

Penentuan kadar γ -oryzanol, fenolik total dan aktivitas penangkapan radikal bebas (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl) (DPPH) pada beberapa varietas beras di Yogyakarta, Indonesia.

Determination of γ -oryzanol, Phenolic total content, and (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity in Different Varieties of Rice (*Oryza sativa*) in Yogyakarta, Indonesia

Erna Prawita Setyowati*, Andayana Puspistasari Gani

Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Skip Utara 55281 Yogyakarta

ABSTRAK

Di Indonesia, beras (*Oryza sativa*) telah menjadi bahan utama dalam produk kecantikan alami seperti masker, scrub, dan bubuk dingin. γ -oryzanol dan senyawa fenolik merupakan komponen utama dalam beras yang memiliki banyak manfaat, salah satunya sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan γ -oryzanol dan kadar fenolik total pada varian beras yang berbeda di wilayah Yogyakarta. Pengukuran dilakukan dengan metode KLT-densitometri dan Folin Ciocalteu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan γ -oryzanol terbesar ditemukan pada beras merah yaitu 0,0843% berat sampel. Kandungan fenolik total tertinggi ditemukan pada beras merah sebesar 1,92% berat sampel. Aktivitas antioksidan IC_{50} beras merah adalah 0,591.

Kata kunci: *Oryza sativa*, γ -oryzanol, fenolik total, antioxidant, Yogyakarta

ABSTRACT

In Indonesia, beras (*Oryza sativa*) has become the main ingredient in natural beauty products such as masks, scrubs, and cold powder. γ -oryzanol and phenolic compounds are the major components in beras that have many benefits, one of which as antioxidants. This study aims to determine the content of γ -oryzanol and total phenolic compounds in different beras cultivars in the area of Yogyakarta. The leveling was done by a TLC-densitometry method and Folin Ciocalteu. The results showed that the largest γ -oryzanol content found in red beras was 0.0843% by weight of the sample. The highest total phenolic content was found in red beras as much as 1.92% by weight of the sample. The antioxidants activity IC_{50} Red Beras is 0.591.

Keywords: *Oryza sativa*, γ -oryzanol, total phenolic compound, antioxidant, Yogyakarta

PENDAHULUAN

Kosmetika alami seperti masker wajah, scrub, dan bedak dingin efektif membuat kulit lebih halus, bersih, dan bercahaya. Merawat kecantikan kulit wajah dengan ramuan herbal tradisional sudah lama dilakukan oleh wanita Indonesia dari generasi ke generasi karena memiliki khasiat yang baik dan sedikit efek samping. Beras (*Oryza sativa*) adalah salah satu bahan kosmetik alami yang sangat bermanfaat untuk kulit, terutama kulit wajah (Chen *et al*, 2005).

Beras memiliki banyak komponen termasuk vitamin, mineral, dan senyawa fenolik 1. Struktur beras yang kasar juga bisa digunakan

sebagai body scrub atau scrub wajah untuk mengangkat sel kulit mati. Beras merupakan bahan alami yang telah banyak digunakan untuk berbagai keperluan kosmetik seperti masker. Zat oryzanol yang terkandung dalam beras dapat berfungsi sebagai antioksidan, mampu memperbarui pigmen melanin dan menetralkan sinar ultraviolet (Juliano *et al*, 2005). Dalam penelitian ini akan dihitung kadar γ -oryzanol, aktivitas antioksidan, dan kadar fenolik total pada berbagai varietas *O. sativa* yang diambil dari daerah Yogyakarta yang dikenal sebagai salah satu pusat kosmetik alami di Indonesia.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Semua bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah analitik. Penelitian dilakukan

*Corresponding author : Erna Prawita Setyowati
Email : erna.prawita@ugm.ac.id

antara bulan April 2017 dan Desember 2017. Bahan utama yang digunakan adalah berbagai varietas beras (*Oryza sativa*) yang dikumpulkan dari daerah Yogyakarta (beras IR64, beras Cianjur, beras Mentik Wangi dan beras Merah). Etanol absolut, metanol, n-heksana dan etil asetat (Merck Millipore). Standar γ -oryzanol (Sigma Aldrich). Aluminium klorida, natrium asetat, natrium karbonat, asam vanilin-sulfat (Sigma-Aldrich). Air suling (CV. Brataco). Plat kromatografi lapis tipis (KLT) silica gel 60 F254 (Merck Millipore).

