



**PENGARUH PERKECAMBAHAN PADI KETAN HITAM DAN  
PADI MERAH TERHADAP AKTIVITAS PROTEIN ANTIOKSIDAN  
DAN *ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME* INHIBITOR**

**SKRIPSI**

Oleh:

**Evi Fahriani Arfin Susanti**

**NIM. 161510501188**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2021**



**PENGARUH PERKECAMBAHAN PADI KETAN HITAM DAN  
PADI MERAH TERHADAP AKTIVITAS PROTEIN ANTIOKSIDAN  
DAN ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITOR**

**SKRIPSI**

Diajukan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan  
Program Sarjana pada Program Studi Agroteknologi (S1)  
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh:

**Evi Fahrhani Arfin Susanti**

**NIM. 161510501188**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2021**

ii

## PERSEMBAHAN

Dengan memanjatkan puji syukur atas kehadiran Allah SWT skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Kedua orangtua penulis, Bapak Muchamad Chakim dan Ibu Siti Zaenab yang telah merawat dan mendidik penulis sejak lahir hingga hari ini, serta mendukung seluruh proses pendidikan penulis. Terimakasih yang tak terhingga penulis ucapkan atas segala pengorbanan, kasih sayang, motivasi, serta doa yang selalu dipanjatkan. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan kasih sayang dan perlindungan seperti yang telah mereka curahkan kasih sayangnya kepada penulis, aamiin.
2. Saudara kandung penulis, Ahmad Riza Afandi Zulkarnain.
3. Dosen pembimbing skripsi Prof. Tri Agus Siswoyo, Ph. D. yang selalu sabar membimbing dan memberikan ilmu pengetahuan.
4. Seluruh guru dan dosen yang telah membimbing dan memberikan berbagai ilmu pengetahuan serta pelajaran hidup.
5. Sahabat dan teman-teman seperjuangan selama proses belajar yang telah banyak membantu dan mendukung.
6. Almamater Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

**MOTTO**

*“Pada setiap tarikan nafas, terdapat takdir Allah yang berlaku atas dirimu.”*

(Ibn ‘Atha’illah as-Sakandari)

*“Empat hal yang mengangkat manusia ke derajat tinggi meski amal dan ilmunya sedikit, yaitu **kesabaran, kesederhanaan, kemurahan hati, dan akhlak yang baik.**”*

(Imam Junaid al-Baghdadi)

*“Allah mengabulkan doa-doa ketika kita sudah siap, bukan ketika kita menginginkannya.”*

(Ahmad Bahauddin Nursalim)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Evi Fahriani Arfin Susanti

NIM : 161510501188

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Pengaruh Perkecambahan Padi Ketan Hitam dan Padi Merah terhadap Aktivitas Protein Antioksidan dan *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor*”** adalah benar-benar hasil karya penulis sendiri, kecuali kutipan yang sudah penulis sebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini penulis buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 27 Juli 2021

Yang menyatakan,

Evi Fahriani Arfin Susanti  
NIM. 161510501188

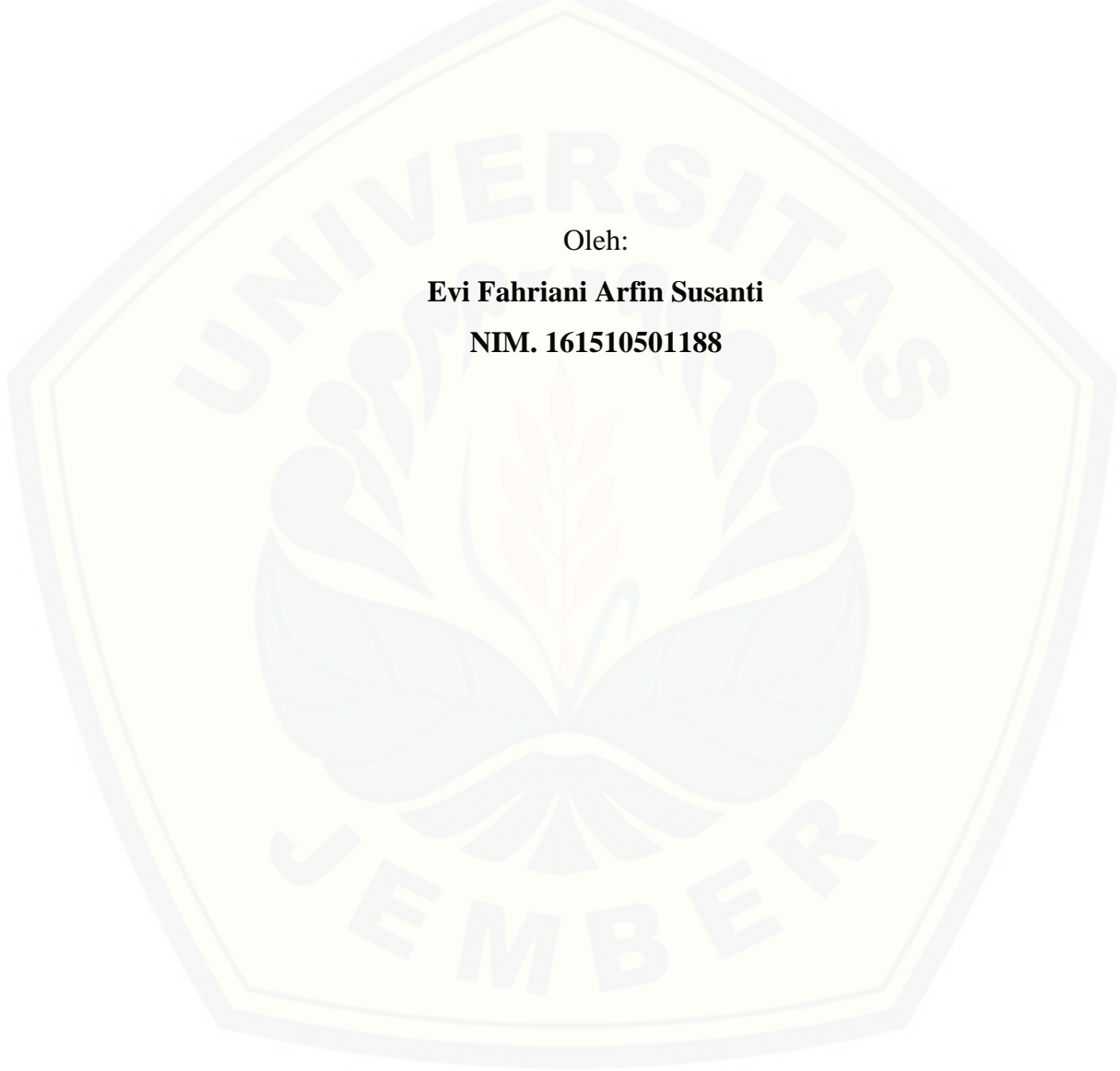
**SKRIPSI**

**PENGARUH PERKECAMBAHAN PADI KETAN HITAM DAN PADI  
MERAH TERHADAP AKTIVITAS PROTEIN ANTIOKSIDAN DAN  
*ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME* INHIBITOR**

Oleh:

**Evi Fahrani Arfin Susanti**

**NIM. 161510501188**



**Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Skripsi: **Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D**

**NIP. 197008101998031001**

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “**Pengaruh Perkecambahan Padi Ketan Hitam dan Padi Merah terhadap Aktivitas Protein Antioksidan dan *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor***” telah diuji dan disahkan pada:

