

Antioxidant Activity in Spinach, Beetroot and Wheat Pollard as Vegetable Sources Rich in Betaine for Poultry Feed

Nadhira Yahdiyani¹, Abun Abun^{2*}, and Indrawati Y. Asmara³

¹Pascasarjana, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

²Departemen Nutrisi Ternak dan Teknologi Pakan, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

³Departemen Produksi Ternak, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

Abstract

Betaine, also known as trimethylglycine, is widely found in plants, animals, microbes, and also abundant in seafood, spinach, beets, and wheat bran. In animal nutrition, including poultry, betaine is commonly used as a feed additive to reduce oxidative stress. This study aims to identify the proximate analysis, extraction yield, antioxidant activity, and betaine content in spinach, beets, and wheat bran—that contain betaine for poultry feed. The research employed an experimental design with a Completely Randomized Design consisting of 3 treatments and 6 replications. The extraction process for the plant materials was carried out using the reflux method. Observed parameters include proximate analysis (moisture content, ash content, protein, and fat), extraction yield, antioxidant activity, and betaine content. The results showed that wheat bran had a moisture content of 8.45%, ash content of 5.01%, fat content of 0.39%, extraction yield of 19.60%, and antioxidant activity of 1,365.79 ppm, which were better compared to the other two plant. Meanwhile, spinach exhibited a protein content of 26.17%, and beets showed a betaine content of 1138 mg/100g, which was higher than the other two. Therefore, wheat bran is recommended due to its lower moisture, ash, and fat content, along with a better extraction yield and antioxidant activity.

Keywords: antioxidant, betaine, spinach, sugar Beet, wheat Pollard

Aktivitas Antioksidan pada Bayam, Bit dan Dedak Gandum Sebagai Sumber Senyawa Betain pada Pakan Unggas

Abstrak

Betaine yang dikenal juga sebagai trimetilglisin, tersebar luas di tanaman, hewan, mikroba, dan sumber nutrisi yang melimpah seperti makanan laut, bayam, bit, dan dedak gandum. Dalam bidang nutrisi hewan, termasuk untuk unggas, betain sering digunakan sebagai tambahan pakan untuk mengurangi stress oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi analisis proksimat, rendemen ekstrak, aktivitas antioksidan dan kadar betain pada tiga jenis sumber nabati yaitu bayam, bit dan dedak gandum yang mengandung betain pada pakan unggas. Penelitian menggunakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap yang terdiri dari 3 perlakuan dan 6 ulangan. Proses ekstraksi ketiga bahan nabati menggunakan metode refluks. Parameter yang diamati diantaranya analisis proksimat yaitu kadar air, kadar abu, protein, dan lemak serta nilai rendemen, aktivitas antioksidan dan kadar betain. Hasil penelitian menunjukkan bahan nabati dedak gandum memiliki kandungan kadar air 8.45%, abu 5.01%, lemak 0.39%, nilai rendemen 19.60% dan aktivitas antioksidan 1,365.79 ppm yang lebih baik dibanding kedua bahan nabati lainnya. Sedangkan bayam menunjukkan kadar protein 26.17% dan bit menunjukkan hasil kadar betain 1138 mg/100g lebih tinggi dibanding kedua bahan nabati lainnya. Sehingga pada penelitian ini penggunaan dedak gandum direkomendasikan karena memiliki kadar air, abu dan lemak yang rendah, nilai rendemen serta aktivitas antioksidan yang lebih baik dibanding kedua bahan lainnya.

Kata Kunci: antioksidan, bayam, betain, bit, dedak gandum

Article History:

Submitted 25 July 2024

Revised 30 July 2024

Accepted 31 July 2024

Published 19 March 2025

*Corresponding author:

abun@unpad.ac.id

Citation:

Yahdiyani, N., Abun, A. Asmara I.Y. Antioxidant Activity in Spinach, Beetroot and Wheat Pollard as Vegetable Sources Rich in Betaine For Poultry Feed. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2025;12 (1),129-137.

1. Pendahuluan

Radikal bebas merupakan spesi molekul yang reaktif karena adanya elektron tidak berpasangan. Kondisi tidak stabil tersebut menyebabkan radikal bebas memiliki kecenderungan mengikat elektron disekitarnya hingga menyebabkan reaksi berantai yang dalam kondisi lebih lanjut menyebabkan kerusakan pada sel hingga jaringan tubuh.¹⁻⁴ Dalam kondisi basal, radikal bebas dihasilkan dari proses metabolisme dan berperan penting dalam beberapa proses fisiologi tubuh. Namun, kondisi stress panas menyebabkan kondisi stress oksidatif dimana radikal bebas dalam tubuh diproduksi secara berlebihan.⁵ Oleh karena itu diperlukan suatu agen antioksidan yang berperan untuk mengurangi efek stress oksidatif. Adapun salah satu senyawa yang berpotensi digunakan sebagai agen antioksidan adalah betain.

Betain yang dikenal juga sebagai trimetilglisin merupakan senyawa yang keberadaannya melimpah di berbagai tanaman, hewan, mikroba.⁶ Secara struktur kimianya, betain memiliki tiga gugus metil yang berperan sebagai donor proton untuk menangkal senyawa radikal bebas. Mekanisme unik antioksidan lain yang ditunjukkan adalah melalui pembentukan membran pelindung di sekitar sel.⁷ Selain itu, betain juga berperan sebagai osmolit untuk menjaga keseimbangan air dan ion seluler, terutama pada unggas yang mengalami stres panas. Aktivitas sebagai osmolit ini menyebabkan betain banyak digunakan di bidang peternakan untuk mengurangi stres oksidatif pada unggas.⁸ Penelitian telah menunjukkan bahwa betain memiliki sifat anti-inflamasi dan antioksidan. Betain telah terbukti memiliki efek anti-inflamasi pada berbagai penyakit, seperti obesitas, diabetes, kanker, penyakit Alzheimer, dan gangguan neurologis.^{6,9-12}