Lampu UV 254 nm dan 366 nm, wadah pengembang kromatografi 20x10 (Camag), pemeriksa sampel KLT Linomat5 (Camag), pemindai KLT scanner (Camag), timbangan analitis (AL 204, Mettler Toledo) timbangan elektronik 0.01 g (FY-300 Precision Balance, AND), spektrometer UV-Vis (Model U-2900, Jepang)

Cara kerja

Pembuatan simplisia dan ekstraksi

Beras (*Oryza sativa*) dikumpulkan dari daerah Yogyakarta. Beras kering diserbuk dan disaring melalui saringan 30 dan 40 mesh. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Sejumlah serbuk dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer tertutup dan dituangkan pelarut dengan rasio 1:5 b/v. Ekstraksi dilakukan selama 8 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring dan dikering-bekukan. Sepuluh mg ekstrak kering ditimbang dan dilarutkan dalam 1,0 mL metanol. Penentuan kadar γ -oryzanol dalam larutan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode densitometri HPTLC

Penentuan kadar γ -oryzanol dalam ekstrak beras.

Kandungan γ -oryzanol dalam ekstrak beras ditentukan dengan metode kromatografi lapis tipis berkinerja tinggi (HPTLC)-densitometri. Sistem yang digunakan adalah: Fase diam: Lapisan silika HPTLC 60 F254, ketebalan 0,25 mm. Fase gerak: n-heksana:etil asetat (5:1, v/v) Jarak pengembangan: 8 cm (naik). Deteksi: UV 254 nm, UV 366nm, Vanillin asam sulfat.

Standar dan sampel diaplikasikan pada piring dengan bantuan aplikator Camag Linomat 5. Pada pelat 20x10 cm ditempatkan 5 titik standar γ -oryzanol (konsentrasi 1,0-10 μg / spot) dan 12 tempat sampel (konsentrasi 20 μg / spot). Parameter operasional aparatus adalah laju aliran gas nitrogen 100 mL/d pada jarum suntik, lebar pita 4 mm, titik awal 15 mm dari bawah dan 12 mm dari kanan ke kiri, dan jarak band 11 mm.

Pelat dikembangkan dalam bejana bangunan kromatografi yang mengandung fasa gerak selama 30 menit/jenuh. Setelah jarak pengembangan 8 cm tercapai, lempeng diambil dan dibiarkan mengering pada suhu kamar. Setelah pengeringan, pelat ulang dikembangkan pada kapal pengembang dengan fase gerak dan jarak pengembangan yang sama seperti sebelumnya. Pelat yang telah dikembangkan dua kali dan dikeringkan digunakan untuk analisis kuantitatif γ -oryzanol.

Analisis kuantitatif dilakukan dengan mengukur luas puncak kromatogram menggunakan pemindai KLT 3 (Camag) dengan perangkat lunak WinCATS. Parameter operasional yang ditentukan dalam pembacaannya adalah panjang gelombang 344 nm dan 520 nm, dimensi celah 8x0,2 mm, kecepatan pemindaian 80 mm/d dan data resolusi 100 μm /langkah. Dibuat kurva kalibrasi antara kadar pembanding γ -oryzanol versus area puncak kromatogram. Kurva ini digunakan dalam penentuan kadar γ -oryzanol dalam sampel.

Penentuan kadar fenolik total (Senja *et al*, 2014)

Sebanyak 1,0 mL larutan uji ekstrak dimasukkan ke dalam labu pengukur 10.0 mL dan dilanjutkan dengan penambahan pereaksi Folin-Ciocalteu sampai pengukuran absorbansi mencapai kurva standar asam galat. Data absorbansi dari sampel selanjutnya digabungkan ke dalam persamaan regresi linier dari kurva asam kesalahan standar. Kandungan fenol total dinyatakan sebagai gram yang setara dengan asam galat dalam setiap 100 gram berat ekstrak (g EAG/100 g)

Aktivitas antioksidan (Goufo and Trindade, 2014)

Uji aktivitas antioksidan pada senyawa yang diisolasi dilakukan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-picrylhydrazyl). Larutan DPPH 0,4 mM dalam metanol p.a. yang digunakan untuk pengujian harus selalu segar. Reaktan DPPH dibuat dengan melarutkan 15,7 mg dalam 100 mL metanol p.a.. Konsentrasi ekstrak etanol dari beras dibuat seri: 1, 2, 4, 6, 8, 10 μg / mL dan juga γ -oryzanol sebagai larutan referensi: 0,05; 0,1; 0,15; 0,2; 0,25 μg / mL. Untuk penentuan aktivitas antioksidan setiap konsentrasi larutan ekstrak beras dan γ -oryzanol, 50 μL diambil, dan kemudian 1 mL 0,4 mM DPPH dan 3950 μL metanol p.a. ditambahkan. Konsentrasi akhir larutan referensi adalah 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 μg / mL dan larutan sampel sampai 10, 20, 40, 60, 80, 100 μg / mL. Campuran dibiarkan selama 30 menit

dalam kegelapan pada suhu kamar kemudian di vortex selama 20 detik.

