N. P. E. *et al.* 2021. Natural Deep Eutectic Solvents (NADES): Phytochemical Extraction Performance Enhancer For Pharmaceutical And Nutraceutical Product Development. *Plants*, 10(10). doi: 10.3390/plants10102091.
- Hildayanti. 2022. Penerapan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) Pada Ekstraksi Daun *Morus Indica* L . Dan Penetapan Kadar Fenolik Total. Skripsi. Makassar: Program Studi Farmasi Universitas Hasanudin Makassar.
- Husraini, L., Zahrina, I. dan Sunarno. 2020. Aplikasi Deep Eutectic Solvents (DES) Sebagai Katalis Pada Sintesis Emulsifier. *Jom Teknik*, 7(1), pp. 1–8.
- Jurić, T. *et al.* 2021. The Evaluation Of Phenolic Content, In Vitro Antioxidant And Antibacterial Activity Of Mentha Piperita Extracts Obtained By Natural Deep Eutectic Solvents. *Food Chemistry*, 362(May). doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130226.
- Kumar, A. K. *et al.* 2018. Technical Assessment Of Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) Mediated Biorefinery Process: A Case Study. *Journal of Molecular Liquids*, 260(2), pp. 313–322. doi: 10.1016/j.molliq.2018.03.107.
- Kurtulbaş, E. *et al.* 2022. Citric Acid-Based Deep Eutectic Solvent For The Anthocyanin Recovery From *Hibiscus Sabdariffa* Through Microwave-Assisted Extraction. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(2), pp. 351–360. doi: 10.1007/s13399-020-00606-3.
- Luthfianto, D., Noviyanti, R. D. dan Kurniawati, I. 2017. Karakterisasi Kandungan Zat Gizi Bekatul Pada Berbagai Varietas Beras Di Surakarta. *Urecol*, pp. 371–376. Available at: <https://journal.unimma.ac.id/index.php/urecol/article/view/1542>.
- Margarita, H. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bekatul Dan Dedak. Skripsi. Malang: Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Martinović, M. *et al.* 2022. Conventional vs. Green Extraction Using Natural Deep Eutectic Solvents—Differences in the Composition of Soluble Unbound

Phenolic Compounds and Antioxidant Activity. *Antioxidants*, 11(11). doi: 10.3390/antiox11112295.

- Maslukhah, Y. L. *et al.* 2016. Faktor Pengaruh Ekstraksi Cincau Hitam (*Mesona palustris* BL) Skala Pilot Plant : Kajian Pustaka Influence Factor Of Black Cincau (*Mesona palustris* BL) Extraction in Pilot Plant Scale : A Review. *Jurnal pangan dan agroindustri*, 4(1), pp. 245–252.
- Membri, D. K., Yudistira, A. dan Abdullah, S. S. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Liosina paradoxa* Yang Dikoleksi Dari Pulau Mantehage. *Pharmacon*, 10(2), pp. 774–779.
- Moko, E. M. *et al.* 2014. Phytochemical Content And Antioxidant Properties Of Colored And Non Colored Varieties Of Rice Bran From Minahasa, North Sulawesi, Indonesia. *International Food Research Journal*, 21(3), pp. 1053–1059.
- National Center for Biotechnology Information (2022). PubChem Compound Summary for CID 107526, D(+)-Glucose. Retrieved May 1, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/alde>
- Nur, Y. *et al.* 2021. Senyawa Metabolit Sekunder dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Doyo (*Curliglia Latifolia* Lend.). *Bivalen: Chemical Studies Journal*, 4(November), pp. 27–31.
- Ovelando, R., Nabilla, M. dan Surest, A. 2013. Fermentasi Buah Markisa (*Passiflora*) Menjadi Asam Sitrat. *Jurnal Ilmu Teknik Sriwijaya*, 1(1), p. 103409.
- Pertiwi, A. S. 2018. Optimasi Ekstraksi Senyawa Fenolik Dan Kafein Dari Biji Kopi Hijau Arabika (*Coffea arabica* L.) Menggunakan Pelarut Nades Asam Sitrat - Sukrosa. *Skripsi*. Depok:Program Studi Sarjana Farmasi Universitas Indonesia.
- Purwanto, A., Fajriyati, A. N. dan Wahyuningtyas, D. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktivitas Antioksidan Dalam Ekstrak Minyak Bekatul Padi (*Rice Bran Oil*). *Ekuilibrium*, 13(1), pp. 29–34. doi: 10.20961/ekuilibrium.v13i1.2152.
- Putri, C. R. 2022. Optimasi Ekstraksi Rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Menggunakan Natural Deep Eutectic Solvents Berbasis Glukosa-Asam Organik Dengan Metode Ultrasonic Assisted Extraction (UAE). *Skripsi*. Depok:Program Studi Sarjana Farmasi Universitas Indonesia.
- Putri, R. H. 2018. Perbandingan Maserasi Dan Microwave-Assisted Extraction Menggunakan Etanol, Serta Ultrasound-Assisted Extraction Menggunakan Nades Pada Ekstraksi Resveratrol Dari Kulit Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Skripsi*. Depok:Program Studi Farmasi Universitas Indonesia.