Beberapa bahan sumber nabati yang mengandung senyawa betain diantaranya adalah bayam, buah bit dan dedak gandum. Penelitian yang dilakukan oleh¹³ menunjukkan bayam, bit, dan dedak gandum yang direbus terlebih dahulu mengandung kadar betain masing-masing sebesar 599.81 mg/100g, 114.42 mg/100g, dan 1339.35 mg/100g. Adapun bayam juga memiliki kandungan senyawa lain termasuk flavonoid, yang bersifat sebagai antioksidan, anti-proliferatif, dan anti-inflamasi¹⁴. Buah bit memiliki efek anti-inflamasi, sifat antioksidan, efek anti-stres, efek anti-kecemasan dan anti-depresi, anti-kanker, efek anti-hipertensi, sifat hidrofobik, efek anti-sterilitas.¹⁵ Dedak gandum merupakan limbah penggilingan gandum dengan kandungan protein dan energi metabolis tinggi, lemak dan kadar air yang rendah. Dedak gandum juga mengandung vitamin B1 dan B kompleks.¹⁶

Pengembangan pakan ternak berbasis bahan nabati masih banyak dilakukan guna mengoptimalkan produksi unggas dengan kualitas yang baik. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan guna membandingkan analisis proksimat, nilai rendemen, aktivitas antioksidan, dan kadar betain pada bayam, buah bit dan dedak gandum guna memperoleh bahan nabati utama dalam pengembangan pakan unggas kaya nutrisi dan tinggi antioksidan.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Neraca analitik (Shimadzu, Germany), Oven (Yenaco, China), Tabung reaksi (Iwaki, Indonesia), Labu ukur 10 ml, Labu Kjeldahl, Pipet (Ecopipette CAPP, Denmark), Soxhlet Otomatis (Foss, Denmark), *Refrigerated centrifuge* (Sigma, Germany), kertas saring Whatman (Cytiva), *Rotary evaporator* (Buchi, Swiss), *Freezer* (Aqua, Jepang), rangkaian Refluks (*Boiling flask* 500ml, Pyrex; Kondensor Allihn 300mm; Statif 75cm; *Clamp holder* dan Boshed 2pcs; *Heating Mantle* 80watt, MTOPS), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu, Germany), *Cuvette* (Brand, Germany), HPLC (Waters Alliance e2695, USA), UPLC (Waters Acquity H Class, USA).

2.2. Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah tiga jenis sumber nabati yang terdiri dari bayam (pasar Induk Gede Bage, Bandung, Indonesia), bit (pasar Tegalega, Bandung, Indonesia) dan dedak gandum (CV. Kurnia Feed, Sumedang, Indonesia). Bahan kimia yang digunakan yaitu metanol KOH (0.5M) (CV. Meteora Pelangi Jaya, Bandung, Indonesia), karbon aktif (CV. Meteora Pelangi Jaya, Bandung, Indonesia) dan 36% konsentrasi HCl pekat (Merck), Aquadest (Aqua Science, USA), larutan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Merck, Germany), sebagai pelarut digunakan metanol p.a (CV. Meteora Pelangi Jaya, Bandung, Indonesia), Milli-Q (Merck, Germany), Acetonitrile (Merck, Germany).

2.3. Prosedur

Rangkaian penelitian yang dilakukan meliputi preparasi sampel bahan nabati, pembuatan ekstrak, pengujian sampel yang terdiri dari analisis proksimat, nilai rendemen, analisis aktivitas antioksidan, dan analisis kadar betain, lalu analisis statistik. Preparasi sampel dan pembuatan ekstrak bahan sumber nabati dilakukan di Laboratorium Riset dan Pengujian Bioteknologi, Fakultas Peternakan,

Universitas Padjadjaran. Pengujian analisis proksimat dilakukan di Laboratorium Nutrisi Ternak Ruminansia dan Kimia Makanan, Fakultas Peternakan, Universitas Padjadjaran. Pengujian nilai rendemen, analisis antioksidan dan kadar betain dilakukan di Laboratorium Sentral, Universitas Padjadjaran.

2.3.1. Preparasi Sampel Bahan Nabati

Bayam dan bit dicuci lalu dipotong-potong dan ditimbang untuk memperoleh berat segar. Bayam dan bit kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 6 jam dan ditimbang kembali setelah kering untuk memperoleh bobot kering. Dedak gandum didapatkan dalam bentuk kering. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar air dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\%Kadar\ air = \frac{Berat\ awal - Berat\ akhir}{Berat\ awal} \times 100\%$$

2.3.2. Pembuatan Ekstrak dari Sumber Nabati

Bayam, bit dan dedak gandum kemudian dihaluskan hingga menjadi tepung dan diekstraksi dengan menggunakan metode refluks. Sebanyak 4 g bayam, bit dan dedak gandum secara terpisah dimasukkan ke dalam labu didih, ditambahkan 0.5 M KOH 30 mL dan dipanaskan pada suhu 60°C selama 3 jam. Selanjutnya ekstrak tersebut didinginkan dan ditambahkan dengan 10 mL metanol, 1 g karbon aktif dan 1mL HCl pekat konsentrasi 36%. Ekstrak dihomogenkan lalu ditutup dengan menggunakan parafilm dan lalu disimpan pada suhu -20°C selama 15 menit. Ekstrak kemudian disentrifugasi menggunakan Refrigerated centrifuge pada 2500 rpm selama 15 menit. Supernatan dipisahkan lalu ditambah dengan 40 mL metanol dan diuapkan rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak dihitung dengan menggunakan persamaan berikut¹⁷ :

$$\%Rendemen = \frac{Bobot\ ekstrak\ yang\ diperoleh}{Bobot\ ekstrak\ simplisia\ awal} \times 100\%$$

2.3.3. Analisis Proksimat

Analisis kadar air, abu, protein dan lemak pada penelitian ini menggunakan metode AOAC.¹⁸ Analisis kadar air dengan metode pengeringan/oven (Thermogravimetri), analisis kadar abu dengan metode pengabuan dengan tanur, analisis kadar protein dengan metode Kjeldahl dan analisis kadar lemak dengan metode Soxhlet.