Hari :  
Tanggal :  
Tempat : Fakultas Pertanian, Universitas Jember

**Dosen Pembimbing Skripsi,**

**Prof. Tri Agus Siswovo, S.P., M.Agr., Ph.D**  
**NIP. 197008101998031001**

**Dosen Penguji I,**

**Dosen Penguji II,**

**Mohammad Ubaidillah, S.Si., M.Agr., Ph.D**  
**NIP. 760015751**

**Wahyu Indra Duwi Fanata, SP., M.Sc., Ph.D.**  
**NIP. 198102042015041001**

**Mengesahkan,  
Dekan**

**Prof. Dr. Ir. Soetriono, MP**  
**NIP. 196403041989021001**



## RINGKASAN

**Pengaruh Perkecambahan Padi Ketan Hitam dan Padi Merah terhadap Aktivitas Protein Antioksidan dan *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor*;**  
Evi Fahriani Arfin Susanti; 161510501188; 2021; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

Proses perkecambahan dapat menyebabkan perubahan secara signifikan pada sifat biokimia biji, antara lain sintesis dan hidrolisis protein. Hidrolisis protein dapat menghasilkan peptida bioaktif. Protein berupa peptida bioaktif memiliki potensi sebagai senyawa antioksidan dan antihipertensi. Antioksidan diperlukan untuk mencegah terjadinya stres oksidatif, salah satunya penyebab hipertensi. Peptida bioaktif yang dapat berperan sebagai antihipertensi yaitu peptida penghambat *Angiotensin Converting Enzyme-I* (ACE-I) yang dapat mencegah pembentukan angiotensin II. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh proses perkecambahan terhadap aktivitas protein antioksidan dan ACE inhibitor pada padi berpigmen. Metode yang digunakan pada percobaan ini yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 3 ulangan. Faktor pertama terdiri dari 3 varietas padi, yaitu Merah Wangi, Ketan Hitam, dan IR64 sebagai kontrol. Faktor kedua adalah waktu perkecambahan yang terdiri dari 0, 2, 4, dan 6 hari. Variabel yang diamati berupa (1) morfologi kecambah, (2) profil protein, (3) derajat hidrolisis, (4) aktivitas antioksidan, dan (5) aktivitas ACE inhibitor. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa waktu perkecambahan berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan dan ACE inhibitor pada padi berpigmen. Semakin lama waktu perkecambahan menunjukkan terjadinya peningkatan aktivitas antioksidan dan ACE inhibitor pada padi berpigmen. Aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada perlakuan waktu perkecambahan hari ke-6 pada varietas padi Ketan Hitam dengan nilai  $IC_{50}$  28,18  $\mu\text{g/mL}$  pada metode ABTS dan 24,84  $\mu\text{g/mL}$  pada metode hidroksil. Aktivitas ACE inhibitor tertinggi juga terdapat pada waktu perkecambahan hari ke-6 pada varietas padi Ketan Hitam dengan nilai  $IC_{50}$  09,07  $\mu\text{g/mL}$ .



## SUMMARY

**Germination Effect of Black and Red Rice on Antioxidant Protein Activity and Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor;** Evi Fahriani Arfin Susanti; 161510501188; 2021; Departmen of Agrotechnology; Faculty of Agriculture; University of Jember.

The germination process can cause significant changes in the biochemical properties of seeds, including protein synthesis and hydrolysis. Protein hydrolysis can produce bioactive peptides. Proteins in the form of bioactive peptides have potential as antioxidant and antihypertensive compounds. Antioxidants are needed to prevent oxidative stress, one of which causes hypertension. Bioactive peptides that can act as antihypertensives are Angiotensin Converting Enzyme-I (ACE-I) inhibitory peptides that can prevent the formation of angiotensin II. This study was conducted to determine the effect of the germination process on the activity of protein antioxidants and ACE inhibitors in pigmented rice. This study used a completely randomized design (completely randomized design, RAL) so that the data obtained were analyzed using statistics. The first factor consisted of 3 rice varieties, namely Merah Wangi, Ketan Hitam, and IR64 as control. The second factor was germination time which consisted of 0, 2, 4, and 6 days. The variables observed were (1) sprout morphology, (2) protein profile, (3) degree of hydrolysis, (4) antioxidant activity, and (5) ACE inhibitor activity. The data obtained showed that germination time had a significant effect on antioxidant activity and ACE inhibitors in pigmented rice. The longer germination time showed an increase in antioxidant activity and ACE inhibitors in pigmented rice. The highest antioxidant activity was found in the 6th day germination treatment on Ketan Hitam rice varieties with  $IC_{50}$  values of 28.18  $\mu\text{g/mL}$  in the ABTS method and 24.84  $\mu\text{g/mL}$  in the hydroxyl method. The highest ACE-I inhibitor activity was also found on the 6th day of germination in Ketan Hitam rice varieties with an  $IC_{50}$  value of 09.07  $\mu\text{g/mL}$ .

## PRAKATA

Segala puji bagi Allah SWT. yang telah mencurahkan nikmat-Nya yang melimpah kepada penulis, sehingga penulis dapat menikmati limpahan rahmat dan ilmu dari-Nya yang tiada henti. Shalawat dan salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW. beserta keluarga dan para sahabatnya yang mulia. Semoga kita mendapatkan syafaat beliau di akhirat nanti. Skripsi ini bukan hanya merupakan syarat untuk menyelesaikan studi, tetapi juga wujud dari keseriusan penulis selama menuntut ilmu di masa perkuliahan. Selesaiannya penelitian ini tidak lepas dari rahmat Allah Swt. yang dilimpahkan-Nya dalam proses berpikir. Penulis tidak mampu mengungkapkan kecuali rasa syukur yang mendalam. Penulis juga mendapatkan bantuan moral dan materil dari berbagai pihak selama proses penyusunan skripsi. Oleh karena itu, penulis menyampaikan penghargaan dan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Soetriono, MP. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
2. Drs. Yagus Wijayanto, MA, Ph.D. selaku Koordinator Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.
3. Prof. Tri Agus Siswoyo, S.P., M.Agr., Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Skripsi atas kesabaran dalam memberikan ilmu pengetahuan, bimbingan, dan motivasi dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Mohammad Ubaidillah, S.Si., M.Agr., Ph.D. selaku Dosen Penguji I yang telah banyak memberikan kritik dan saran dalam penyusunan skripsi.
5. Wahyu Indra Duwi Fanata, SP., M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Penguji II dan Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi dalam proses perkuliahan serta memberikan saran dan masukan dalam penyusunan skripsi ini agar menjadi lebih baik.
6. Alm. Bapak Ir. Abdul Majid, MP. selaku dosen pembimbing akademik dan Alm. Bapak Dr. Ir. Miswar, M.Si. selaku dosen penguji I yang pertama.
7. Kedua orangtua, Bapak Muchamad Chakim dan Ibu Siti Zaenab atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan hingga mampu

menyelesaikan skripsi ini.

8. Saudara kandung penulis Ahmad Riza Afandi Zulkarnain atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan hingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
9. Keluarga besar atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan hingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
10. Sahabat saya Rizki Putri Brilian, Nurul Fatkur Rohmah, SP., Siti Fatimatus Zahro, Eugie Lovitasari, Dewi Nurul Sholihah, dan Dinda Agustin atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan hingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
11. Teman seperjuangan di Laboratorium Nutrasetikal dan Farmasetikal, CDAST (Yosefine SP., Hanifa Izzati, Ridho Rizkiantoro, Romy Taufiqur Rahman, Nanang Qosim, Shafira Ezza, Afifa, Anuri Rahma, Halimatus Sa'dhiya, dan Yoga) atas dukungan dan motivasi yang telah diberikan serta Erlin Susilowati, SP., M. Biotek, yang telah membimbing dan memberi arahan hingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
12. Teman-teman KKN 281 Desa Krucil Kecamatan Krucil Kabupaten Probolinggo 2019 dan Magang PT. Benih Citra Asia 2020 atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan hingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
13. Teman-teman Mahasiswa Pencinta Semesta Alam (MAPENSA) atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan hingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
14. Teman-teman seperjuangan seangkatan Agroteknologi 2016.
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, namun telah memberikan bantuan dan dukungan selama penyusunan skripsi ini.