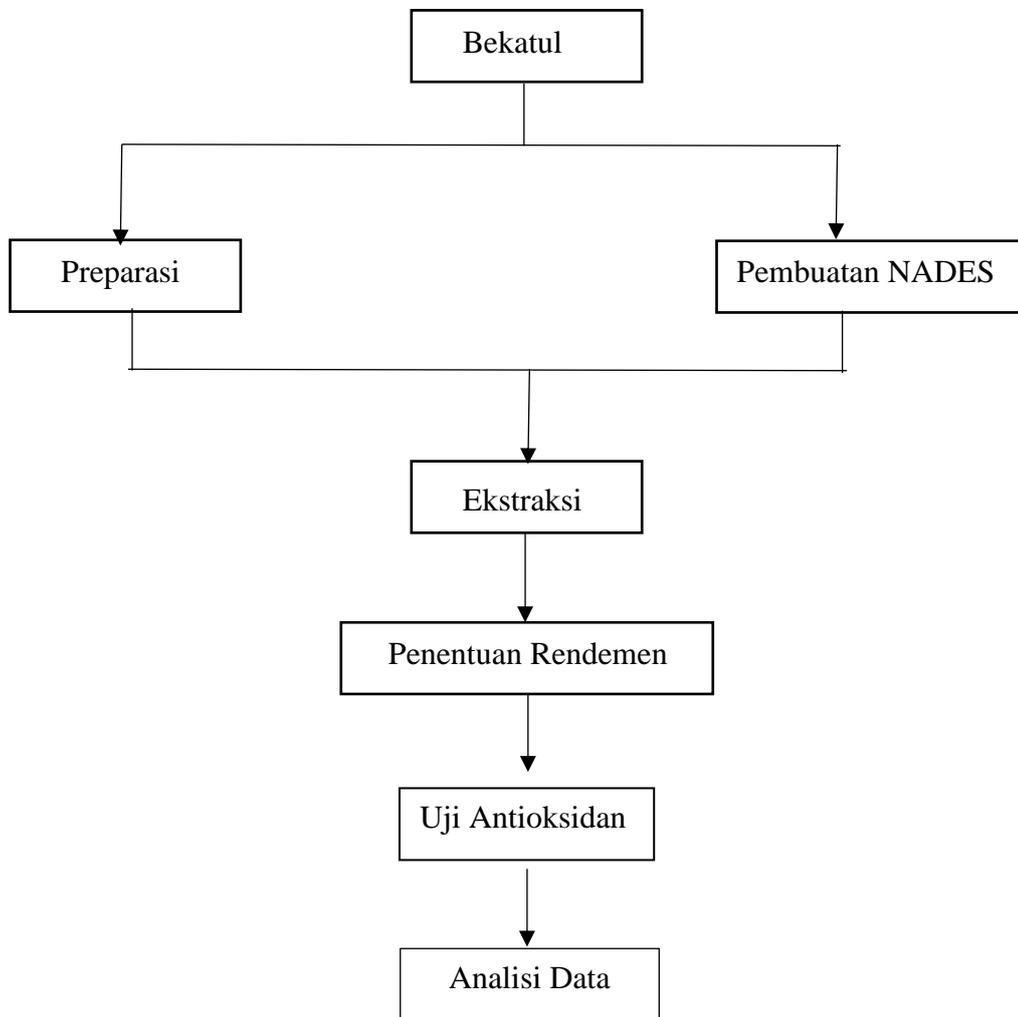
- Putri, S. 2015. Natural Deep Eutectic Solvent (NADES) Berbasis Kolin Klorida Dengan Alkohol Sebagai Donor Ikatan Hidrogen Untuk Absorpsi Co₂ Pada Kondisi Isotermal. *Skripsi*. Depok:Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia.
- Putri, S. S., Suryati, C. dan Nandini, N. 2020. Validasi Metode Penetapan Kadar Pengawet Natrium Benzoat pada Sari Kedelai di Beberapa Kecamatan di Kabupaten Tulungagung Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(1), pp. 242–247.
- Qarni, ‘A. 2007. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi Press.
- Ratnaningsih, N., Mahali, M. I. dan Ariviani, S. 2017. Perancangan Sistem Electronic Control Pada Alat Freeze Dryer Tipe Tray. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Teknik Boga dan Busana*, pp. 1–3.
- Saefudin. 2012. Aktivitas Antioksidan Pada Enam Jenis Tumbuhan Sterculiaceae. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 31(2), pp. 103–109.
- Sakka, L. dan Muin, R. 2022. Identifikasi Kandungan Senyawa Antioksidan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) Dengan Menggunakan Metode DPPH. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(1), pp. 92–100. doi: 10.37311/jsscr.v4i1.13518.
- Santos, M. C. B. *et al.* 2021. Metabolomics Of Pigmented Rice Coproducts Applying Conventional Or Deep Eutectic Extraction Solvents Reveal A Potential Antioxidant Source For Human Nutrition. *Metabolites*, 11(2), pp. 1–26. doi: 10.3390/metabo11020110.
- Santoso, K. *et al.* 2021. Perbandingan Deteksi Titer Antibodi Pascavaksinasi Rabies Berbasis Kolorimetri Menggunakan ELISA Reader dan Kamera Telepon Genggam. *Jurnal Veteriner*, 22(1), pp. 79–85. doi: 10.19087/jveteriner.2021.22.1.79.
- Scherer, R. dan Godoy, H. T. 2009. Antioxidant Activity Index (AAI) By The 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl Method. *Food Chemistry*, 112(3), pp. 654–658. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.06.026.
- Selpiana, Patricia dan Anggraeni, P. C. 2016. Pengaruh Penambahan Kitosan Dan Gliserol Pada Pembuatan Bioplastik Dari Ampas Tebu Dan Ampas Tahu. *Jurnal Teknik Kimia*, 22(1), pp. 18–24.
- Senduk, T. W., Montolalu, L. A. D. Y. dan Dotulong, V. 2020. Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove *Sonneratia alba*. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan Tropis*, 11(1), p. 9. doi: 10.35800/jpkt.11.1.2020.28659.
- Setiawan, F., Yunita, O. dan Kurniawan, A. 2018. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*, 2(2), pp. 82–89.

- Setyantoro, M. E., Haslina, H. dan Wahjuningsih, S. B. 2019. Pengaruh Waktu Ekstraksi Dengan Metode Ultrasonik Terhadap Kandungan Vitamin C, Protein, Dan Fitokimia Ekstrak Rambut Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 14(2), p. 53. doi: 10.26623/jtphp.v14i2.2445.
- Shihab, M. Q. 2001. *TAFSIR AL-MISHBAH Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*.
- Suhendra, C. P., Widarta, I. W. R. dan Wiadnyani, A. A. I. S. 2019. Pengaruh Konsentrasi Etanol Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rimpang Ilalang (*Imperata cylindrica* (L) Beauv.) Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 8(1), pp. 27–35.
- Sukma, L. N., Zackiyah dan Gumilar, G. G. 2010. Pengkayaan Asam Lemak Tak Jenuh Pada Bekatul Dengan Fermentasi Padat Menggunakan *Aspergillus terreus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, 1(1), pp. 66–72.
- Suryanto, E. dan Taroreh, M. R. I. 2020. Ultrasound-Assisted Extraction Antioksidan Serat Pangan Dari Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Chemistry Progress*, 12(2). doi: 10.35799/cp.12.2.2019.27932.
- Syamsul, E. S., Amanda, N. A. dan Lestari, D. 2020. Perbandingan Ekstrak Lamur *Aquilaria Malaccensis* Dengan Metode Maserasi Dan Refluks. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(2), pp. 97–104. doi: 10.33759/jrki.v2i2.85.
- Ulfa, S. 2016. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dalam Bekatul Dengan Menggunakan Variasi Pelarut. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Utomo, H. 2012. Uji Aktivitas Penghambatan Senyawa 4- [(E) -2- (4-Okso-3-Fenil-Kuinazolin-2- Il) Etenil] Benzensulfonamida Terhadap Siklooksigenase-2 (Cox-2) Il) Etenil] Benzensulfonamida Terhadap Siklooksigenase-2 (Cox-2). *Skripsi*. Depok: Program Studi Farmasi Universitas Indonesia.
- Wei, Z. *et al.* 2015. Application Of Natural Deep Eutectic Solvents For Extraction And Determination Of Phenolics In *Cajanus Cajan* Leaves By Ultra Performance Liquid Chromatography. *Separation and Purification Technology*, 149, pp. 237–244. doi: 10.1016/j.seppur.2015.05.015.
- Yanlinastuti dan Fatimah, S. 2016. Pengaruh Konsentrasi Pelarut Untuk Menentukan Kadar Zirkonium Dalam Paduan U-Zr Dengan Menggunakan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *PIN Pengelolaan Instalasi Nuklir*, 9(17), pp. 22–33.