2.3.4. Analisis Antioksidan

Aktivitas antioksidan dari tiga jenis bahan nabati bit,

bayam dan dedak gandum diuji menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Aktivitas antioksidan diidentifikasi berdasarkan perubahan warna sampel setelah bereaksi dengan DPPH selama periode inkubasi. Selanjutnya, nilai absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

2.3.5. Analisis Kadar Betain

Pengujian kadar betain dilakukan menggunakan HPLC dilanjutkan dengan UPLC. HPLC digunakan untuk pemisahan purifikasi betain. UPLC digunakan untuk karakteristik kuantitatif dan kualitatif betain. Sistem HPLC yang digunakan adalah fase gerak dengan metode gradien Milli-Q : ACN (100:0) sampai Milli-Q : ACN (20: 80). Kolom C18 digunakan sebagai fase diam. Ekstrak diinjeksi sebanyak 250 µL yang diukur pada 3 panjang gelombang (340 nm, 356 nm dan 365 nm). Setiap fraksi yang diperoleh ditampung dan untuk menentukan kromatogram mana yang merupakan senyawa betain. Fraksi pada waktu retensi yang sesuai dengan waktu retensi standar betain kemudian dikeringkan dengan rotary evaporator. Sampel yang sudah kering kemudian dipreparasi kembali. Ditimbang 1 mg dalam 1 : 1 mL acetonitril : air menghasilkan larutan 1000ppm. Sampel kemudian diuji dengan UPLC untuk karakterisasi kualitatif dan kuantitatif.

Larutan standar betain dibuat dengan melarutkan 1 mg dalam 1 : 1 mL acetonitril : air, menghasilkan larutan induk 1000 ppm. Pengenceran kembali dengan mengambil 0.1, 0.08, 0.06, 0.04, 0.02 dalam 1 mL asetronitril : 1mL air, didapatkan konsentrasi 100; 80; 60; 40; dan 20 ppm, yang kemudian disaring menggunakan filter membran 0,22 µm. Sistem fase gerak UPLC yang digunakan adalah larutan buffer amFm (ammonium format) dengan pH 3. Kolom Acquity UPLC BEH Hilic 2.1x100mm digunakan sebagai fase diam. Dialirkan melalui kolom selama 10 menit pada suhu kolom 30°C. Laju aliran fase gerak adalah 0,25 mL/menit pada panjang gelombang 241 nm. Sebanyak 5 µL larutan standar disuntikkan ke dalam injektor dalam posisi load. Injektor diaktifkan dalam posisi inject secara simultan, dan elusi dibiarkan terjadi. Langkah yang sama dilakukan untuk sampel.

2.3.6. Analisis Statistika

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS 26 (2019; USA, SPSS). Tingkat signifikansi 0.05 digunakan untuk menentukan apakah terdapat perbedaan signifikan di antara kelompok perlakuan. Variabel yang memiliki F hitung dengan tingkat signifikansi kurang dari 0.05 dibandingkan F tabel diuji lanjut menggunakan uji Jarak Berganda Duncan.

3. Hasil

3.1. Analisis Proksimat

Hasil analisis proksimat ketiga bahan sumber nabati dapat dilihat pada tabel 1.

3.1.1. Kadar Air

Berdasarkan tabel 1, analisis ragam persentase kadar air ketiga jenis bahan nabati (P1, P2, dan P3) menunjukkan hasil yang signifikan ($P < 0,05$) antara P1 dan P3 serta P2 dan P3, sedangkan P1 dan P2 menunjukkan hasil yang tidak signifikan ($P > 0,05$). Persentase kadar air pada P1 sebesar 91.77%, P2 sebesar 91.90%, dan P3 sebesar 8.45%.

3.1.2. Abu

Analisis ragam kadar abu ketiga jenis bahan nabati (P1, P2, dan P3) pada tabel 1. menunjukkan hasil yang signifikan ($P < 0,05$) antara P1 dan P2, P2 dan P3 serta P1 dan P3. Persentase kadar abu pada P1 sebesar 24.49%, P2 sebesar 18.07%, dan P3 sebesar 5.01%.

3.1.3. Protein

Berdasarkan tabel 1, analisis ragam kadar protein ketiga jenis bahan nabati (P1, P2, dan P3) menunjukkan hasil yang signifikan ($P < 0,05$) antara P1 dan P2, P2 dan P3 serta P1 dan P3. Persentase protein pada P1 sebesar 26.17%, P2 sebesar 15.83%, dan P3 sebesar 16.96%.

3.1.4. Lemak Kasar

Hasil analisis ragam kadar lemak ketiga jenis bahan nabati (P1, P2 dan P3) pada tabel 1. menunjukkan hasil yang signifikan ($P < 0,05$) antara P1 dan P2 serta P1 dan P3. Sedangkan P2 dan P3 menunjukkan hasil yang tidak signifikan ($P > 0,05$). Persentase lemak kasar P1 sebesar 7.43%, P2 sebesar 0.96%, dan P3 sebesar 0.39%

3.2. Rendemen Ekstrak

Berdasarkan tabel 2, analisis ragam rendemen ekstrak dan aktivitas antioksidan ketiga jenis bahan nabati (P1, P2, dan P3) menunjukkan hasil yang signifikan ($P < 0,05$) antara P1 dan 2 serta P1 dan P3. Sedangkan P2 dan P3 menunjukkan hasil tidak signifikan ($P > 0,05$). Nilai rendemen P1 sebesar 2.84%, P2 sebesar 12.56%, dan P3 sebesar 19.60%. Aktivitas Antioksidan

3.3. Aktivitas Antioksidan

Berdasarkan tabel 2, analisis ragam aktivitas antioksidan ketiga jenis bahan nabati (P1, P2, dan P3) menunjukkan hasil yang signifikan ($P < 0,05$) antara P1 dan P3 serta P2 dan P3. Sedangkan P1 dan P2 menunjukkan hasil tidak signifikan ($P > 0,05$) Aktivitas antioksidan P1 sebesar 3,510.47 ppm, P2 sebesar 2,075.50 ppm, dan P3 sebesar 1,365.79 ppm.