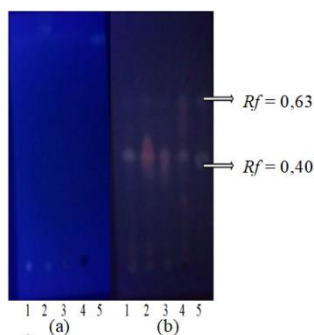
Penyerapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang DPPH maksimum. Aktivitas pemulungan radikal DPPH diukur sebagai penurunan absorbansi larutan kontrol DPPH karena penambahan sampel uji. Nilai absorbansi larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan sampel uji dapat dihitung sebagai persen penangkapan radikal bebas (% PRB), dengan menggunakan perhitungan sebagai berikut:

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

Nilai IC_{50} adalah jumlah yang menunjukkan konsentrasi sampel uji ($\mu\text{g/mL}$) yang memberikan reduksi DPPH sebesar 50%. Nilai IC_{50} ditentukan dengan memasukkan nilai 50 menggantikan y pada persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva konsentrasi larutan uji ($\mu\text{g/mL}$) sebagai sumbu x dan nilai % PRB sebagai sumbu y.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Varietas beras diperoleh dari Gabungan Kelompok Tani (kelompok petani) di Sidomulyo, Godean, Sleman, Yogyakarta. Varietas beras yang digunakan adalah beras Cianjur, Menthik Wangi, IR 64 dan beras Merah diambil pada bulan Mei 2017. Ekstraksi dilakukan menggunakan air dan etanol karena ditujukan untuk penggunaan kosmetik. Pada penelitian ini dilakukan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk melihat keberadaan senyawa γ -oryzanol dalam varietas beras yang berbeda. KLT dilakukan pada ekstrak air dan ekstrak etanol.



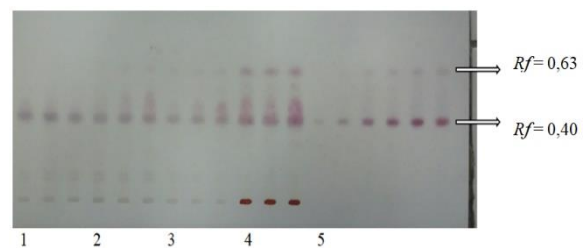
Gambar 1. Profil KLT ekstrak air (a) dan ekstrak etanol (b) pada KLT dengan deteksi vanillin asam sulfat di bawah UV 366 nm.

Fase diam: silika gel 60 F254, Fase gerak: n-heksana: etil asetat = 3: 5 v/v, Jumlah tetesan (konsentrasi 1 mg / ml): 3, Keterangan: 1. Beras IR64, 2 = Beras Cianjur, 3 = Beras mentik wangi 4 = Beras merah, 5 = γ -oryzanol

Hasil KLT ekstrak air dan etanol (Gambar 1) menunjukkan bahwa senyawa γ -oryzanol tidak terlihat dalam ekstrak air, sedangkan dalam ekstrak etanol terlihat jelas keberadaan senyawa tersebut (peak Rf 0,63 dan 0,40). Untuk mengidentifikasi kadar γ -oryzanol dalam berbagai ekstrak etanol dari varietas beras yang berbeda digunakan KLT-Densitometri.

KLT-Densitometri

Pengukuran dilakukan dengan mengukur absorbansi senyawa yang diukur. Dalam Gambar 2 terlihat keberadaan γ -oryzanol pada semua ekstrak etanol varian beras sehingga kadar senyawa bisa ditentukan.

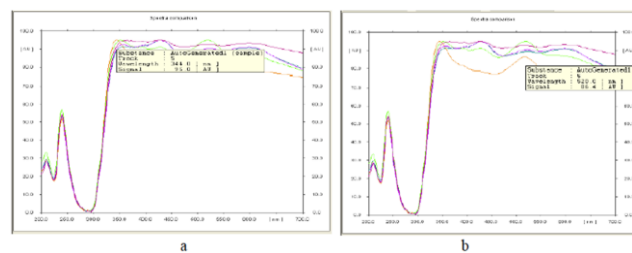


Gambar 2. Profil KLT ekstrak etanol dari berbagai varian beras pada sinar yang terlihat setelah disemprot dengan vanilin asam sulfat .