- Zaitun, A. 2021. Pengaruh Waktu Stabilisasi Bekatul Dan Waktu Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Minyak Bekatul. Skripsi. Malang:Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Zikri, M. F. 2018. Pengaruh Rasio Pelarut Nades Dan Waktu Sonikasi Dalam Ekstraksi Getah Pepaya Untuk Produksi Bio- Insektisida. *Skripsi*. Depok:Program Studi Teknik Kimia Universitas Indonesia.

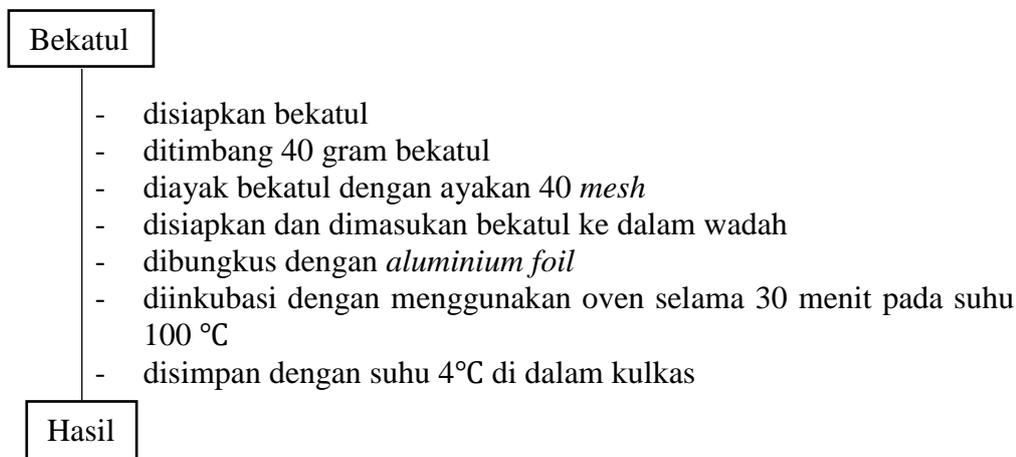
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



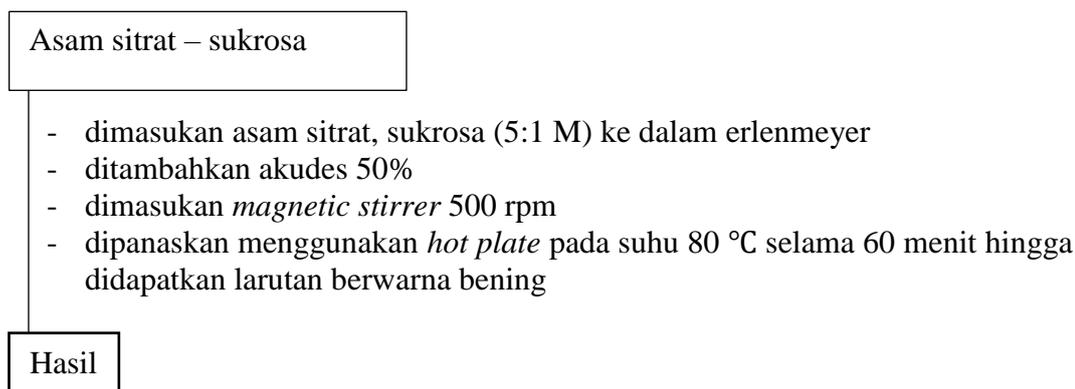
Lampiran 2. Diagram Penelitian

L.2.1 Preparasi Sampel

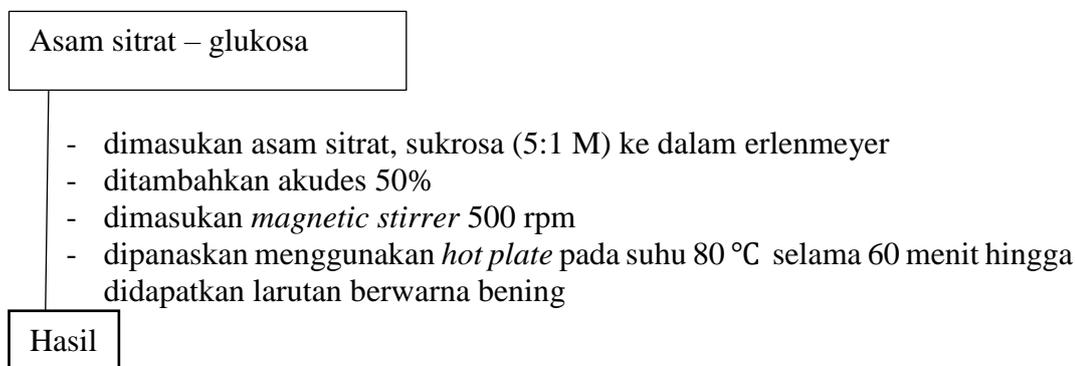


L.2.2 Pembuatan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES)