3.4. Analisis Kadar Betain

Analisis ragam kadar betain ketiga jenis bahan nabati (P1, P2, dan P3) menunjukkan hasil yang signifikan ($P < 0,05$) antara P1 dan P2 serta P2 dan P3. Sedangkan hasil tidak signifikan ($P > 0,05$) ditunjukkan oleh P1 dan P3. Kadar betain P1 sebesar 762 mg/100g, P2 sebesar 1138 mg/100g, dan P3 sebesar 779 mg/100g.

4. Pembahasan

4.1. Analisis Proksimat

4.1.1. Kadar Air

P3 memiliki kandungan persentase kadar air terendah yaitu sebesar 8.45% dibandingkan dengan bahan nabati lainnya. Kadar air P3 juga menunjukkan hasil yang lebih rendah dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan¹⁹ yang menyatakan kadar air dedak gandum sebesar 11.48%. Hal tersebut juga sejalan dengan SNI 7992 tahun 2014 yang menyatakan bahwa kadar air maksimal dedak gandum yaitu sebesar 13%.²⁰ menyatakan bahwa kadar air yang tinggi mampu mempengaruhi kualitas suatu bahan, semakin tinggi kadar air akan mempercepat pertumbuhan mikroba

Tabel 1. Data Hasil Analisis Proksimat Sumber Nabati Mengandung Betain

Parameter	Jenis Bahan Nabati			P value
	P1	P2	P3	
Kadar Air (%)	91.77 ± 0.36 ^b	91.90 ± 0.27 ^b	8.45 ± 0.16 ^a	0.0001
Abu (%)	24.49 ± 0.68 ^c	18.07 ± 0.16 ^b	5.01 ± 0.19 ^a	0.0001
Protein (%)	26.17 ± 0.44 ^a	15.83 ± 0.40 ^c	16.96 ± 0.48 ^b	0.0001
Lemak Kasar (%)	7.43 ± 0.73 ^b	0.96 ± 0.18 ^a	0.39 ± 0.16 ^a	0.0001

Huruf superscript yang sama tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0.05$).

Keterangan: P1 = Bayam; P2 = Bit ; P3 = Dedak gandum

Tabel 2. Data Hasil Rendemen Ekstrak, Aktivitas Antioksidan dan Kadar Betain

Parameter	Jenis Bahan Nabati			P _{value}
	P1	P2	P3	
Rendemen (%)	2.84 ± 0.30b	12.56 ± 0.51a	19.60 ± 0.47a	0.0001
Antioksidan (ppm)	3,510.47 ± 14.22b	2,075.50 ± 32.55b	1,365.79 ± 14.15a	0.0001
Betain (mg/100g)	762 ± 7.75b	1138 ± 33.00a	779 ± 10.02b	0.001

Huruf superscript yang sama tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P < 0.05$).
Keterangan: P1 = Bayam; P2 = Bit ; P3 = Dedak gandum

serta merusak fisik bahan. Pemilihan metode pengeringan secara signifikan mempengaruhi kadar air dan retensi nutrisi tanaman²¹ dan diduga proses pengeringan mempengaruhi jumlah kadar air dalam bahan P1 dan P2.

Kadar air suatu bahan pada umumnya tidak lebih dari 10%.²² Kadar air yang rendah bisa memperpanjang umur simpan dan juga menghambat pertumbuhan mikroba patogen.²³ Nilai aktivitas air dalam bahan akan mengalami penurunan ketika kadar air dalam bahan berkurang. Penurunan nilai aktivitas air dapat menghambat potensi pertumbuhan mikroba patogen, menginaktivasi enzim dan mencegah munculnya potensi reaksi kimia dan biokimia yang menyebabkan penurunan mutu bahan. Maka dari itu, bahan dengan kadar air rendah akan menjadi lebih stabil dan memperpanjang umur simpannya.²⁴

4.1.2. Abu

P3 memiliki kandungan serat kasar terendah yaitu sebesar 3.41% dibandingkan dengan bahan nabati lainnya. Hasil tersebut lebih rendah bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh¹⁹ yang menyatakan persentase serat kasar sebesar 8.04%. Perbedaan kadar abu diduga disebabkan oleh perbedaan lingkungan hidup dari tanaman tersebut. Tanaman memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam meregulasikan dan mengabsorpsi logam.²⁵ Jumlah abu pada tanaman, terkait dengan kandungan mineralnya. Tingginya kadar mineral dalam tanaman dapat menyebabkan kadar abu yang lebih tinggi.²⁶ Bayam kaya akan mineral penting seperti natrium, kalsium, kalium, seng, dan mangan, serta nitrat.²⁷ Demikian pula bit, mengandung sejumlah besar mineral esensial seperti mangan, natrium, kalium, magnesium, besi, dan tembaga.²⁸ Sehingga diduga hal tersebut sebagai penyebab kadar abu pada P1 dan P2 tinggi.