Jember, 28 Juli 2021

Penulis

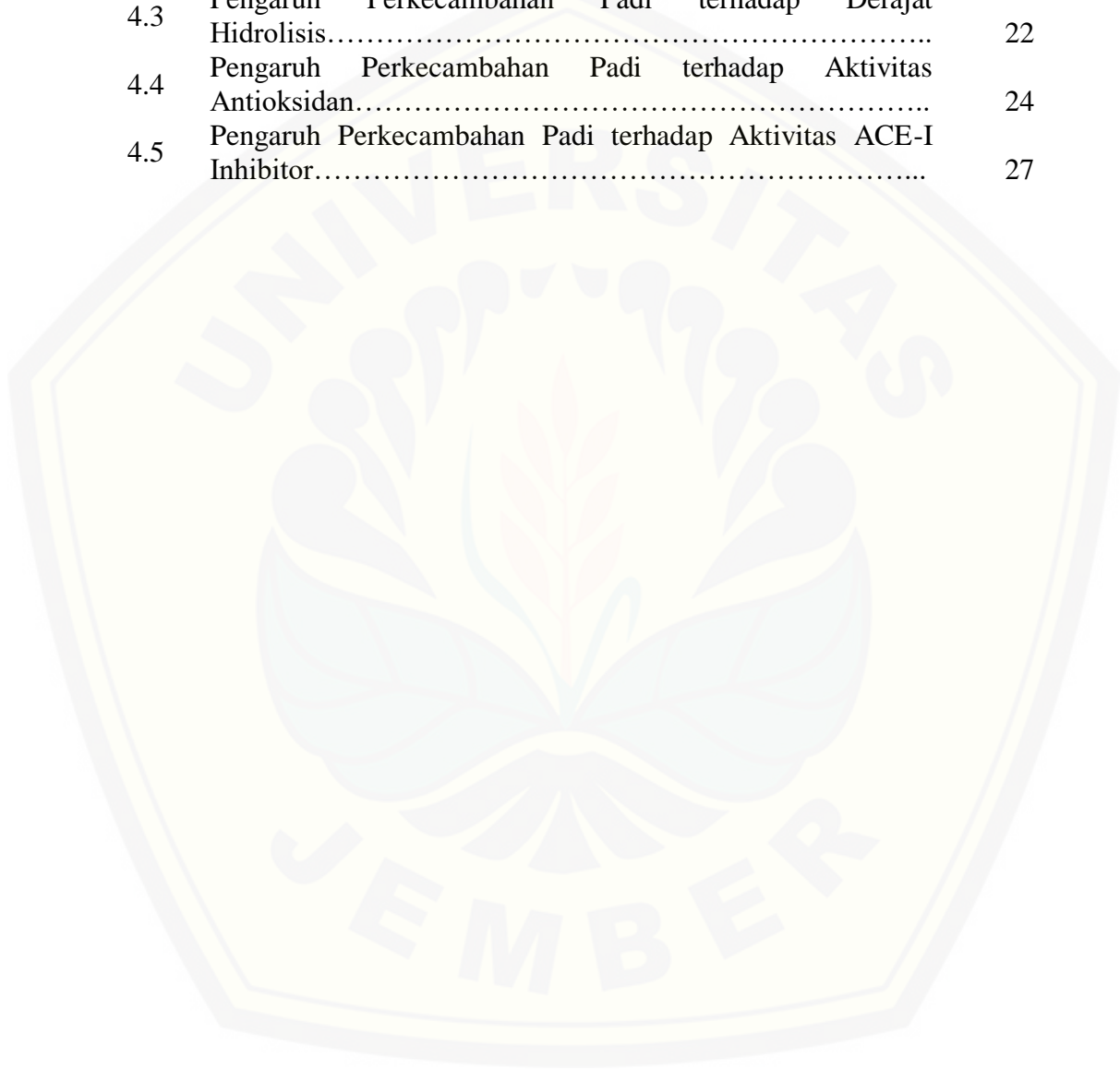
**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN MOTTO .....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>viii</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>ix</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Tanaman Padi Berpigmen.....	4
2.2 Perkecambahan Padi .....	5
2.3 Hidrolisis Protein .....	6
2.4 Aktivitas Protein Antioksidan.....	7
2.5 Aktivitas <i>Angiotensin Converting Enzyme</i> (ACE) Inhibitor.....	9
2.6 Hipotesis.....	11
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>12</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	12
3.2 Persiapan Penelitian .....	12
3.3 Rancangan Percobaan .....	12

3.4	Prosedur Penelitian.....	13
3.4.1	Perkecambahan .....	13
3.4.2	Pemeliharaan.....	13
3.4.3	Ekstraksi Kecambah Padi.....	13
3.4.4	Analisis Total Protein Terlarut.....	13
3.5	Variabel Pengamatan .....	14
3.5.1	Morfologi Kecambah .....	14
3.5.2	Derajat Hidrolisis .....	15
3.5.3	Sodium Dodesil Sulfat (SDS-PAGE) .....	15
3.5.4	Aktivitas Antioksidan .....	16
3.5.5	Aktivitas ACE Inhibitor .....	17
3.6	Analisis Data .....	17
	<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>18</b>
4.1	Morfologi Kecambah .....	18
4.2	Profil Protein (SDS-PAGE) .....	21
4.3	Derajat Hidrolisis .....	22
4.4	Aktivitas Antioksidan.....	24
4.5	<i>Angiotensin Converting Enzyme</i> Inhibitor .....	27
	<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>28</b>
5.1	Kesimpulan .....	28
5.2	Saran.....	28
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>29</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>35</b>