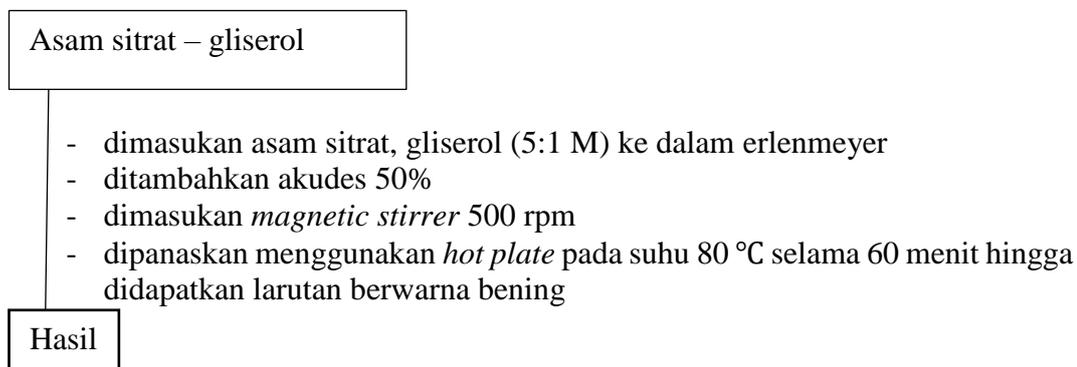
L.2.2.1 Asam sitrat – sukrosa



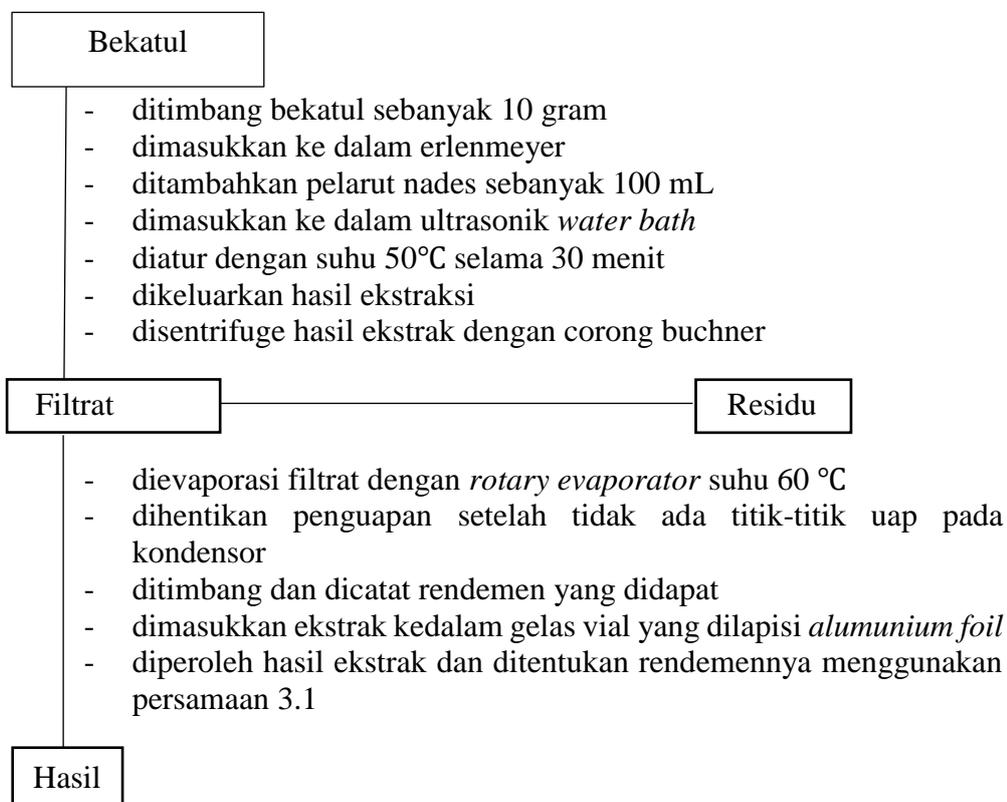
L.2.2.2 Asam sitrat – glukosa



L.2.2.3 Asam sitrat – gliserol



L.2.2.4 Ekstraksi Ultrasonik



L.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

Pengukuran Aktivitas antioksidan pada sampel

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

DPPH 0,2 mM

- dipipet 1,5 mL DPPH 0,2 mM ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 4,5 mL etanol p.a
- ditutup tabung reaksi dengan *aluminium foil*
- diukur absorbansinya pada rentang panjang gelombang 500 – 600 nm

Hasil

b. Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Ekstrak Bekatul

- dibuat ekstrak sampel dengan konsentrasi 625, 1.250, 2.500, 5.000, dan 10.000 ppm
- dibuat larutan induk 10.000 ppm dengan cara ekstrak sampel sebanyak 100 mg dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a
- dipipet masing-masing larutan induk sampel 100 μ l lalu dimasukkan dalam sumur a (96 well plate)
- ditambahkan metanol p.a sebanyak 50 μ l pada sumur baris b sampai e
- dipipet sebanyak 50 μ l larutan sampel pada sumur baris a dan dimasukkan ke dalam sumur baris b
- dipipet kembali sebanyak 50 μ l baris b ke baris c, perlakuan tersebut dilakukan berulang sampai baris e dan dipipet 50 μ l kemudian dibuang
- (sumur baris a sampai e menunjukkan variasi konsentrasi larutan yaitu sumur a (10.000 ppm), sumur b (5.000 ppm), sumur c (2.500 ppm), sumur d (1.250 ppm), dan sumur e (625 ppm).
- dipipet sebanyak 80 μ l dpph dan dimasukkan ke dalam sumur a sampai e, sumur baris f tidak diisi larutan ekstrak, hanya diisi dengan 50 μ l metanol p.a dan 80 μ l dpph sebagai kontrol, sementara sumur baris
- dilakukan 6 kali pengulangan perlakuan tiap konsentrasi
- diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan ditutup agar reaksi sempurna
- dishaker (96 well plate) kecepatan 300 rpm selama 1 menit
- diukur absorbansinya pada λ_{maks} yang telah diketahui sebelumnya menggunakan instrument microplate reader
- dihitung aktivitas antioksidan (% antioksidan) menggunakan persamaan 3.2

Hasil

*Pembanding asam askorbat diberikan perlakuan sama seperti sampel, tetapi sampel diganti dengan larutan asam askorbat sebagai kontrol positif, dan pelarut NADES 5:1 diberikan perlakuan sama seperti sampel sebagai kontrol negatif.

Lampiran 3. Pehitungan

L.3.1 Pembuatan Pelarut NADES

Berat Molar		
Asam sitrat	198,08	g/mol
Sukrosa	342,30	g/mol
Glukosa	180,16	g/mol
Gliserol	92,09	g/mol

Mr		342,30	180,16	92,09	198,08	Mr NADES	198,08	342,30	180,16	92,09	Gram NADES
NADES		Sukrosa	Glukosa	Gliserol	Asam sitrat		Asam sitrat	Sukrosa	Glukosa	Gliserol	
		Ratio mol				Fraksi berat HBA dan HBD (gram)					
Asam Sitrat + Sukrosa	5:1	1			5	1332,7	0,7431	0,2568			100
Asam Sitrat + Glukosa	5:1		1		5	1170,56	0,8461		0,1539		100
Asam Sitrat + Gliserol	5:1			1	5	1082,49	0,9149			0,0851	100

NADES	Komposisi massa NADES Hitungan			
	Asam Sitrat	Sukrosa	Glukosa	Gliserol
Asam Sitrat + Sukrosa	74,3153 gram	25,6847 gram		
Asam Sitrat + Glukosa	84,6090 gram		15,3909 gram	
Asam Sitrat + Gliserol	91,4927 gram			6,7 mL