Kadar abu berkaitan erat dengan kandungan mineral dari suatu bahan. Semakin rendah kadar abu, maka persentase bahan organik menjadi lebih tinggi dibandingkan bahan anorganiknya.²⁹ Kadar abu pada bahan P3 yang rendah menunjukkan bahwa

bahan tersebut mengandung bahan organik tinggi. Kadar abu merupakan campuran antara komponen anorganik atau mineral yang terdapat dalam suatu bahan pangan. Komponen anorganik bahan akan terbakar selama proses pembakaran, sedangkan bahan organiknya tidak.³⁰ Berdasarkan hal tersebut, kadar abu yang rendah pada bahan P3 menunjukkan tingginya kandungan bahan organik dan menegaskan bahwa persentase bahan organik lebih tinggi dibandingkan bahan anorganiknya.

4.1.3. Protein

P1 memiliki kandungan protein tertinggi yaitu sebesar 26.17% dibandingkan dengan bahan nabati lainnya. P2 dan P3 memiliki kandungan protein yang lebih rendah, hal ini disebabkan karena protein yang berasal dari tanaman sering kekurangan satu atau lebih asam amino esensial dan umumnya kurang dapat dicerna dibandingkan dengan protein dari sumber hewani.³¹ Protein tanaman juga memiliki kandungan rendah asam amino esensial yang mengandung sulfur, seperti sistin, metionin, dan triptofan, yang penting untuk menjaga kualitas protein yang tinggi.³² Penelitian yang dilakukan oleh³³ menyatakan bahwa protein kasar dalam tepung bayam sebesar 18.93%, lebih rendah dibandingkan dengan P1. Perbedaan nilai tersebut diduga disebabkan oleh perbedaan proses pengolahan dari bayam mentah menjadi tepung. Pada penelitian ini proses pemanasan lebih singkat bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh.³³ Proses pemanasan dapat menurunkan kadar protein bahan, sebab protein merupakan nutrisi yang mudah rusak dengan pemanasan bersuhu tinggi.²⁵

Sebagai kesimpulan, kadar protein P1 menunjukkan hasil tertinggi dibandingkan dengan bahan nabati lainnya. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh proses pengolahan yang lebih singkat, yang mempengaruhi kadar protein yang terjaga dengan baik dalam produk tersebut. Selain menjadi feed aditif, bahan P1 dapat menjadi asupan protein tambahan bagi ternak karena mengandung protein lebih dari 20%. Hal ini sesuai dengan teori³⁴, yang menyatakan bahwa bahan yang memiliki kandungan protein minimal 20% dapat dikatakan sebagai sumber protein

untuk pakan unggas.

4.1.4. Lemak Kasar

P3 menunjukkan nilai kadar lemak terendah sebesar 0.39% dibandingkan dengan bahan nabati lainnya. Hal ini sejalan dengan pernyataan bahwa batasan penggunaan lemak dalam bahan pakan yaitu sebesar 3%,³⁵ sehingga P3 dapat dijadikan sebagai bahan sumber nabati mengandung betain. Kadar lemak yang tinggi pada P1 diduga karena beberapa varietas bayam telah ditemukan memiliki persentase lemak yang berbeda-beda, dan varietas tertentu menunjukkan kandungan lemak yang tinggi.³⁶

Kadar lemak yang rendah pada P3 juga diduga disebabkan oleh proses pengolahan dedak gandum dari biji gandum. Pengolahan gandum menjadi dedak gandum melibatkan proses pemanasan, kadar lemak yang menyusut pada dedak gandum selama pemanasan menyebabkan hilangnya cairan dalam jaringan pada biji gandum. Hal ini sesuai dengan pendapat yang menyatakan bahwa pemasakan bersuhu tinggi mempengaruhi rendahnya kadar lemak bahan.³⁷ Kadar lemak juga berbanding terbalik dengan kadar protein, dimana semakin tinggi kadar protein maka kadar lemak yang dihasilkan semakin rendah. Dengan demikian, proses pemanasan selama pengolahan dedak gandum secara signifikan berkontribusi terhadap penurunan kadar lemak dalam produk akhir.

4.5. Rendemen Ekstrak

P3 memperlihatkan hasil rendemen tertinggi sebesar 19.60% dibandingkan bahan nabati lainnya³⁸ menyatakan bahwa terdapat kaitan antara rendemen dengan senyawa aktif dari suatu bahan, semakin banyak jumlah rendemen maka jumlah zat aktif yang terkandung dalam bahan tersebut juga semakin banyak.

Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10%.³⁹ Proses pemanasan dengan metode refluks diduga dapat meningkatkan kemampuan pelarut dalam mengekstraksi senyawa yang tidak larut dalam suhu kamar, sehingga penarikan senyawa lebih maksimal.⁴⁰ Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan⁴¹ dengan metode refluks dengan proses pemanasan menyebabkan penyarian senyawa aktif lebih optimal. Semakin tinggi suhu ekstraksi, semakin mudah pelarut diserap oleh bahan, sehingga sampel yang terekstrak semakin banyak⁴². Pada proses penyarian, lama ekstraksi sangat berpengaruh terhadap hasil yang diperoleh⁴³ semakin lama waktu ekstraksi, semakin tinggi rendemen yang diperoleh, karena kesempatan bereaksi antara bahan dengan pelarut semakin lama sehingga proses penetrasi

pelarut kedalam sel bahan semakin baik yang menyebabkan semakin banyak senyawa yang berdifusi keluar sel.

Kadar air bahan yang tinggi juga bisa menyebabkan nilai rendemen suatu bahan rendah. P1 dan P2 memiliki kadar air yang tinggi, suhu pengovenan bahan bisa menjadi salah satu faktor mengapa nilai rendemen rendah.⁴⁴ Semakin lama proses pengeringan bahan dengan oven, dapat menyebabkan penguapan kadar air dalam bahan semakin besar, sehingga massa kering bahan juga akan menyusut.