**DAFTAR TABEL**

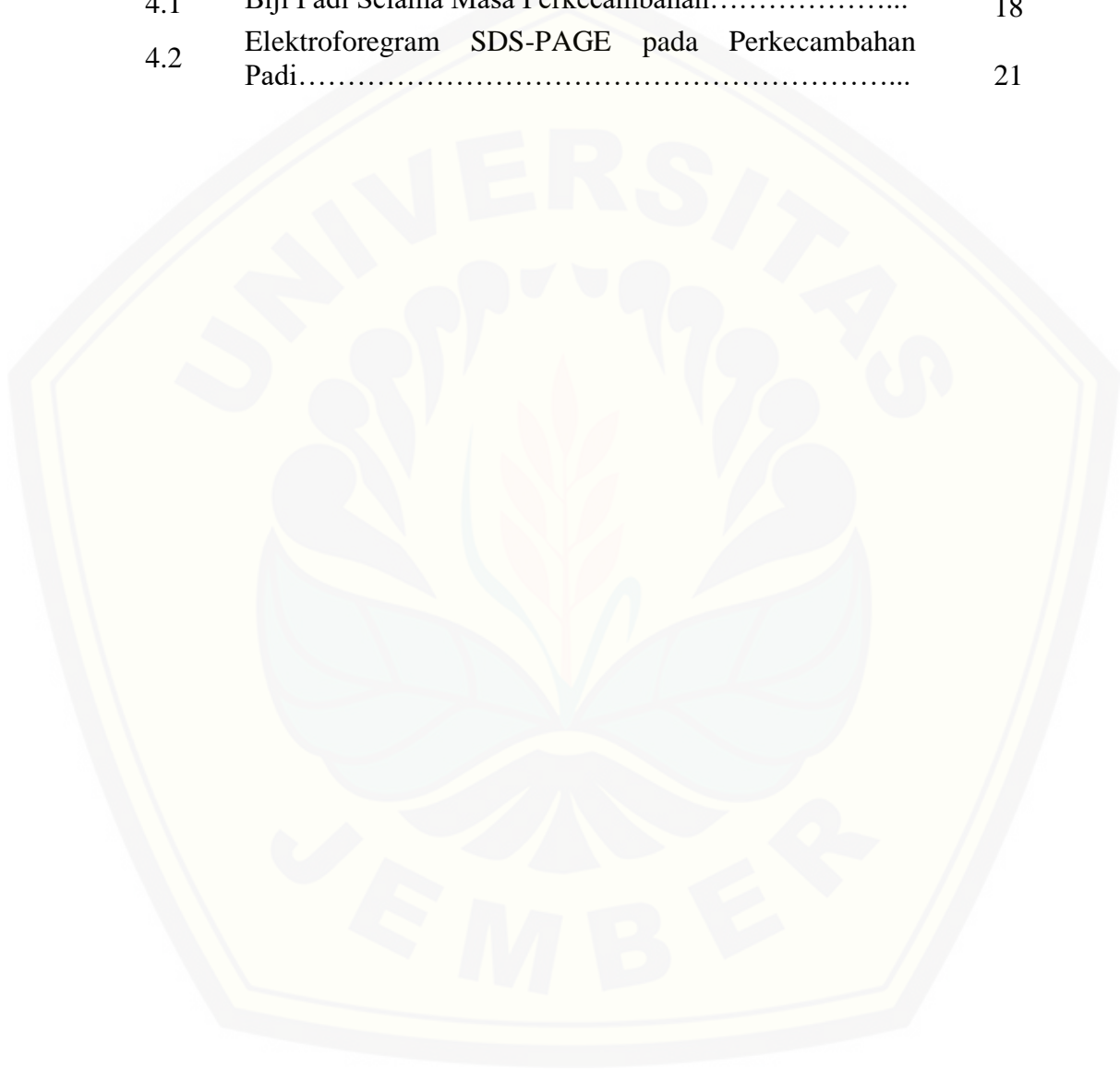
<b>Tabel</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
4.1	Pengaruh Perkecambahan Padi terhadap Morfologi Kecambah.....	19
4.3	Pengaruh Perkecambahan Padi terhadap Derajat Hidrolisis.....	22
4.4	Pengaruh Perkecambahan Padi terhadap Aktivitas Antioksidan.....	24
4.5	Pengaruh Perkecambahan Padi terhadap Aktivitas ACE-I Inhibitor.....	27





**DAFTAR GAMBAR**

<b>Gambar</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
2.5	Regulasi ACE terhadap keseimbangan antara Angiotensin II dan bradikinin.....	10
4.1	Biji Padi Selama Masa Perkecambahan.....	18
4.2	Elektroforegram SDS-PAGE pada Perkecambahan Padi.....	21





**DAFTAR LAMPIRAN**

<b>Lampiran</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
1.	Hasil ANOVA dan DMRT Variabel Panjang Plumula.....	35
2.	Hasil ANOVA dan DMRT Variabel Panjang Radikula.....	37
3.	Hasil ANOVA dan DMRT Variabel Daya Berkecambah.....	40
4.	Hasil ANOVA dan DMRT Variabel Derajat Hidrolisis.....	43
5.	Hasil ANOVA dan DMRT Variabel ABTS.....	45
6.	Hasil ANOVA dan DMRT Variabel Hidroksil.....	48
7.	Hasil ANOVA dan DMRT Variabel ACE Inhibitor.....	51

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Hipertensi merupakan gangguan sistem peredaran darah yang ditandai dengan peningkatan pada nilai tekanan sistolik  $\geq 140$  mmHg dan tekanan diastolik  $\geq 90$  mmHg (Mancia *et al.*, 2013). Penderita hipertensi di Indonesia pada tahun 2013 sebesar 25,8% dan meningkat pada tahun 2018 menjadi 34,11% (Riskesdas, 2018). Obat-obatan sintesis antihipertensi telah banyak diproduksi, seperti captopril guna menghambat *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) yang berperan dalam peningkatan tekanan darah. Penggunaan obat sintesis antihipertensi yang dikonsumsi terus menerus telah diketahui memiliki efek samping, yaitu batuk kering. Hal ini disebabkan karena captopril berperan dalam peningkatan bradikinin yang memicu timbulnya efek samping tersebut. ACE atau kinase II mengkatalisasi pembentukan angiotensin II dari angiotensin I dengan melibatkan pemecahan bradikinin menjadi metabolit inaktif. Penghambatan ACE oleh ACE inhibitor menyebabkan peningkatan metabolit aktif dari bradikinin. ACE inhibitor yang meningkatkan produk metabolit aktif bradikinin akan menstimulasi reseptor B2 sehingga menginduksi vasodilatasi dan permeabilitas vaskular serta menstimulasi pelepasan zat P dari serat sensori, sehingga menimbulkan respon batuk. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama waktu penggunaan obat antihipertensi, maka semakin banyak efek samping yang dialami (Diatmika dkk., 2018). Salah satu solusi yang dapat diberikan yaitu pemanfaatan peptida bioaktif dari padi berpigmen (Prasad *et al.*, 2019).

Peptida merupakan polimer pendek yang terdiri dari 2 hingga 49 asam amino. Pada umumnya, peptida bioaktif bersifat spesifik dan memiliki efek positif terhadap tubuh serta mempengaruhi kesehatan manusia. Menurut Murray and Fitzgerald (2007), peptida bioaktif memiliki potensi sebagai senyawa antihipertensi, antioksidan, antagonis opioid, antibakteri, antitrombotik, dan imunomodulator. Peptida bioaktif yang berperan sebagai antioksidan dapat memberi elektron untuk menghambat suatu reaksi oksidasi atau membantu

menghentikan proses perusakan sel dengan cara menangkap radikal bebas dan molekul yang reaktif (Rafi dkk., 2019). Antioksidan diperlukan untuk mencegah terjadinya stres oksidatif, yaitu suatu kondisi yang terjadi apabila adanya ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dan jumlah antioksidan yang ada dalam tubuh. Berdasarkan hal tersebut, maka antioksidan dapat berperan penting dalam patofisiologi berbagai penyakit degeneratif, salah satunya hipertensi.

Peptida bioaktif juga dapat berperan sebagai antihipertensi, yaitu kemampuan untuk menghambat terjadinya peningkatan tekanan darah (hipertensi). Sistem hormon yang mengatur tekanan darah dan keseimbangan cairan tubuh adalah *renin-angiotensin aldosteron* (RAAS). Renin plasma yang dihasilkan oleh ginjal bertugas untuk mengubah hormon angiotensinogen yang dilepas oleh hati menjadi angiotensin I. Senyawa ini akan aktif apabila dikatalisis oleh *angiotensin converting enzyme* (ACE) menjadi oktapeptida angiotensin II. Angiotensin II merangsang adrenal korteks untuk memproduksi senyawa aldosteron sehingga retensi garam natrium dalam darah meningkat dan menyebabkan tekanan darah juga meningkat. Peptida bioaktif yang diketahui memiliki kemampuan sebagai antihipertensi yaitu peptida ACE inhibitor. Peptida tersebut dapat menghambat aktivitas ACE dalam memproduksi angiotensin II, sehingga peningkatan tekanan darah tidak terjadi. Peptida ini biasanya terdiri dari 2 sampai 12 asam amino (Riyadi, 2018). Peptida ACE inhibitor telah ditemukan pada tanaman padi dengan susunan asam amino dari dua oligopeptida murni, yaitu Gln-Phe-Tyr-Ala-Val dan Ala-Gly-Pro-Val-Leu-Leu (Gu *et al.*, 2012).