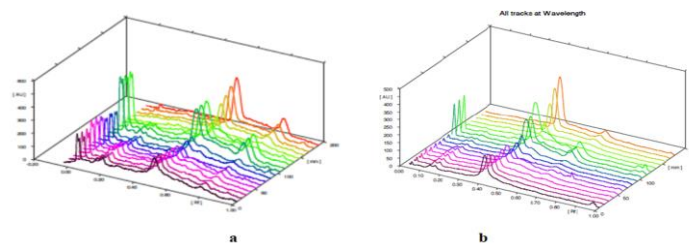
Fase diam: silika gel 60 F254, Fase gerak: n-heksana: etil asetat = 3: 5 v/v, Jumlah tetesan (konsentrasi 1 mg / ml): 3, Keterangan: 1. Beras IR64, 2 = Beras Cianjur, 3 = Beras mentik wangi 4 = Beras merah, 5 = γ -oryzanol

Dalam penelitian ini perlu dilakukan penentuan λ maksimum karena λ yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah λ yang memiliki absorbansi maksimum. Hal ini harus dilakukan karena 1). Pada λ maksimum, sensitivitas maksimal karena pada λ maksimum perubahan absorbansi untuk setiap unit konsentrasi larutan adalah yang terbesar. 2). Pada λ maksimum memiliki bentuk kurva absorbansi linier sehingga memenuhi hukum Lambert-Beer. 3). Pengukuran replikasi akan menghasilkan hasil yang cukup konstan (<http://terpconnect.umd.edu/~toh/models/BeersLaw.html>)

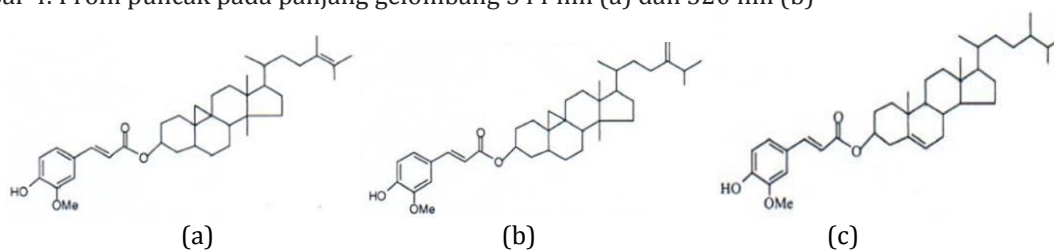
Hasil pengukuran menunjukkan terdapat 2 λ maksimum yaitu pada 344nm dan 520nm. Pada λ 344 nm, 3 puncak muncul pada komparator karena γ -oryzanol diketahui memiliki tiga komponen utama yaitu sikloartenil ferulat, 24-metilen sikloartenil ferulat dan kampesteril ferulat (Gambar 5) (Massarolo et al, 2017). Mereka adalah tiga komponen utama dan merupakan 80% kandungan γ -oryzanol (Xu et al, 2001a).



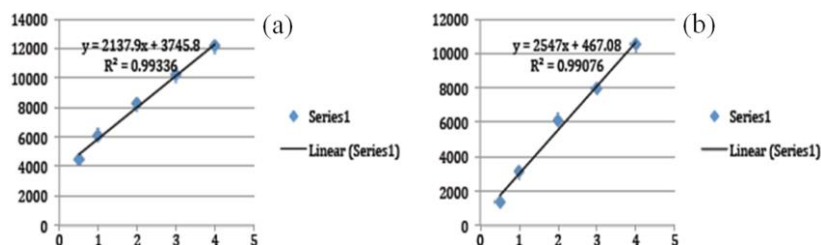
Gambar 3. Pindai pada λ 344 nm (a) dan 520 nm (b)



Gambar 4. Profil puncak pada panjang gelombang 344 nm (a) dan 520 nm (b)



Gambar 5. Struktur sikloartenil ferulat (a), 24-metilen sikloartenil ferulat (b), and kampesteril ferulat (c)



Gambar 6. Kurva regresi linier penentuan tingkat γ -oryzanol pada λ 344 nm (a) dan 520 nm (b)

Penentuan kadar γ -oryzanol dilakukan dengan membuat kurva kalibrasi terlebih dahulu dengan membuat area bercak dengan variasi konsentrasi larutan standar. Kurva yang terbentuk harus linier, maka dengan persamaan garis regresi dapat ditentukan tingkat senyawanya. Kurva regresi linier berada pada λ 344 nm dan 520 nm.

Tabel I dan II menunjukkan bahwa kandungan γ -oryzanol tertinggi ditemukan pada beras merah dengan konsentrasi 0,084% (344 nm) dan 0,076% (520 nm) per berat simplisia. Kesenjangan besar pada tingkat pada panjang gelombang yang berbeda dapat dimengerti karena kandungan γ -oryzanol yang diukur berbeda.

γ -oryzanol adalah campuran ester asam ferulat dan alkohol triterpena, terdapat sekitar 1-2% dalam bentuk minyak di dalam dedak dan berfungsi sebagai antioksidan alami. Isi γ -oryzanol di setiap varietas akan berbeda; γ -oryzanol dalam beras dipengaruhi oleh variasi dan kondisi tempat tumbuh karena komponen antioksidan akan memberikan respon yang berbeda terhadap perubahan lingkungan (Butsat and Siriamornpun, 2010)

γ -Oryzanol adalah senyawa yang bersifat antioksidan yang hanya ditemukan pada dedak beras dan sangat kuat dalam mencegah oksidasi dan lebih efektif dalam mencegah radikal bebas daripada vitamin E12 (Chun *et al*, 2003).