4.6. Aktivitas Antioksidan

P3 memperlihatkan nilai aktivitas antioksidan terendah sebesar 1,365.79 ppm bila dibandingkan bahan nabati lainnya. Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menangkap radikal DPPH sebanyak 50%.⁴⁵ Semakin kecil nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa kemampuan antioksidan untuk meredam radikal bebas semakin besar⁴⁶. Kategori aktivitas antioksidan terbagi menjadi kategori sangat lemah, lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat.⁴⁷ Antioksidan dikatakan sangat lemah apabila nilai IC₅₀ >200 ppm, antioksidan lemah memiliki kisaran IC₅₀ 150 ppm – 200 ppm, antioksidan sedang memiliki nilai IC₅₀ kisaran 100 ppm - 150 ppm, antioksidan kuat memiliki nilai IC₅₀ berada pada kisaran 50 ppm hingga 100 ppm, sedangkan antioksidan sangat kuat memiliki nilai IC₅₀ <50 ppm.⁴⁸

Berdasarkan nilai IC₅₀, semua nilai aktivitas antioksidan ketiga bahan lebih besar dari 50 yang berarti aktivitas antioksidannya sangat lemah. Aktivitas antioksidan yang sangat lemah bisa disebabkan oleh proses pemanasan. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya,⁴⁹ dimana suhu pemanasan yang semakin tinggi mengakibatkan aktivitas antioksidan pada bahan semakin rendah. Pemanasan dengan metode refluks diduga menyebabkan aktivitas antioksidan ketiga bahan rendah. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan⁵⁰ bahwa metode dan kondisi ekstraksi dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan bahan tanaman.

Nilai rendemen yang rendah pun juga diduga menjadi penyebab nilai aktivitas antioksidan ketiga bahan rendah. Ekstrak dengan rendemen yang lebih tinggi dikaitkan dengan sifat antioksidan yang lebih tinggi.⁵¹ P3 memperlihatkan nilai rendemen tertinggi dengan aktivitas antioksidan terendah, yang berarti memiliki sifat antioksidan lebih baik dibandingkan bahan lainnya. Walaupun berdasarkan kategori, aktivitas antioksidan diatas 200 ppm termasuk antioksidan sangat lemah. Aktivitas antioksidan ketiga bahan diduga sangat lemah disebabkan ekstrak masih belum

murni dan diduga masih mengandung senyawa lainnya sehingga menghambat aktivitas antioksidannya.⁵²

4.7. Analisis Kadar Betain

P2 memperlihatkan hasil kadar betain tertinggi sebesar 1138 mg/g. Penelitian ini lebih besar dibandingkan penelitian yang dilakukan¹³ yang menyatakan bahwa kadar betain dalam bit sebesar 114.42 mg/100g, dengan metode perebusan dan pengeringan.

Betain dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti glutathionin, peroksidase, katalase, dan superoksidasasi dismutase.⁵³ Kadar betain yang tinggi dalam P2 sebagai suplemen untuk unggas, dapat meningkatkan aktivitas antioksidan secara signifikan, meningkatkan pertahanan antioksidan dan kualitas daging, serta mengurangi peroksidase lipid pada jaringan otot.^{53,54}

Metode ekstraksi refluks yang dilakukan pada penelitian ini bertujuan untuk mengekstrak betain lebih banyak. Metode ekstraksi berperan penting dalam menentukan konsentrasi atau kehilangan efek terapeutik dari simplisia, karena stabilitas dan degradasi simplisia sangat bergantung pada metode ekstraksi yang diterapkan⁵⁵. Betain relatif stabil terhadap pemanasan dibandingkan dengan banyak senyawa lainnya^{56,57}.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi refluks mampu menghasilkan kadar betain yang lebih tinggi yang disebabkan oleh stabilitas betain terhadap pemanasan lebih baik dibandingkan banyak senyawa lain.

5. Simpulan

Dedak gandum sebagai bahan nabati mengandung betain memiliki kandungan air, abu dan lemak yang rendah, rendemen ekstrak yang tinggi serta aktivitas antioksidan yang terendah dibanding bahan nabati lainnya. Sedangkan bayam mengandung protein lebih tinggi dibanding kedua bahan lainnya, dan pada bit mengandung kadar betain lebih tinggi bila dibandingkan bahan nabati yang lain. Berdasarkan data penelitian tersebut merekomendasikan dedak gandum sebagai sumber nabati untuk pakan unggas mengandung betain.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak memiliki konflik kepentingan.