Evaluasi potensi peptida bioaktif suatu tanaman dapat dilakukan selama masa perkecambahan. Hal ini dikarenakan suatu protein dapat terhidrolisis secara alami saat proses perkecambahan (Bau *et al.*, 2000). Menurut Winarsih (2010), proses perkecambahan biji merupakan tahapan yang banyak mengalami peristiwa perubahan biokimia seperti sintesa protein dan hidrolisis cadangan makanan karena adanya aktivitas enzim. Salah satu cadangan makanan yang termobilisasi adalah protein. Mobilisasi protein melibatkan enzim protease yang aktivitasnya meningkat sehingga memberikan efek hidrolisis. Efek hidrolisis tersebut menghasilkan protein yang berat molekulnya rendah atau peptida sederhana dan

asam amino bebas.

Pada penelitian ini, evaluasi potensi peptida bioaktif dilakukan pada padi berpigmen. Selain ketersediaan padi berpigmen di Indonesia cukup melimpah, kandungan protein pada padi berpigmen juga diketahui lebih besar dari padi non-pigmen, yaitu 8,20%, sedangkan pada padi non-pigmen hanya 7% (Swasti, dkk., 2017). Beberapa penelitian telah menyebutkan bahwa peptida bioaktif dari padi berpigmen berpotensi sebagai sumber antioksidan (Widyawati dkk., 2014; Tan dkk., 2016). Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan evaluasi pengaruh proses perkecambahan terhadap aktivitas protein antioksidan dan ACE inhibitor pada padi berpigmen.

### **1.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana pengaruh waktu perkecambahan terhadap aktivitas protein antioksidan pada padi berpigmen?
2. Bagaimana pengaruh waktu perkecambahan terhadap aktivitas ACE inhibitor pada padi berpigmen?

### **1.3 Tujuan**

1. Mengetahui pengaruh waktu perkecambahan terhadap aktivitas protein antioksidan pada padi berpigmen.
2. Mengetahui pengaruh waktu perkecambahan terhadap aktivitas ACE inhibitor pada padi berpigmen.

### **1.4 Manfaat**

1. Mengetahui aktivitas protein antioksidan pada beberapa varietas padi berpigmen disetiap perbedaan waktu perkecambahan.
2. Mengetahui aktivitas ACE inhibitor pada beberapa varietas padi berpigmen disetiap perbedaan waktu perkecambahan.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Padi Berpigmen

Padi berpigmen merupakan salah satu plasma nutfah di Indonesia yang berpotensi untuk dijadikan pangan fungsional karena memiliki kandungan senyawa bioaktif yang bermanfaat untuk kesehatan, salah satunya yaitu protein (Goufo and Trindade, 2014). Kandungan protein pada padi dipengaruhi oleh unsur nitrogen dalam tanah, musim kemarau, dan faktor lingkungan lainnya (Aziz dkk., 2015). Semakin banyak unsur nitrogen dalam tanah, maka semakin banyak kandungan protein pada padi (Nugraha dkk., 2018). Peranan utama protein dalam tubuh manusia adalah untuk memelihara sel yang telah ada, mengganti sel yang telah rusak, membangun sel baru, dan sebagai pertahanan tubuh (antibodi).

Menurut Dwiatmini dan Afza (2018), padi berpigmen memiliki kandungan nutrisi lebih tinggi dibandingkan padi non-pigmen sehingga dianggap lebih baik untuk kesehatan. Padi berpigmen terbukti bebas dari gluten, kolesterol, rendah gula, garam, lemak, serta bergizi tinggi, kaya serat, antosianin, antioksidan, vitamin B dan E, zat besi, tiamin, magnesium, niasin, dan fosfor. Kandungan pada padi tersebut berpotensi sebagai sumber pengembangan antioksidan alami, sehingga dapat bermanfaat untuk mengatasi penyakit degeneratif, salah satunya hipertensi.

Aktivitas antioksidan pada padi berpigmen lebih tinggi dibandingkan padi non-pigmen, hal ini disebabkan secara alami mengandung pigmen yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Menurut Arifin dkk., (2019) perbedaan aktivitas antioksidan pada padi berpigmen dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain perbedaan varietas, kondisi geografis tempat tumbuh tanaman, proses ekstraksi, metode pengujian, dan berbagai faktor lain. Kandungan antioksidan pada padi dapat berfungsi untuk meredam radikal bebas dan menghambat terjadinya kerusakan oksidatif.



## 2.2 Perkecambahan Padi

Perkecambahan merupakan proses pertumbuhan embrio suatu tanaman dan komponen-komponen biji untuk menghasilkan tumbuhan baru. Perkecambahan biji terdiri dari beberapa tahapan, yaitu imbibisi, sekresi hormon dan enzim, hidrolisis cadangan makanan, dan fotosintesis. Imbibisi adalah proses penyerapan air ke dalam sel yang terjadi melalui mikropil dan masuk ke dalam kotiledon. Air yang masuk pada biji menyebabkan enzim teraktivasi dan berperan dalam proses pembentukan, pembelahan, pemanjangan, dan perkembangan sel pada jaringan meristematis (Sugiarto dkk., 2018). Menurut Mayer and Mayber (1963), penyerapan air menyebabkan pembengkakan pada biji sehingga kulit pecah dan radikula tumbuh ke arah bawah membentuk akar. Air yang masuk ke dalam biji akan menyebabkan enzim teraktivasi. Enzim yang telah diaktivasi masuk ke dalam endosperm atau kotiledon untuk menguraikan cadangan makanan. Cadangan makanan pada biji berupa pati, hemiselulosa, lemak, dan protein. Senyawa tersebut bersifat koloid dan berjumlah besar, tersimpan pada endosperm dan kotiledon sehingga diperlukan penguraian oleh beberapa enzim. Hasil penguraian akan diangkut oleh jaringan penyimpanan makanan menuju aulikula, radikula, dan plumula (titik tumbuh). Setelah terjadi perombakan cadangan makanan, maka akan terjadi proses asimilasi. Misalnya protein akan dibentuk kembali menjadi asam amino dengan bantuan energi dari respirasi. Aktivitas respirasi tertinggi terjadi saat radikula menembus kulit biji.

Menurut Asropah dkk., (2019) perkecambahan biji dipengaruhi oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal meliputi tingkat kemasakan fisiologis, ukuran benih, dormansi, dan inhibitor. Faktor eksternal meliputi ketersediaan air, suhu, kondisi media, oksigen, dan cahaya. Kondisi media yang digunakan saat perkecambahan bisa diatur dengan cara melapisi wadah yang digunakan dengan kapas steril sehingga media tetap lembab dan terhindar dari bakteri yang merugikan. Oksigen dan cahaya dijaga tetap stabil dengan cara menutup wadah dengan kain berwarna gelap. Media perkecambahan sebaiknya tidak ditutup rapat agar oksigen didalam tetap terpenuhi.

Saat proses perkecambahan terjadi perubahan senyawa kompleks yang diubah menjadi senyawa sederhana, sehingga mudah dimanfaatkan oleh embrio untuk pertumbuhan. Perubahan biologis yang terjadi yaitu kandungan karbohidrat diubah menjadi gula maltosa, protein dipecah menjadi asam amino, lemak dihidrolisis menjadi asam lemak. Peningkatan jumlah vitamin dan penurunan kadar lemak terjadi pula saat proses perkecambahan. Menurut Asropah dkk., (2019) lama perkecambahan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Peningkatan aktivitas antioksidan yang tidak stabil dapat diakibatkan oleh peningkatan suhu selama proses perkecambahan sehingga aktivitas antioksidan pada perlakuan menurun.