Komposisi massa NADES

- Asam Sitrat – Sukrosa (5:1)
 Asam Sitrat = $\frac{5 \times 198,08 \text{ g/mol}}{1332,7 \text{ g/mol}} \times 100 \text{ gram} = 74,3153 \text{ gram}$
 Sukrosa = $\frac{1 \times 342,30 \text{ g/mol}}{1332,7 \text{ g/mol}} \times 100 \text{ gram} = 25,6847 \text{ gram}$
- Asam Sitrat – Glukosa
 Asam Sitrat = $\frac{5 \times 198,08 \text{ g/mol}}{1170,56 \text{ g/mol}} \times 100 \text{ gram} = 84,6090 \text{ gram}$
 Glukosa = $\frac{1 \times 180,16 \text{ g/mol}}{1170,56 \text{ g/mol}} \times 100 \text{ gram} = 15,3909 \text{ gram}$
- Asam Sitrat – Gliserol
 Asam Sitrat = $\frac{5 \times 198,08 \text{ g/mol}}{1082,49 \text{ g/mol}} \times 100 \text{ gram} = 91,4972 \text{ gram}$
 Gliserol = $\frac{1 \times 92,09 \text{ g/mol}}{1082,49 \text{ g/mol}} \times 100 \text{ gram} = 8,5072 \text{ gram}$

- Penambahan Akuades 50%

$$50\% = \frac{V_{\text{akuades}}}{V_{\text{akuades}} + 100} \times 100\%$$

$$50\% \times (V_{\text{akuades}} + 100) = V_{\text{akuades}} \times 100\%$$

$$V_{\text{akuades}} + 100 = 2V_{\text{akuades}}$$

$$100 = 2V_{\text{akuades}} - V_{\text{akuades}}$$

$$100 = V_{\text{akuades}}$$

L.3.2 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

DPPH 0,2 mM dalam 50 mL etanol p.a

$$\text{Mr DPPH} = 394,33 \text{ g/mol}$$

$$\text{Mol DPPH} = 0,2 \text{ mM} \times 50 \text{ mL}$$

$$= \frac{0,2 \text{ M}}{1000 \text{ mL}} \times 50 \text{ mL}$$

$$= 0,01 \text{ mmol}$$

$$\text{Mg DPPH} = 0,01 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH}$$

$$= 0,004 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol}$$

$$= 3,9433 \text{ mg}$$

L.3.3 Pembuatan Konsentrasi Larutan Sampel

- Pembuatan larutan stok sampel 10.000 ppm dalam 10 mL

$$10.000 \text{ ppm} = \text{mg}/0,01\text{L}$$

$$\text{Berat sampel} = 10.000 \times 0,01\text{L}$$

$$= 100 \text{ mg}$$

Sampel ditimbang 100 mg dilarutkan dengan metanol p.a dalam labu takar 10 mL

L3.4. Perhitungan Berat Jenis NADES

1. Asam Sitrat-Sukrosa

Diketahui:

Volume piknometer : 10 ml

Berat piknometer kosong : 15,7959 gram

Berat piknometer dan pelarut : 28,1840 gram

Ditanya: berat jenis NADES asam sitrat-sukrosa

Jawab:

$$\begin{aligned} \text{Berat jenis} &= \frac{28,1840 \text{ gram} - 15,7959 \text{ gram}}{10 \text{ ml}} \\ &= \frac{12,3881 \text{ gram}}{10 \text{ ml}} \\ &= 1,23881 \text{ g/ml} \end{aligned}$$

2. Asam Sitrat-Glukosa

Diketahui:

Volume piknometer : 10 ml

Berat piknometer kosong : 15,9709 gram

Berat piknometer dan pelarut : 28,0115 gram

Ditanya: berat jenis NADES asam sitrat-sukrosa

Jawab:

$$\begin{aligned} \text{Berat jenis} &= \frac{28,0115 \text{ gram} - 15,9709 \text{ gram}}{10 \text{ ml}} \\ &= \frac{12,0406 \text{ gram}}{10 \text{ ml}} \\ &= 1,20406 \text{ g/ml} \end{aligned}$$

3. Asam Sitrat-Gliserol

Diketahui:

Volume piknometer : 10 ml

Berat piknometer kosong : 15,6156 gram

Berat piknometer dan pelarut : 27,6532 gram

Ditanya: berat jenis NADES asam sitrat-sukrosa

Jawab:

$$\text{Berat jenis} = \frac{27,6532 \text{ gram} - 15,6156 \text{ gram}}{10 \text{ ml}}$$

$$= \frac{12,0376 \text{ gram}}{10 \text{ ml}}$$

$$= 1,20376 \text{ g/ml}$$

L.3.4 Perhitungan Rendemen

1. Ekstrak Bekatul Asam Sitrat – Sukrosa

- Ulangan 1

Berat ekstrak pekat : 21,6527 gram

Berat sampel : 10 gram

Berat jenis NADES : 1,23881 g/ml \times 100 = 123,881

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel} + \text{Berat jenis NADES}} \times 100\%$$

$$= \frac{21,6527 \text{ gram}}{10 \text{ gram} + 123,881} \times 100\%$$

$$= 16,1731\%$$

- Ulangan 2

Berat ekstrak pekat : 24,3834 gram

Berat sampel : 10 gram

Berat jenis NADES : 1,23881 g/ml \times 100 = 123,881

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel} + \text{Berat jenis NADES}} \times 100\%$$

$$= \frac{24,3834}{10 \text{ gram} + 123,881} \times 100\%$$

$$= 18,2127\%$$

- Ulangan 3

Berat ekstrak pekat : 24,7008 gram

Berat sampel : 10 gram

Berat jenis NADES : 1,23881 g/ml \times 100 = 123,881

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel} + \text{Berat jenis NADES}} \times 100\%$$

$$= \frac{24,7008 \text{ gram}}{10 \text{ gram} + 123,881} \times 100\%$$

$$= 18,4498\%$$

2. Ekstrak Bekatul Asam Sitrat – Glukosa

- Ulangan 1

Berat ekstrak pekat : 10,3944 gram

Berat sampel : 10 gram

Berat jenis NADES : $1,20406 \text{ g/ml} \times 100 = 120,406$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel} + \text{Berat jenis NADES}} \times 100\% \\ &= \frac{10,3944 \text{ gram}}{10 \text{ gram} + 120,406} \times 100\% \\ &= 7,9707\% \end{aligned}$$

- Ulangan 2

Berat ekstrak pekat : 15,2983 gram

Berat sampel : 10 gram

Berat jenis NADES : $1,20406 \text{ g/ml} \times 100 = 120,406$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel} + \text{Berat jenis NADES}} \times 100\% \\ &= \frac{15,2983 \text{ gram}}{10 \text{ gram} + 120,406} \times 100\% \\ &= 11,7313\% \end{aligned}$$

- Ulangan 3

Berat ekstrak pekat : 17,8915 gram

Berat sampel : 10 gram

Berat jenis NADES : $1,20406 \text{ g/ml} \times 100 = 120,406$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel} + \text{Berat jenis NADES}} \times 100\% \\ &= \frac{17,8915 \text{ gram}}{10 \text{ gram} + 120,406} \times 100\% \\ &= 13,7198\% \end{aligned}$$