Tabel I. Kadar γ -oryzanol dalam berbagai varian beras pada panjang gelombang 344 nm

Nama Sampel	Berat sampel (mg)	Volume uji (μ l)	volume aplikasi (uji)	Faktor Pengenceran	Absorbansi	Kadar terukur (μ g)	persen kadar (%)
A (1)	1075	2000	5	400.0	8609.62	2.275	0.085
A (2)	1075	2000	5	400.0	8548.01	2.246	0.084
A (3)	1075	2000	5	400.0	8547.65	2.246	0.084
B (1)	1032	2000	5	400.0	6352.79	1.219	0.047
B (2)	1032	2000	5	400.0	6481.47	1.279	0.050
B (3)	1032	2000	5	400.0	6311.48	1.200	0.047
C (1)	1024	2000	5	400.0	5562.49	0.849	0.033
C (2)	1024	2000	5	400.0	5537.98	0.838	0.033
C (3)	1024	2000	5	400.0	5551.11	0.844	0.033
D (1)	1018	2000	3	666.7	13730.07	4.670	0.306
D (2)	1018	2000	3	666.7	13399.37	4.515	0.296
D (3)	1018	2000	3	666.7	13485.11	4.555	0.298

Keterangan: A = Beras IR64, B = Beras Cianjur, C = Beras Mentik wangi D = Beras Merah

Tabel II. Kadar γ -oryzanol dalam berbagai varian beras pada panjang gelombang 520 nm

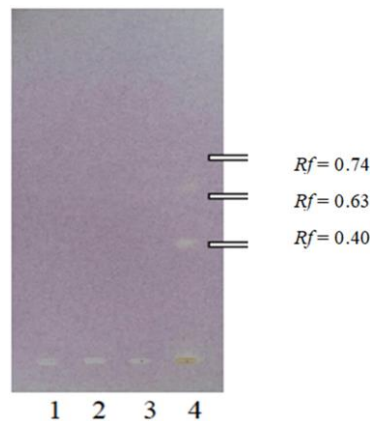
Nama Sampel	Berat sampel (mg)	Volume uji (μ l)	volume aplikasi (uji)	Faktor Pengenceran	Absorbansi	Kadar terukur (μ g)	persen kadar (%)
A (1)	1075	2000	5	400.0	5678.05	2.046	0.076
A (2)	1075	2000	5	400.0	5821.88	2.102	0.078
A (3)	1075	2000	5	400.0	5574.2	2.005	0.075
B (1)	1032	2000	5	400.0	4512.9	1.588	0.062
B (2)	1032	2000	5	400.0	4478.59	1.575	0.061
B (3)	1032	2000	5	400.0	4550.48	1.603	0.062
C (1)	1024	2000	5	400.0	3238.45	1.088	0.043
C (2)	1024	2000	5	400.0	3763.15	1.294	0.051
C (3)	1024	2000	5	400.0	3882.16	1.341	0.052
D (1)	1018	2000	3	666.7	8257.71	3.059	0.200
D (2)	1018	2000	3	666.7	8413.25	3.120	0.204
D (3)	1018	2000	3	666.7	8939.35	3.327	0.218

Keterangan: A = Beras IR64, B = Beras Cianjur, C = Beras Mentik wangi D = Beras Merah

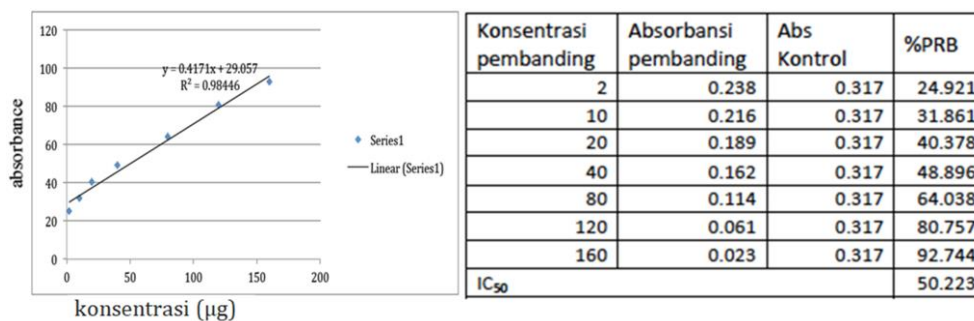
Tabel III. Kadar Fenolik total pada berbagai varian beras