### 2.3 Hidrolisis Protein

Menurut Hernawan dan Meylani (2016) protein adalah salah satu makronutrien yang memiliki peran untuk proses pembentukan biomolekul. Sebagian besar dari protein terdiri atas unsur nitrogen. Unsur nitrogen yang terikat dalam bentuk matriks dilepaskan melalui proses destruksi dan diukur jumlahnya. Protein dapat dipisahkan dari campuran beragam protein lainnya karena banyaknya sifat kimia maupun fisik yang dimiliki oleh setiap protein. Perbedaan sifat tersebut diakibatkan oleh sekuen yang berbeda serta jumlah asam amino pada masing-masing protein. Menurut Swasti dkk., (2017) kandungan protein pada padi berpigmen dipengaruhi oleh galur-galur yang diuji. Beras yang tumbuh pada tanah yang kaya unsur N akan cenderung memiliki kadar protein yang tinggi. Protein tersebut memiliki aktivitas antioksidan alami dan dapat dihidrolisis untuk menghasilkan peptida yang berpotensi sebagai antihipertensi.

Protein dapat terhidrolisis secara alami saat proses perkecambahan (Bau *et al.*, 2000). Menurut Winarsih (2010), proses perkecambahan biji merupakan tahapan yang banyak mengalami peristiwa perubahan biokimia seperti sintesa protein dan hidrolisis cadangan makanan. Salah satu cadangan makanan yang termobilisasi adalah protein. Mobilisasi protein memberikan efek hidrolisis yang dapat menghasilkan protein yang berat molekulnya rendah atau peptida sederhana dan asam amino bebas. Hidrolisis protein dapat menghasilkan bioaktif peptida.



Bioaktif peptida adalah zat organik yang terbentuk dari asam amino yang bergabung dengan ikatan kovalen. Sifat fungsional dari peptida bioaktif sangat ditentukan oleh komposisi dan susunan asam amino agar mempunyai fungsi fisiologis sebagai antioksidan. Semakin banyak ikatan peptida yang terputus maka semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Bahan atau protein yang dihidrolisis berpengaruh pula terhadap nilai aktivitas penghambatan terhadap ACE sehingga menentukan potensinya sebagai antihipertensi.

Penentuan derajat hidrolisis dapat mengetahui indikator terjadinya proses dan hasil hidrolisis. Semakin lama waktu hidrolisis maka pemutusan ikatan peptida semakin meningkat, menyebabkan jumlah asam amino bebas juga meningkat sehingga nilai derajat hidrolisis naik (Prastika dkk., 2019). Jika diperoleh nilai derajat hidrolisis lebih dari 30%, maka hidrolisis dapat dikatakan baik.

Berat molekul yang kecil dapat menghasilkan konsentrasi protein yang tinggi sehingga akan menghasilkan jumlah protein rendah. Protein padi yang telah terhidrolisis memiliki peredaman radikal hidroksil dan kemampuan proteksi terhadap kerusakan DNA, karena protein terhidrolisis memiliki tingkat peredaman radikal hidroksil lebih efektif dari protein kasar (Safiera dkk., 2017). Proses hidrolisis diharapkan dapat memberikan peptida antioksidan alami dan sifat antioksidan yang lebih tinggi.

#### **2.4 Aktivitas Protein Antioksidan**

Protein merupakan rangkaian asam amino dengan ikatan peptida yang mempunyai fungsi sebagai bahan struktural karena memiliki rantai panjang dan sebagai biokatalis untuk reaksi-reaksi kimia dalam sistem makhluk hidup. Protein mempunyai molekul besar dengan bobot molekul mulai dari 5000. Asam amino yang terdapat dalam molekul protein mencapai 20 jenis. Protein mudah dipengaruhi oleh suhu tinggi, pH, dan pelarut organik. Rantai polipeptida sebuah molekul protein mempunyai satu konformasi asli yang sangat stabil pada suhu dan pH tertentu sehingga memungkinkan protein dapat diisolasi dalam keadaan konformasi asli tersebut (Suprayitno dan Sulistiyati, 2017).

Peptida merupakan senyawa yang terdiri dari susunan beberapa monomer

asam amino yang saling terikat. Peptida yang secara biologi aktif berpengaruh positif terhadap kesehatan manusia disebut peptida bioaktif. Peptida bioaktif biasanya terikat dalam sekuen asam amino suatu protein yang terdiri atas 2-50 asam amino. Peptida bioaktif memiliki potensi sebagai senyawa antihipertensi, antioksidan, antagonis opioid, antibakteri, antitrombotik, dan imunomodulator (Murray and Fitzgerald, 2007).

Menurut Rafi dkk., (2019) antioksidan merupakan suatu senyawa pemberi elektron yang akan menghambat suatu reaksi oksidasi atau membantu menghentikan proses perusakan sel dengan cara menangkap radikal bebas dan molekul yang reaktif. Radikal bebas bersifat sangat reaktif karena memiliki konfigurasi elektron yang tidak stabil sehingga dapat menarik elektron dari molekul lain yang berdekatan (Suhartatik dkk., 2013). Mekanisme pertahanan tubuh antioksidan yaitu dengan cara mengubah radikal superoksida ( $O_2^-$ ) yang dihasilkan dari respirasi serta yang berasal dari lingkungan menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang reaktif. Perubahan tersebut dilakukan oleh enzim superoksida dismutase (SOD) yang berada didalam sitosol dan mitokondria. Peroksida dikatalisis oleh enzim katalase yang mampu menggunakan satu molekul  $H_2O_2$  sebagai substrat elektron donor dan satu molekul  $H_2O_2$  menjadi substrat elektron aseptor, sehingga 2 molekul  $H_2O_2$  menjadi 2  $H_2O$  dan  $O_2^-$ .  $H_2O_2$  yang tidak dikonversi menjadi  $H_2O$  dapat membentuk radikal hidroksil reaktif (OH). OH bersifat lebih reaktif dan berbahaya karena menyebabkan kerusakan sel melalui peroksidasi lipid, protein, dan DNA. OH dapat diubah menjadi molekul yang aman bagi sel oleh enzim yang berada dalam tubuh (Werdhasari, 2014).

Aktivitas antioksidan merupakan proses penghambatan radikal bebas oleh antioksidan (Aziz dkk., 2015). Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode, salah satunya metode ABTS (*2,2 azinobis 3-ethylbenzothiazole-6-6sulfonic acid*) dan hidroksil. ABTS merupakan substrat dari peroksidase yang akan membentuk senyawa radikal kation ketika dioksidasi dengan  $H_2O_2$ . Hasil dari uji aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai inhibisi. Semakin tinggi nilai inhibisi maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidan (Rinto dkk., 2019). Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas

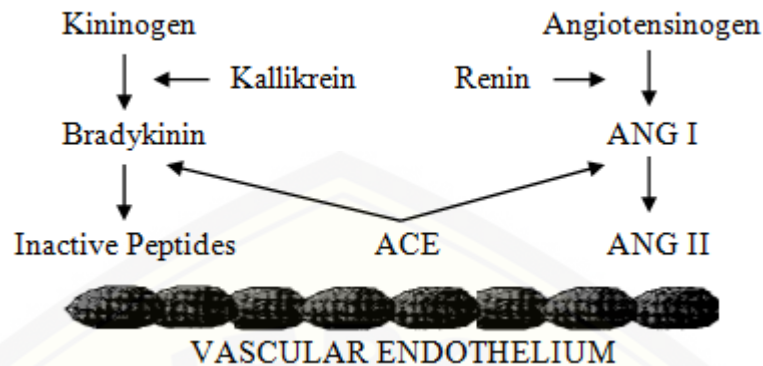
antioksidan adalah konsentrasi efisien atau *efficient concentration* ( $EC_{50}$ ) atau *inhibition concentration* ( $IC_{50}$ ) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan penghambatan 50%. Aktivitas antioksidan yang semakin tinggi ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  yang rendah (Purwanto dkk., 2014).