Referensi

1. Bawono LC, Khairinisa MA, Jiranusornkul S, Levita J.

- The role of catechins of *Camellia sinensis* leaves in modulating antioxidant enzymes: A review and case study. *J Appl Pharm Sci*. 2023;13(12):52–65.
2. Elsayed Azab A, A Adwas Almokhtar, Ibrahim Elsayed AS, A Adwas A, Ibrahim Elsayed Ata Sedik, Quwaydir FA. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*. 2019;6(1):43–7.
3. Gutowski M, Kowalczyk S. A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. *Acta Biochim Pol*. 2013;60(1):1–16.
4. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018;13:757–72.
5. Nurkhasanah, Mochammad Saiful B, Sapto Y. Antioksidan dan Stres Oksidatif. 2023. 1–3 p.
6. Zhao G, He F, Wu C, Li P, Li N, Deng J, et al. Betaine in inflammation: Mechanistic aspects and applications. *Front Immunol* [Internet]. 2018;9(MAY). Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85047464860&doi=10.3389%2Ffimmu.2018.01070&partnerID=40&md5=d6a40f228354c5495fac04fb14029e20>
7. Zhang M, Zhang H, Li H, Lai F, Li X, Tang Y, et al. Antioxidant Mechanism of Betaine without Free Radical Scavenging Ability. *J Agric Food Chem*. 2016;64(42):7921–30.
8. Saeed M, Babazadeh D, Naveed M, Arain MA, Hassan FU, Chao S. Reconsidering betaine as a natural anti-heat stress agent in poultry industry: a review. *Trop Anim Health Prod*. 2017;49(7):1329–38.
9. Saghari Y, Movahedi M, Tebianian M, Entezari M. The neuroprotective effect of betanin nanoparticles on brain ischemia–reperfusion injury. *Animal Gene* [Internet]. 2023;27. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85146678388&doi=10.1016%2Fj>
10. Shi H, Wang XL, Quan HF, Yan L, Pei XY, Wang R, et al. Effects of betaine on LPS-stimulated activation of microglial M1/M2 phenotypes by suppressing TLR4/NF-κB pathways in N9 cells. *Molecules* [Internet]. 2019;24(2). Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85060401660&doi=10.3390%2Fmolecules24020367&partnerID=40&md5=22e1a1c333b929526060e3f98659efed>
11. Zhang Y, Jia J. Betaine Mitigates Amyloid-β-Associated Neuroinflammation by Suppressing the NLRP3 and NF-κB Signaling Pathways in Microglial Cells. *Journal of Alzheimer's Disease* [Internet]. 2023;94(s1):S9 – S19. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85167573560&doi=10.3233%2FJAD-230064&partnerID=40&md5=57097a3d74844a64c80e06c515140c69>
12. Zhao N, Yang Y, Chen C, Jing T, Hu Y, Xu H, et al. Betaine supplementation alleviates dextran sulfate sodium-induced colitis via regulating the inflammatory response, enhancing the intestinal barrier, and altering gut microbiota. *Food Funct* [Internet]. 2022;13(24):12814 – 12826. Available from: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85143316010&doi=10.1039%2Fd2fo02942a&partnerID=40&md5=2ed2425507d83d4e4b724ec620242ec7>
13. Zeisel SH, Mar M heng, Howe JC, Holden JM. Human

- Nutrition and Metabolism Concentrations of Choline-Containing Compounds and Betaine in Common Foods 1. *Journal of Nutrition* [Internet]. 2003;133(5):1302–7. Available from: <https://doi.org/10.1093/jn/133.5.1302>
14. Lomnitski L, Bergman M, Nyska A, Ben-Shaul V, Grossman S. Composition, efficacy, and safety of spinach extracts. *Nutr Cancer*. 2003;46(2):222–31.
15. Miraj S. Chemistry and pharmacological effect of beta vulgaris: A systematic review. 2016 Jan 1;8:404–9.
16. Ilmiawan T, Sulistiyanto B, Utama CS. The Effect of Fermented-Pollard Addition To Pellet on The Crude Fiber and The Physical Quality of Pellet. *Litbang Provinsi Jawa Tengah* [Internet]. 2015;13:143–52. Available from: <https://ejournal.bappeda.jatengprov.go.id/index.php/jurnaljateng/article/view/393>
17. Depkes RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. 2000.
18. Al-mentafji, H.N. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International, in: W. Horwitz and G.W. Latimer (Eds). AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA. 2005
19. Fajri. Al, Hartutik, A. I. Pembuatan Silase Rumput Odot (*Pennisetum purpureum*, Cv). *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis* Vol 1, No 1 9-17 September 2018 [Internet]. 2018;1(1):9–17. Available from: <https://jnt.ub.ac.id/index.php/jnt/article/view/19/7>
20. Handayani S, Wirasutisna KR, Insanu M. Penapisan Fitokimia Dan Karakterisasi Simplisia Daun Jambu Mawar. 2017;5(3):10.
21. Pilevaran M, Tavakolipour H, Naji-Tabasi S, Elhamirad A. Influence of drying temperature on drying kinetics, energy consumption, bioactive compounds and cooking quality of pasta enriched with spinach. *J Food Process Eng*. 2021;43:1–12.
22. Depkes RI. Farmakope Herbal Indonesia Edisi Kedua. Pills and the Public Purse. 2017;97–103.
23. Asiah N, Cempaka L, David W. Pendugaan Umur Simpan Produk Pangan Nurul Asiah, Laras Cempaka, Wahyudi David. 2018. 1–124 p.
24. Asiah N, Djaeni M. Konsep Dasar Proses Pengeringan Pangan [Internet]. Malang: AE Publishing. 2021. 1–60 p. Available from: <file:///C:/Users/Asus/Downloads/Ebook-Konsep Dasar Proses Pengeringan Pangan.pdf>
25. Sundari D, Almasyhuri A, Lamid A. Pengaruh Proses Pemasakan Terhadap Komposisi Zat Gizi Bahan Pangan Sumber Protein. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. 2015;25(4):235–42.
26. Méndez CMV, Rodríguez EMR, Romero CD, Matallana González MC, Isasa MET. Comparison of the mineral and trace element concentrations between “gazpacho” and the vegetables used in its elaboration. *Int J Food Sci Nutr*. 2008;59(7–8):660–70.
27. Rashid M, Yousaf Z, Din A, Munawar M, Aftab A, Riaz N, et al. Assessment of Mineral Nutrient Efficiency in Genetically Diverse Spinach Accessions by Biochemical and Functional Marker Strategies. *Front Plant Sci*. 2022;13(May):1–14.
28. Kavalcová P, Bystricka J, Tomáš J, Karovičová J, Kovarovič J, Lenková M. The content of total polyphenols and antioxidant activity in red beetroot. *Potravinarstvo*. 2015;9.
29. Syamsi, A. N, Setyo Widodo H, Subagyo dan Pramono Soediartha Y. Indeks Sinkronisasi Protein-Energi Dari Beberapa Konsentrat Sumber Protein Bagi Ruminansia. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Agribisnis Peternakan (Stap)* [Internet]. 2021;8:244–51. Available from: <https://jnp.fapet.unsoed.ac.id/index.php/psv/article/view/1152>
30. Fikriyah YU, Nasution RS. Analisis Kadar Air Dan Kadar Abu Pada Teh Hitam yang Dijual di Pasaran dengan Menggunakan Metode Gravimetri. *Amina*. 2021;3(2):50–4.
31. Davies R, Jakeman P. Separating the Wheat from the Chaff: Nutritional Value of Plant Proteins and Their Potential Contribution to Human Health. *Nutrients*. 2020;12:2410.
32. Rakszegi M, Tóth V, Mikó P. The place of spelt wheat among plant protein sources. *J Cereal Sci* [Internet]. 2023;114:103813. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0733521023001868>
33. Zusrina Eva Nabila. Pengaruh Substitusi Tepung Bayam Hijau (*Amaranthus hybridus* L.) Sebagai Alternatif Bahan Pangan Fungsional Terhadap Daya Terima, Kandungan Zat Gizi (Karbohidrat, Protein, Lemak, Kadar Air dan Kadar Abu), dan Kadar Zat Besi Pada Donat. 2022;1–106.
34. Utomo R. Evaluasi Pakan dengan Metode Noninvasif. *Citra Ajiprama*. Yogyakarta;
35. Nasional BS. SNI Pakan No 7783.1. 2013;1–4.
36. Erfani F, Hassandokht MR, Jabbari A, Barzegar M. Effect of cultivar on chemical composition of some Iranian spinach. *Pak J Biol Sci*. 2007 Feb;10(4):602–6.
37. Rahman IG, Sukmiwati M, Dahlia. Pengaruh Metoda Pemasakan Berbeda Terhadap Karakteristik Tepung Ikan Betok (*Anabas testudineus*). 2015;4(12):10–4.
38. Tamrin M. Studi literatur penetapan rendemen ekstrak etanol tumbuhan suku. 2022;
39. Wardaningrum RY. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas*. L) Dengan Vitamin E. 2022;2:5–10.
40. Rusdi M, Hasan T, Ardilah, Evianti. Perbandingan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Batang *Boehmeria virgata* Comparison of Extraction Methods on Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of *Boehmeria virgata* Stem. *JourPharmSci*. 2018;1(1):16–24.
41. Nurjanah I. Pengaruh Metode Maserasi dan Refluks Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.). 2019; Available from: https://www.repository.stiksam.ac.id/index.php?p=show_detail&id=1031&keywords=
42. Vifta RL, P MAW, Hati AK. Perbandingan Total Rendemen dan Skrining Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) secara Mikrodilusi. *Journal of Science and Application Technology*. 2019;2(1):87–93.
43. Mardina P, Astarina EN, Aquarista S. Pengaruh Kecepatan Putar Pengaduk dan Waktu Operasi pada Ekstraksi Tannin dari Mahkota Dewa. In 2011. Available from: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:93924042>
44. Triani L, Suhaidi I, Ginting S. Pengaruh Suhu Pengeringan dan Konsentrasi Dekstrin terhadap Mutu Minuman Instan Bit Merah. *Jurnal Rekayasa Pangan Dan Pertanian*. 2015;3(2):178–84.