Nama Sampel	Berat sampel (mg)	Volume uji (μ l)	volume aplikasi (uji)	Faktor Pengenceran	Absorbansi	Kadar terukur (μ g)	Persen kadar (%)
A	1071.2	2	0.1	20	0.055	4.936	0.01
A	1071.2	2	0.1	20	0.055	4.936	0.01
A	1071.2	2	0.1	20	0.055	4.936	0.01
B	1034.1	2	0.1	20	0.076	7.17	0.01
B	1034.1	2	0.1	20	0.078	7.383	0.01
B	1034.1	2	0.1	20	0.079	7.489	0.01
C	1023.5	2	0.1	20	0.072	6.745	0.01
C	1023.5	2	0.1	20	0.072	6.745	0.01
C	1023.5	2	0.1	20	0.072	6.745	0.01
D	1015.3	2	0.005	400	0.449	46.851	1.85
D	1015.3	2	0.005	400	0.449	46.851	1.85
D	1015.3	2	0.005	400	0.499	52.17	2.06

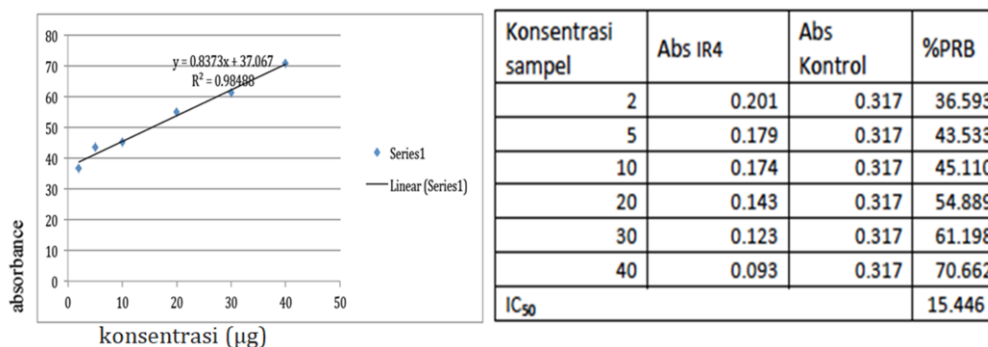
Keterangan: A = Beras IR64, B = Beras Cianjur, C = Beras Mentik wangi D = Beras Merah



Gambar 7. Profil KLT of ekstrak etanol berbagai varian beras pada sinar tampak setelah disemprot dengan DPPH.



Gambar 8. Kurva regresi linear penentuan aktivitas antioksidan dan Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan dari γ -oryzanol



Gambar 9. Kurva regresi linear penentuan aktivitas antioksidan dan Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan dari ekstrak beras IR64

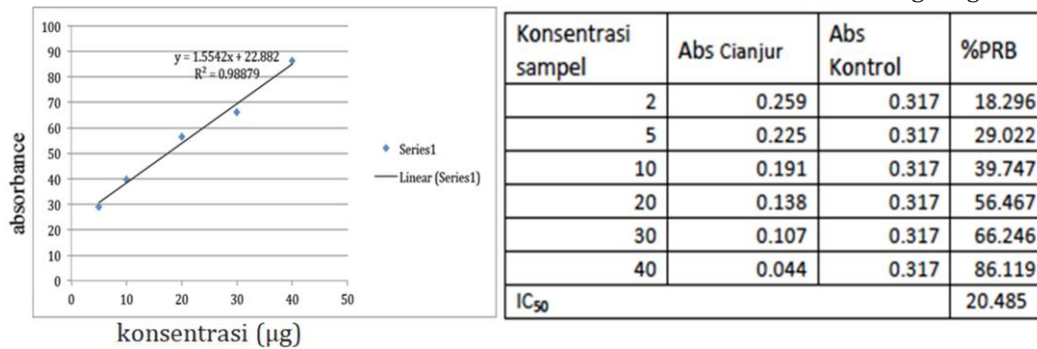
Selain γ -Oryzanol dalam beras juga terdapat senyawa fenolik lain yang juga bisa memberikan efek antioksidan, oleh karena itu perlu dilakukan pengukuran terhadap kandungan fenolik total pada varian beras yang diukur.