## 2.5 Aktivitas Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor

Hipertensi merupakan penyakit gangguan sistem peredaran darah akibat adanya kenaikan tekanan darah yang tidak normal. Sistem *renin-angiotensin aldosteron* (RAAS) merupakan sistem hormon yang mengatur tekanan darah arteri dan keseimbangan cairan tubuh. Renin plasma yang dihasilkan oleh ginjal akan mengubah hormon angiotensinogen yang dilepaskan oleh hati menjadi angiotensin I. Angiotensin I akan aktif apabila dikatalisis oleh ACE yang dihasilkan oleh paru-paru menjadi oktapeptida angiotensin II. Angiotensin II pada pembuluh darah akan menyebabkan vasokonstriksi sehingga dinding pembuluh darah menebal dan menyempit serta merangsang adrenal korteks untuk memproduksi senyawa aldosteron sehingga retensi garam natrium dalam darah meningkat. Angiotensin II juga meningkatkan aktivitas sistem syaraf simpatik sehingga menyebabkan tekanan darah meningkat (Riyadi, 2018). Angiotensin II hanya bertahan selama 30-60 detik dalam darah, dilanjutkan dikatalisis oleh aminopeptidase A menjadi angiotensin III dan aminopeptidase N menjadi angiotensin IV. Angiotensin III dan IV tidak aktif dan akan didetoksifikasi oleh organ ginjal (Kearney *et al.*, 2005).

ACE atau kinase II (*bivalent dipeptidyl carboxyl metallopeptidase*) merupakan ektoenzim multifungsi yang berperan dalam regulasi peredaran darah. ACE mengkatalisis pelepasan dipeptida histidil-leusin dengan mengikat dipeptida pada ujung C dari angiotensin I sehingga menghasilkan oktapeptida angiotensin II. Angiotensin II yang berfungsi untuk sekresi aldosteron dapat berpotensi menyempitkan pembuluh darah (*vasoconstrictor*) sehingga dapat menyebabkan retensi sodium dan terjadi peningkatan volume cairan ekstraseluler. Angiotensin II juga berfungsi untuk kontraksi jaringan vaskuler sehingga meningkatkan resistensi perifer yang mengakibatkan hipertensi, sedangkan bradikinin

berfungsi untuk melemaskan otot pembuluh darah.



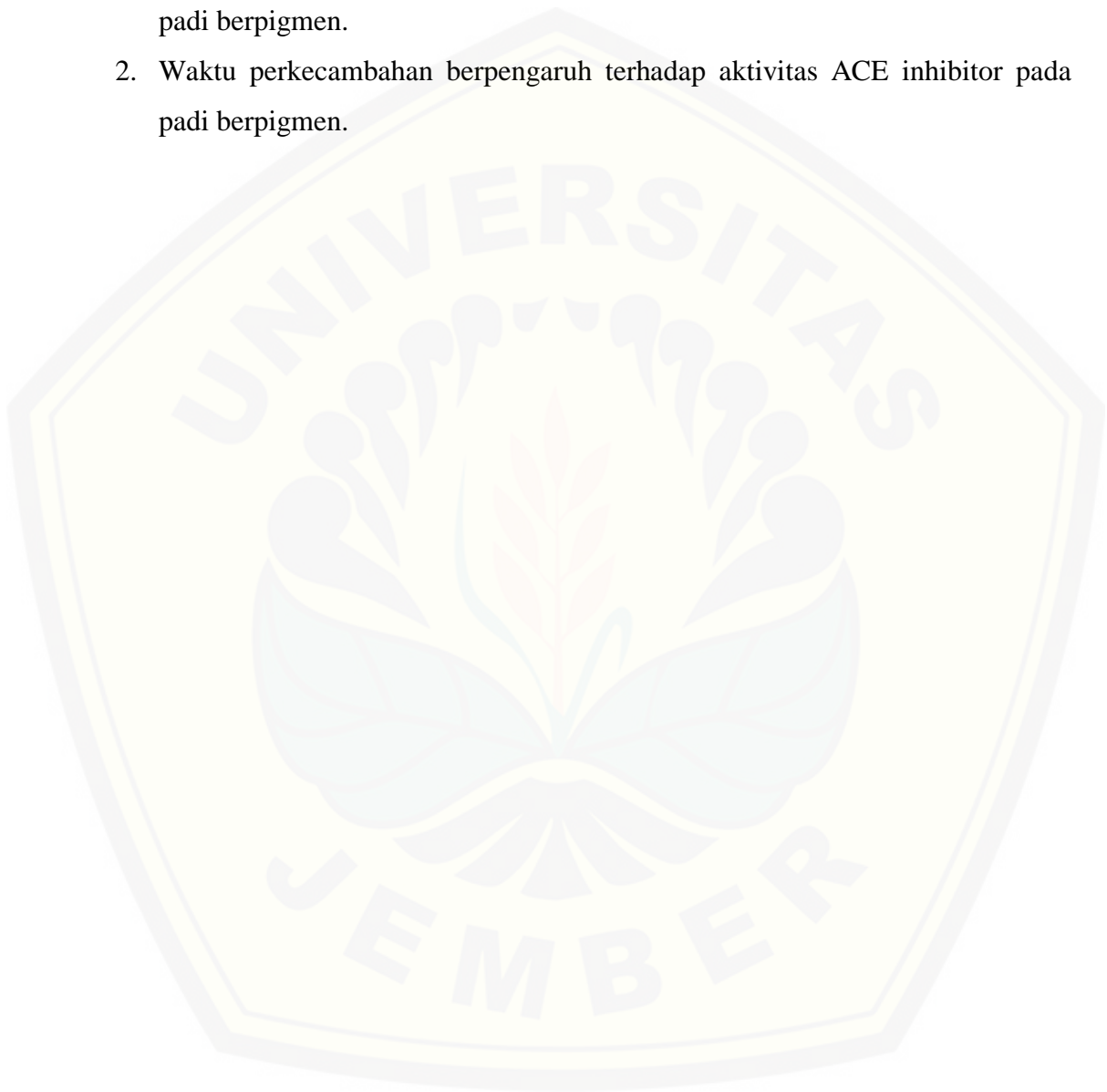
Gambar 2.5 Regulasi ACE terhadap keseimbangan antara Angiotensin II dan bradikinin.

Sumber makanan yang mengandung peptida aktif dapat berfungsi sebagai penghambat ACE. Protein yang berfungsi sebagai penghambat ACE memiliki bobot yang cukup besar merupakan kompleks protein yang terbentuk dari interaksi antarprotein. Besarnya aktivitas penghambatan ACE dipengaruhi oleh peningkatan peptida, yaitu terbentuknya peptida dalam bentuk oligopeptida-oligopeptida dengan jumlah residu relatif besar. Peptida dengan residu asam amino yang lebih kecil memberikan penghambatan yang lebih besar. Peptida antihipertensi dihasilkan oleh peptidase intraselluler yang akan dikeluarkan kembali kedalam produk melalui lisis sel atau pertukaran peptida melalui membran (Wikandari dkk., 2012). Aktivitas penghambatan ACE juga dapat dipengaruhi oleh bantuan enzimatik yang menyebabkan pemecahan protein menjadi peptida kecil (di- dan tripeptida) dan peptida besar (10 sampai 51 asam amino) sehingga dapat diserap utuh melalui usus dan menghasilkan efek biologis pada tingkat jaringan. Faktor lain yang berperan dalam aktivitas penghambatan ACE adalah aktivitas beberapa enzim pencernaan seperti pepsin, tripsin dan kemotripsin. Enzim-enzim tersebut melalui proses hidrolisis dapat melepaskan peptida antihipertensi dari protein makanan. Semakin tinggi asupan protein total maka tekanan darah akan semakin rendah (Purwani dan Widyastuti, 2015).