45. Setiawan F, Yunita O, Kurniawan A. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesiana*. 2018;2(2):82–9.
46. Ingrid M, Hartanto Y, Widjaja JF. Karakteristik Antioksidan pada Kelopak Bunga Rosella. *Jurnal Rekayasa Hijau*. 2018;2(3):283–9.
47. Molyneux P. The use of the stable radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. 2003 Nov 30;26.
48. Purwanto D, Bahri S, Ridhay A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea*. Blume.) Dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen*. 2017;3(1):24.
49. Rifkowitz EE, Wardanu AP. Pengaruh Ekstraksi Cara Basah dan Cara Kering Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Cengkodok (*Melastoma malabathricum* L.). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2016;5(1):10–5.
50. Kulczyński B, Gramza-Michałowska A, Królczyk JB. Optimization of extraction conditions for the antioxidant potential of different pumpkin varieties (*Cucurbita Maxima*). *Sustainability (Switzerland)*. 2020;12(4).
51. Ismawati, Yuniastri R, Huzaimah N, Estiasih T, Martati E, Tarmadi D, et al. A Comparative Evaluation of the Antioxidant Activity of Local Plants Originated From Sumenep Regency, East Java, Indonesia. *Rasayan Journal of Chemistry*. 2022;2022(Special Issue):87–94.
52. Julizar, Warsidah, Nurdiansyah SI, Sofiana MS, Safitri I. Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Turbinaria* sp. Dengan Menggunakan Tiga Pelarut yang Berbeda. *Oseanologia*. 2022;1(3):1.
53. Alirezaei M, Reza Gheisari H, Reza Ranjbar V, Hajibemani A. Betaine: a promising antioxidant agent for enhancement of broiler meat quality. *Br Poult Sci*. 2012;53(5):699–707.
54. Wen C, Chen R, Chen Y, Ding L, Wang T, Zhou Y. Betaine improves growth performance, liver health, antioxidant status, breast meat yield, and quality in broilers fed a mold-contaminated corn-based diet. *Anim Nutr*. 2021 Sep;7(3):661–6.
55. Djamal R. Kimia Bahan Alam Prinsip Prinsip dasar Isolasi Dan Identifikasi. In 2011. Available from: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:155128966>
56. Mero A, Mezzetta A, Nowicki J, Łuczak J, Guazzelli L. Betaine and L-carnitine ester bromides: Synthesis and comparative study of their thermal behaviour and surface activity. *J Mol Liq [Internet]*. 2021;334:115988. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115988>
57. Singh S V., Deshpande AD, Somagond YM. Betaine: A potent feed additive for amelioration of adverse effect of heat stress in livestock and poultry. *Indian Journal of Animal Sciences*. 2022;92(3):277–82.