Penentuan kadar fenolik total

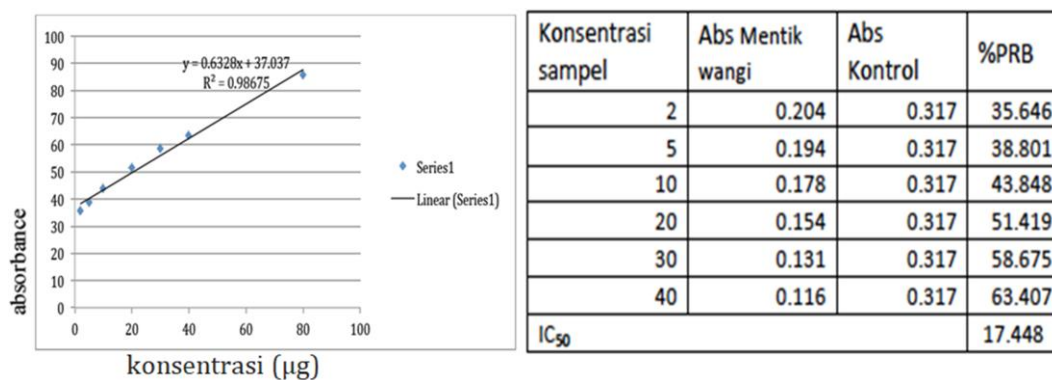
Perhitungan kadar senyawa fenolik total pada varietas beras yang berbeda sangat penting karena dapat menentukan kadar fenolik total

maksimum dan memudahkan pemilihan varietas beras yang memiliki efek antioksidan. Hal ini penting terutama untuk kepentingan kosmetik. Jumlah senyawa fenolik biasanya berkorelasi positif dengan sifat antioksidan (Azlim et al, 2010). Dari Tabel 3 terlihat bahwa varian beras Merah memberikan kadar fenolik total yang paling tinggi daripada varian beras lainnya dengan hasil rerata sebesar 1,92 %.

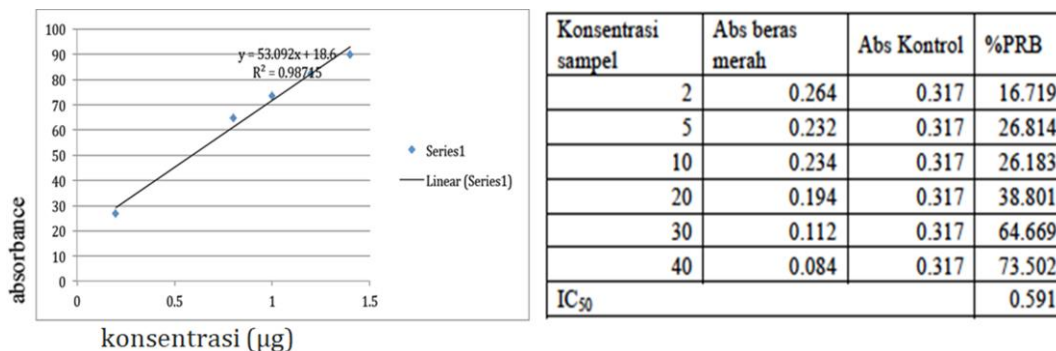
memberi warna latar belakang ungu sementara



Gambar 10. Kurva regresi linear penentuan aktivitas antioksidan dan Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan dari ekstrak beras Cianjur



Gambar 11. Kurva regresi linear penentuan aktivitas antioksidan dan Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan dari ekstrak beras Mentik wangi



Gambar 12. Kurva regresi linear penentuan aktivitas antioksidan dan Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan dari ekstrak beras Merah

Aktivitas antioksidan dari ekstrak *O. sativa*

Hasil uji aktivitas antioksidan dilakukan secara kualitatif dengan analisis menggunakan KLT dan DPPH (Gambar 7). Gambar 7 menunjukkan bahwa secara kualitatif (KLT disemprot dengan DPPH) aktivitas antioksidan hanya muncul pada beras merah. Harga R_f 0,40; 0,63 dan 0,74 adalah interpretasi γ -oryzanol yang

warna ini tidak terlihat pada beras varietas lain. DPPH telah menjadi metode yang umum digunakan karena kesederhanaan, kecepatan, dan kepekaannya terhadap aktivitas antioksidan (Sutomo *et al*, 2013). Hasil uji aktivitas antioksidan untuk ekstrak etanol *O. sativa* (Gambar 8, 9, 10, 11 dan 12).

γ -oryzanol memiliki aktivitas tinggi sebagai antioksidan bahkan empat kali lebih efektif dalam

menghentikan oksidasi pada jaringan tubuh daripada vitamin E karena mengandung berbagai senyawa antioksidan diantaranya asam ferulat (Patel and Naik, 2004). Tiga komponen utama γ -oryzanol memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada empat komponen vitamin E (alfa dan γ -tocopherol, alpha dan γ -tocotrienol). Komponen γ -oryzanol yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi adalah sumbu sikloartenil 24-metilen (Xu and Godber, 2001b; Aladedunye *et al*, 2013). Selain menjadi antioksidan, γ -oryzanol juga terbukti memiliki aktivitas tabir surya karena memiliki peran protektif dalam peroksidasi induksi sinar UV. γ -oryzanol juga efektif untuk menumbuhkan rambut, mencegah penuaan dini (Brigitte, 1995; Choi *et al*, 2014) dan mengurangi keriput (Riedel and Petsitis, 1999).