3. Ekstrak Bekatul Asam Sitrat – Gliserol

- Ulangan 1

Berat ekstrak pekat : 10,1017 gram

Berat sampel : 10 gram

Berat jenis NADES : $1,20376 \text{ g/ml} \times 100 = 120,376$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel} + \text{Berat jenis NADES}} \times 100\% \\ &= \frac{10,1017 \text{ gram}}{10 \text{ gram} + 120,376} \times 100\% \\ &= 7,7481\% \end{aligned}$$

- Ulangan 2

Berat ekstrak pekat : 14,4973 gram

Berat sampel : 10 gram

Berat jenis NADES : $1,20376 \text{ g/ml} \times 100 = 120,376$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel} + \text{Berat jenis NADES}} \times 100\% \\ &= \frac{14,4973 \text{ gram}}{10 \text{ gram} + 120,376} \times 100\% \\ &= 11,1196\%\end{aligned}$$

- Ulangan 3

Berat ekstrak pekat : 16,8913 gram

Berat sampel : 10 gram

Berat jenis NADES : $1,20376 \text{ g/ml} \times 100 = 120,376$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen (\%)} &= \frac{\text{Berat ekstrak pekat}}{\text{Berat sampel} + \text{Berat jenis NADES}} \times 100\% \\ &= \frac{16,8913 \text{ gram}}{10 \text{ gram} + 120,376} \times 100\% \\ &= 12,9558\%\end{aligned}$$

Lampiran 4. Data Hasil Penelitian dan Perhitungan

L4.1 Uji Antioksidan

- Ekstrak Asam Sitrat – Sukrosa

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-Rata	% Antioksidan
	1	2	3		
625	0,569	0,71	0,781	0,687	22,411
1250	0,528	0,668	0,818	0,671	24,143
2500	0,425	0,617	0,748	0,597	32,580
5000	0,329	0,315	0,317	0,320	63,804
10000	0,254	0,358	0,398	0,337	61,959

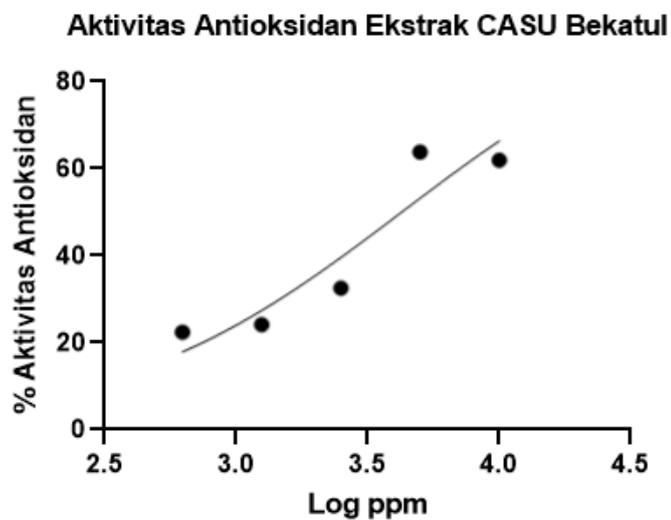
Kontrol	0,944	0,871	0,84
Rata-Rata	0,885		

Nilai IC₅₀ dapat dihitung menggunakan “*Graphad prism 9 software, Regression of analyzing doseresponse data*”

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (ppm)	% Aktivitas Antioksidan
625	2,796	22,411
1250	3,097	24,143
2500	3,398	32,580
5000	3,699	63,804
10000	4,000	61,959

Best-fit values

LogIC50	3.629
HillSlope	0.7948
IC50	4256
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	3.322 to 4.314
HillSlope	0.2174 to 1.702
IC50	2097 to 20607
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.8722
Sum of Squares	212.1
Sy.x	8.408
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5



- **Ekstrak Asam Sitrat – Glukosa**

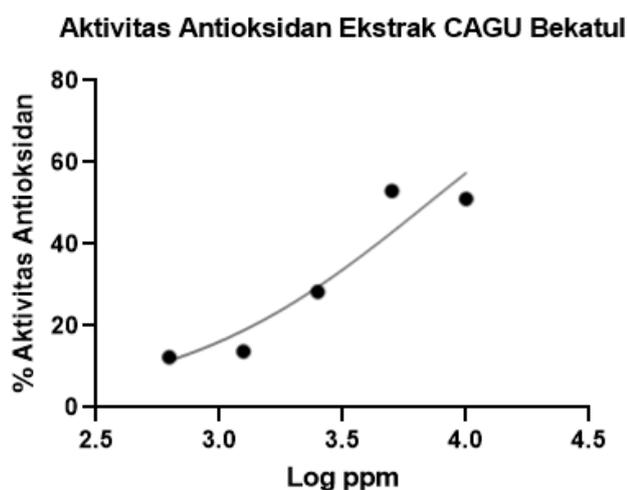
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-Rata	% Antioksidan
	1	2	3		
625	0,823	0,773	0,73	0,775	12,392
1250	0,817	0,75	0,723	0,763	13,748
2500	0,738	0,552	0,611	0,634	28,399
5000	0,314	0,496	0,437	0,416	53,032
10000	0,404	0,409	0,485	0,433	51,111

Kontrol	0,944	0,871	0,84
Rata-Rata	0,885		

Nilai IC₅₀ dapat dihitung menggunakan “*Graphad prism 9 software, Regression of analyzing doseresponse data*”

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (ppm)	% Aktivitas Antioksidan
625	2,796	12,392
1250	3,097	13,748
2500	3,398	28,399
5000	3,699	53,032
10000	4,000	51,111

Best-fit values	
LogIC50	3.846
HillSlope	0.8440
IC50	7013
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	3.573 to 4.688
HillSlope	0.2730 to 1.708
IC50	3745 to 48793
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.8887
Sum of Squares	171.1
Sy.x	7.553
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5



- Ekstrak Asam Sitrat – gliserol**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-Rata	% Antioksidan
	1	2	3		
625	0,873	0,915	0,908	0,899	1,544
1250	0,815	0,896	0,9	0,870	1,657
2500	0,859	0,875	0,854	0,863	2,524
5000	0,792	0,866	0,837	0,832	6,026
10000	0,765	0,704	0,81	0,760	14,162

Kontrol	0.944	0.871	0.84
Rata-Rata	0.885		

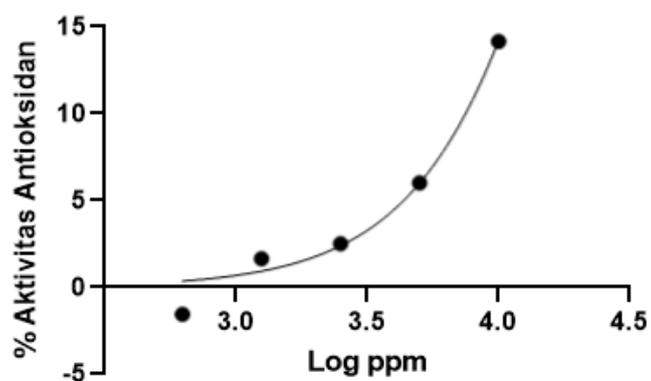
Nilai IC₅₀ dapat dihitung menggunakan “*Graphad prism 9 software, Regression of analyzing doseresponse data*”

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (ppm)	% Aktivitas Antioksidan
625	2,796	1,544
1250	3,097	1,657
2500	3,398	2,524
5000	3,699	6,026
10000	4,000	14,162

Best-fit values

LogIC50	4.568
HillSlope	1.376
IC50	36976
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	4.298 to 5.073
HillSlope	0.8138 to 2.486
IC50	19858 to 118171
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.9711
Sum of Squares	4.174
Sy.x	1.180
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5

Aktivitas Antioksidan Ekstrak CAGLY Bekatul



- Asam Askorbat

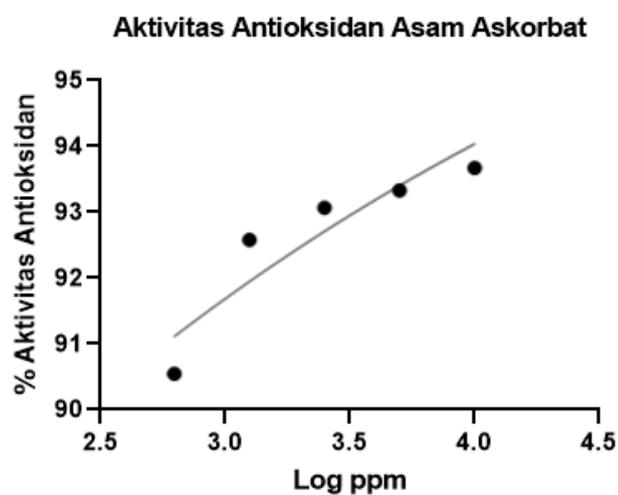
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-Rata	% Antioksidan
	1	2	3		
625	0,079	0,055	0,107	0,080	90,923
1250	0,068	0,05	0,072	0,063	92,844
2500	0,056	0,055	0,073	0,061	93,070
5000	0,057	0,057	0,07	0,061	93,070
10000	0,059	0,065	0,054	0,059	93,296

Kontrol	0.944	0.871	0.84
Rata-Rata	0.885		

Nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan “*Graphad prism 9 software, Regression of analyzing doseresponse data*”

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi (ppm)	%Aktivitas Antioksidan
625	2,796	90.923
1250	3,097	92.844
2500	3,398	93.070
5000	3,699	93.070
10000	4,000	93.296

Best-fit values	
LogIC50	-3.716
HillSlope	0.1553
IC50	0.0001924
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	-33.55 to -0.5331
HillSlope	0.02975 to 0.2860
IC50	2.818e-034 to 0.2930
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	3
R squared	0.8381
Sum of Squares	0.9909
Sy.x	0.5747
Number of points	
# of X values	5
# Y values analyzed	5



- **Pelarut Asam Sitrat-Sukrosa**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-Rata	% Antioksidan
	1	2	3		
1000000	0.063	0.104	0.778	0.315	64.407
1000000	0.136	0.064	0.787	0.329	62.825

Kontrol	0.944	0.871	0.84
Rata-Rata	0.885		

- **Pelarut Asam Sitrat-Glukosa**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-Rata	% Antioksidan
	1	2	3		
1000000	0.718	0.717	0.703	0.713	19.473
1000000	0.689	0.677	0.689	0.685	22.599

Kontrol	0.944	0.871	0.84
Rata-Rata	0.885		

- **Pelarut Asam Sitrat-Gliserol**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-Rata	% Antioksidan
	1	2	3		
1000000	0.707	0.699	0.763	0.723	18.305
1000000	0.699	0.729	0.74	0.723	18.343

Kontrol	0.944	0.871	0.84
Rata-Rata	0.885		

L4.2. Perhitungan Nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*)

1. Ekstrak CASU (NADES Asam sitrat – Sukrosa)

Diketahui :

Konsentrasi DPPH : 80 ppm

IC₅₀ : 4.256 ppm

$$\begin{aligned}
 \text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH (ppm)}}{\text{IC}_{50} \text{ (ppm)}} \\
 &= \frac{80 \text{ ppm}}{4.256 \text{ ppm}} \\
 &= 0,0188 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

2. Ekstrak CAGU (NADES Asam sitrat – Glukosa)

Diketahui :

Konsentrasi DPPH : 80 ppm

IC₅₀ : 7.013 ppm

$$\begin{aligned}
 \text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH (ppm)}}{\text{IC}_{50} \text{ (ppm)}} \\
 &= \frac{80 \text{ ppm}}{7.013 \text{ ppm}} \\
 &= 0,0114 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

3. Ekstrak CAGLY (NADES Asam sitrat – Gliserol)

Diketahui :

Konsentrasi DPPH : 80 ppm

IC₅₀ : 36.976 ppm

$$\begin{aligned} \text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH (ppm)}}{\text{IC}_{50} \text{ (ppm)}} \\ &= \frac{80 \text{ ppm}}{36.976 \text{ ppm}} \\ &= 0,0022 \text{ ppm} \end{aligned}$$

4. Asam Askorbat

Diketahui :

Konsentrasi DPPH : 80 ppm

IC₅₀ : 0,0001924 ppm

$$\begin{aligned} \text{AAI} &= \frac{\text{Konsentrasi DPPH (ppm)}}{\text{IC}_{50} \text{ (ppm)}} \\ &= \frac{80 \text{ ppm}}{0,0001924 \text{ ppm}} \\ &= 415.800,4158 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Aktivitas Antioksidan	Nilai AAI
Lemah	< 0,5
Sedang	0,5 < AAI < 1,0
Kuat	1,0 < AAI < 2,0
Sangat kuat	> 2,0

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian

1. Pembuatan NADES

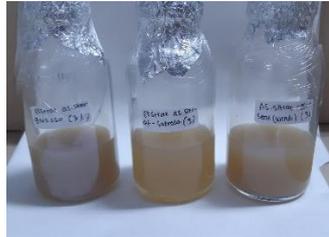
 <p>Penimbangan bahan</p>	 <p>Pencampuran dengan suhu 80°C dan pengadukan 500 rpm</p>	 <p>Diperoleh larutan yang stabil</p>
 <p>Hasil pembuatan NADES</p>		

2. Ekstraksi Bekatul dengan Ultrasonik

 <p>Sampel bekatul</p>	 <p>Penimbangan bekatul</p>	 <p>Ekstraksi ultrasonik</p>
---	--	---