KESIMPULAN

Kandungan γ -oryzanol tertinggi terdapat pada beras Merah sebesar 0,0843% berat sampel. Kandungan fenolik total tertinggi terdapat pada beras merah sebesar 1,92% berat sampel. Uji kualitatif dengan menggunakan kromatografi lapis tipis menunjukkan aktivitas antioksidan hanya ditemukan pada beras merah dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,591.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas hibah penelitian yang diberikan oleh Fakultas Farmasi, UGM No: UGM/FA/1682.C/M/05/01 dan Ernawati atas bantuannya di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

- Aladedunye, F., Przybylski, R., Rudzinska, M., and Pawlik, DK., 2013, γ -Oryzanol of North American Wild Beras (*Zizania palustris*), *J Am Oil Chem Soc*, **90**(8), 1101-1109
- Azlim, A.A.A., Ahmed, J.K.C., Syed, Z.I., Musthapa, S.K., Aisyah, M.R., and Kamarul, R.K., 2010, Total Phenolic Content and Primary Antioxidant Activity of Methanolic and Ethanolic Extracts of Aromatic Plants' Leaves, *International Food Research Journal*, **17**: 1077-1084.
- Butsat, S., and Siriamornpun, S., 2010, Antioxidant Capacities and Phenolic Compounds of the Husk, Bran and Endosperm of Thai Beras, *Journal of Food Chemistry* **119**: 606-613.
- Brigitte, K., 1995, Cosmetic sunscreen composition containing ferulic acid and gamma oryzanol, DE Part 442038 (to Goldwell GMBH, DE), Chem Absr, **123**, 143661
- Choi JS., Jeon, MH., Moon, WS., Moon, JN., Kim, JW, Jung, SK., Ji, YH., Soon, SW., and Kim, MR, 2014, In vivo hair growth-promoting effect

- of beras bran extract prepared by supercritical carbon dioxide fluid, *Biol Pharm Bull*, **37**(1), 44-53
- Chen, M.H., and Bergman, C.J., 2005, A rapid procedure for analyzing beras bran tocopherol, tocotrienol and γ -oryzanol contents, *J. Food Comp. Anal.*, **18**: 319-331.
- Chun, O.K., Kim, D.O., and Lee, C.Y., 2003, Superoxide Radical Scavenging Activity of The Major Polyphenol in Fresh Plums, *J. Food Chem*, **51**: 8067-8072
- Goufo, P., and Trindade, H., 2014, Beras antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid, *Food Sci Nutr*. **2**(2): 75-104
- <http://terpconnect.umd.edu/~toh/models/BeersLaw.html> (dikutip tanggal 20 Januari 2018)
- Massarolo, K., Ribeiro, AC., Furlong, EB., and Soares, LAS., 2017, Effect of particle size of beras bran on gamma-oryzanol content and compounds, *Journal of Cereal Science*, **75**, 54-60
- Juliano, C., Cossu, M., alamanni, MC., and Piu, L., 2005, Antioxidant activity of gamma-oryzanol: Mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils, *International Journal of Pharmaceutic*, **299**(1-2), 146-154
- Patel, M., and Naik, SN., 2004., Gamma Oryzanol from Beras Bran Oil- A Review. *Journal of Scientific and Industrial Research*, Vol 63, July 2004 : 569-578
- Riedel, JH., and Petsitis, X., 1999, Mascara and Eyebrow pencils containing γ -oryzanol and calcium salt, Eur Pat 945120 (toEISAI Co Ltd, JP), *Chem Absr*, **131**, 248032
- Senja, R.Y., Issusilaningtyas, E., Nugroho, A.K., and Setyowati, E.P., 2014, The Comparison of extraction Method and Solvent Variation on Yield and Antioxidant activity of *Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra* extract, *Traditional Medicine Journal*, **19** (1): 43-48
- Sutomo, Wahyuono, S., Riyanto, S., and Setyowati, EP., 2013, Isolation and Identification of Active Compound of n-hexane Fraction from Kasturi (*Mangifera casturi* Konsterm.) against Antioxidant and Immunomodulatory Activity, *Journal of Biological Sciences*, **13** (7): 596-604
- Xu, Z., Hua, N., and Godber, JS., 2001b, Antioxidant Activity of Tocopherols, Tocotrienols, and γ -Oryzanol Components from Beras Bran against Cholesterol Oxidation Accelerated by 2,2'-Azobis(2-methylpropionamide) Dihydrochloride, *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **49** (4), pp 2077-2081

Xu, Z, Godber, J.S. and Xu, Z., 2001a, Antioxidant activities of major components of γ -oryzanol from beras bran using linolenic acid model, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **78**: 465-469.

Zou, Y., Lu, Y., and Wei, D., 2004, Antioxidant activity of Flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L in vitro, *J. Agric. Food Chem*, **52**, 5032-5039.