Penyaringan filtrat



Filtrat tiga sampel yang berbeda



Hasil ekstrak sampel dalam NADES asam sitrat-sukrosa



Hasil ekstrak sampel dalam NADES asam sitrat-gliserol



Hasil ekstrak sampel dalam NADES asam sitrat-glukosa

3. Uji Antioksidan

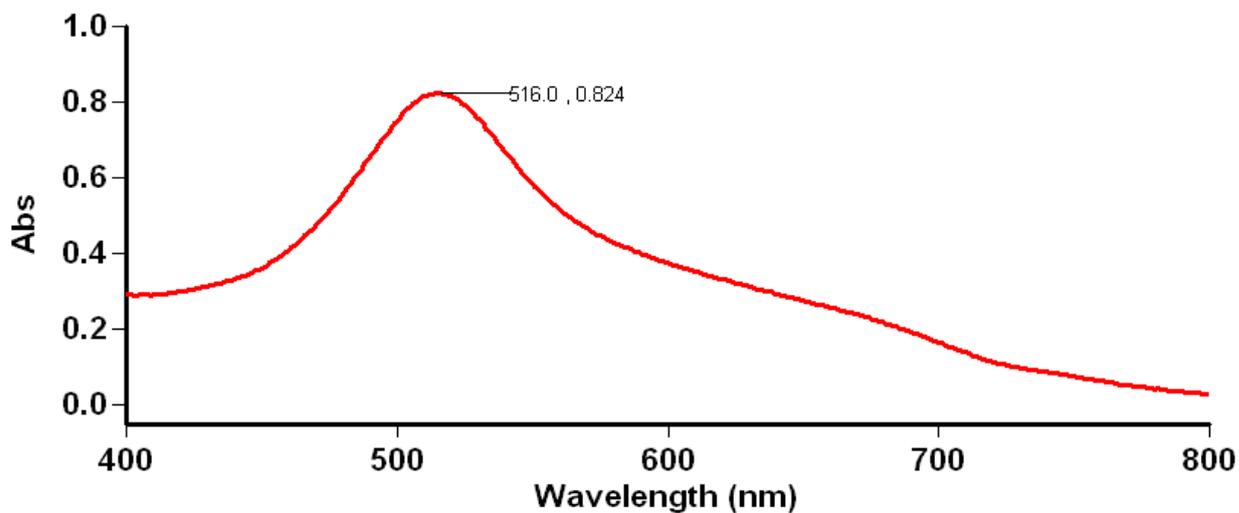


Gambar *well plate*

Lampiran 6. Data Hasil Absorbansi Panjang Gelombang Maksimum Menggunakan UV-Vis

Lamdha Maks DPPH

Tanggal Analisa : 04 Juli 2023



Scan Analysis Report

Report Time : Tue 04 Jul 11:16:01 AM 2023

Method:

Batch: D:\Mahasiswa On Going\Windi\Lamdha Maks DPPH (04-07-2023).DSW

Software version: 3.00(339)

Operator: Rika

Sample Name: DPPH

Collection Time 7/4/2023 11:16:06 AM

Peak Table

Peak Style Peaks

Peak Threshold 0.0100

Range 800.0nm to 400.1nm

Wavelength (nm) Abs

516.0	0.824
-------	-------

Lampiran 7. Data Absorbansi

Test Name : Uji DPPH 210723												Date: 21/11/2014 Time: 0:08:40	
Absorbance												Microplate View	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	1,344	0,254	0,455	0,358	0,398	0,403	0,47	0,404	0,409	0,748	0,485	0,597	
	X1	X1	X1	X1	X1	X1	X2	X2	X2	X2	X2	X2	
B	0,248	0,329	0,315	0,318	0,317	0,316	0,34	0,314	0,496	0,922	0,771	0,437	
	X1	X1	X1	X1	X1	X1	X2	X2	X2	X2	X2	X2	
C	0,297	0,425	0,617	0,764	0,748	0,797	0,784	0,738	0,552	0,525	0,611	0,683	
	X1	X1	X1	X1	X1	X1	X2	X2	X2	X2	X2	X2	
D	0,305	0,528	0,668	0,752	0,818	0,855	0,848	0,817	0,75	0,763	0,723	0,646	
	X1	X1	X1	X1	X1	X1	X2	X2	X2	X2	X2	X2	
E	0,427	0,569	0,71	0,789	0,781	0,773	0,823	0,73	0,773	0,735	0,73	0,704	
	X1	X1	X1	X1	X1	X1	X2	X2	X2	X2	X2	X2	
F	0,816	0,84	0,822	0,944	0,839	0,871	0,744	0,83	0,838	0,829	0,422	0,6	
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	N	N	
G	0,079	0,068	0,056	0,057	0,059	0,065	0,057	0,055	0,05	0,055	0,136	0,685	
	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	N	N	
H	0,107	0,072	0,073	0,07	0,054	0,095	0,079	0,064	0,086	0,104	0,063		
	P	P	P	P	P	N	N	N	N	N	N		

Legend:

- 1.Raw Data (516)
- 2.Layout: Plate: COSTAR 96

Test Name : Uji DPPH 210723												Date: 21/11/2014 Time: 1:26:36
Absorbance												Microplate View
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0,8	0,765	0,839	0,704	0,81	0,924	0,597	0,579	0,625	0,621	0,649	0,643
	X3	X3	X3	X3	X3	X3	N	N	N	N	N	N
B	0,881	0,792	0,817	0,866	0,837	0,86	0,73	0,689	0,677	0,689	0,699	0,729
	X3	X3	X3	X3	X3	X3	N	N	N	N	N	N
C	0,859	0,886	0,871	0,875	0,854	0,863	0,787	0,718	0,717	0,703	0,707	0,699
	X3	X3	X3	X3	X3	X3	N	N	N	N	N	N
D	0,845	0,815	0,868	0,896	0,9	0,911	0,798	0,788	0,788	0,799	0,769	0,745
	X3	X3	X3	X3	X3	X3	N	N	N	N	N	N
E	0,873	0,877	0,869	0,915	0,9	0,908	0,778	0,823	0,785	0,814	0,684	0,748
	X3	X3	X3	X3	X3	X3	N	N	N	N	N	N
F	0,558	0,548	0,417	0,448	0,595	0,561	0,049	0,035	0,699	0,597	0,625	0,74
	N	N	N	N	N	N	B	B	B	B	N	N
G	0,543	0,528	0,459	0,538	0,536	0,422	0,038	0,039	0,756	0,833	0,763	0,767
	N	N	N	N	N	N	B	B	B	B	N	N
H	0,245	0,52	0,5	0,518	0,381	0,487	0,048	0,043	0,821	0,84	0,793	0,864
	N	N	N	N	N	N	B	B	B	B	N	N

Legend:

- 1.Raw Data (516)
- 2.Layout: Plate: COSTAR 96