## 2.6 Hipotesis

Berdasarkan latar belakang dan tinjauan pustaka, maka dapat diambil hipotesis sebagai berikut:

1. Waktu perkecambahan berpengaruh terhadap aktivitas protein antioksidan padi berpigmen.
2. Waktu perkecambahan berpengaruh terhadap aktivitas ACE inhibitor pada padi berpigmen.





### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian “Pengaruh Perkecambahan Padi Ketan Hitam dan Padi Merah terhadap Aktivitas Protein Antioksidan dan *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor*” dilaksanakan pada bulan Oktober 2020 – Mei 2021 di Laboratorium Nutraseutikal dan Farmaseutikal, *Center for Development of Advance Science and Technology* (CDAST), Universitas Jember.

#### 3.2. Persiapan Penelitian

Persiapan penelitian yang dilakukan yaitu dengan mempersiapkan alat dan bahan. Alat yang digunakan dalam penelitian adalah spektrofotometer, microplate reader, sentrifugasi, dan inkubator. Bahan yang digunakan untuk percobaan adalah benih padi (Merah Wangi, Ketan Hitam, IR64), larutan ABTS (2,2 *azinobis 3-ethylbenzothiazole-6-6sulfonic acid*), 2 Deoksi - D Ribosa, FeCl<sub>3</sub>, EDTA (Asam Etilenadiaminatetraasetat), GSH (Glutathion), dan HHL (Hippuryl-L-histidyl-L-leucine).

#### 3.3. Rancangan Percobaan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan tiga ulangan. Perlakuan yang akan diterapkan pada percobaan ini yaitu:

Faktor 1. Waktu Perkecambahan

P0 : Perkecambahan 0 hari

P1 : Perkecambahan 2 hari

P2 : Perkecambahan 4 hari

P3 : Perkecambahan 6 hari

Faktor 2. Varietas Padi

V1 : Merah Wangi

V2 : Ketan Hitam

V3 : IR64

### **3.4. Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1. Perkecambahan**

Sebelum penyemaian, dilakukan perendaman sebanyak 10 benih tiap varietas dengan fungisida selama 10 menit. Benih yang mengambang tidak perlu diambil karena menunjukkan kualitas benih yang kurang baik. Benih kemudian dibilas dengan air mengalir, lalu direndam dalam akuades steril selama 24 jam untuk mempercepat perkecambahan benih. Benih yang sudah diimbibisi lalu ditiriskan dan diletakkan pada media (Kasmiyati dkk., 2015).

Penanaman benih dilakukan dengan media kertas merang ukuran 15 x 25 cm menggunakan teknik Uji Kertas Digulung didirikan dalam Plastik (UKDdP). Kertas yang digunakan sebanyak 5 lembar dan sudah dilembabkan dengan akuades. Penanaman benih pada media dilakukan dengan cara meletakkan 10 benih dengan titik tumbuh berada dibawah kemudian digulung sebanyak 5-6 kali. Selanjutnya adalah memberi label dan meletakkan dalam plastik kemudian didirikan. Benih diletakkan dalam germinator atau dalam kondisi gelap dengan suhu  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Perkecambahan benih dilaksanakan sesuai dengan perlakuan, yaitu selama 0, 2, 4, dan 6 hari (Jasmi, 2016).

#### **3.4.2. Pemeliharaan**

Pemeliharaan yang dilakukan berupa penyiraman. Penyiraman cukup dilakukan dengan menyemprot media sebanyak  $\pm 2$  hari sekali pada pagi hari. Jika media terlihat masih basah maka tidak perlu disiram.

#### **3.4.3. Ekstraksi Kecambah Padi**

Ekstraksi tanaman padi menggunakan metode Noviyanti *et al.*, (2020) dengan sedikit modifikasi. Sampel kecambah padi diekstraksi dengan cara dihaluskan menggunakan mortar. Ekstrak yang diperoleh kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit.

#### **3.4.4. Analisis Total Protein Terlarut**

Analisis protein terlarut dilakukan dengan menggunakan metode Matra



dkk., (2018) dengan sedikit modifikasi. Kandungan protein yang terdapat dalam sampel diukur dengan metode Bradford. Sampel yang telah diekstraksi diambil sebanyak 5  $\mu$ l, lalu ditambahkan dengan aquadest sebanyak 45  $\mu$ l dan 950  $\mu$ l larutan Bradford. Inkubasi selama 15 menit. Nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang  $\lambda$  595 nm. Hasil yang didapat dibandingkan dengan standar Bovine Serum Albumin (BSA) sebagai standar untuk mengetahui konsentrasi total protein terlarut dengan satuan  $\mu$ g BSA/mL berat basah sampel.

### 3.5. Variabel Pengamatan

#### 3.5.1 Morfologi Kecambah

##### 3.5.1.1 Panjang plumula

Panjang plumula diperoleh dari pengukuran pada hari terakhir waktu perkecambahan. Pengukuran dilakukan mulai dari titik tumbuh pada biji sampai pangkal plumula (Dharma dkk., 2015).

##### 3.5.1.2 Panjang radikula

Pengukuran panjang radikula dilakukan pada saat akhir pengamatan. Panjang radikula diukur mulai dari titik tumbuh pada biji hingga ujung radikula (Dharma dkk., 2015).

##### 3.5.1.3 Daya Berkecambah

Daya berkecambah ditunjukkan dengan menghitung jumlah kecambah normal selama jangka waktu perkecambahan berdasarkan metode Prabhandaru dan Saputro (2017) dengan rumus:

$$Dk = \sum \frac{Bk}{Sb} \times 100\%$$

Keterangan:

Dk = daya perkecambahan

Bk = jumlah benih yang berkecambah

Sb = jumlah sampel benih

### 3.5.2 Derajat Hidrolisis

Derajat hidrolisis dilakukan dengan metode Noviyanti *et al.*, (2020) dengan sedikit modifikasi dan ditentukan menggunakan metode TNBS (Asam Trinitro Benzen Sulfonat). Sampel 125  $\mu\text{l}$  dicampur dengan buffer fosfat (2 mL, 200 mM, pH 8,2) dan TNBS (1 ml, 0,1%), kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 50°C dengan waterbath. Reaksi dihentikan dengan menambahkan  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (2 ml, 0,1 M) lalu didinginkan pada suhu ruang selama 15 menit, kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 420 nm. Kurva standart *L-leucine* digunakan untuk mengetahui konsentrasi asam amino. Presentase derajat hidrolisis (DH) ditentukan dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{DH} = \frac{H_2 - H_1}{H_{\text{tot}}} \times 100\%$$

Keterangan:

DH : Derajat hidrolisis

$H_1$  : Kandungan gugus asam amino sebelum dihidrolisis ( $\mu\text{mol}$  leusin/mL)

$H_2$  : Kandungan gugus asam amino setelah dihidrolisis ( $\mu\text{mol}$  leusin/mL)

$H_{\text{tot}}$  : Kandungan total ikatan peptida pada substrat ( $\mu\text{mol}$  leusin/mL)

### 3.5.3 Sodium Dodesil Sulfat (SDS-PAGE)

SDS-PAGE dilakukan berdasarkan metode Bhat and Riar (2017) dengan sedikit modifikasi. Sample protein ditambahkan dengan buffer sampel 2:1, kemudian dipanaskan pada suhu 90°C selama 3 menit. Sampel yang sudah dipanaskan kemudian dimasukkan dalam sumuran 10% gel akrilamida yang mengandung buffer Tris-HCl (50 mM, pH 6,8). Gel dipolimerasi dengan tetramethylenediamine (TEMED) dan amonium persulfat (APS). Elektroforesis dilakukan pada tegangan konstan 80 V selama 4 jam. Setelah selesai, gel diwarnai dengan 0,1% bromofenol biru diikuti dengan penghilangan pewarnaan dalam larutan destaining (40 mL metanol, 50 mL akuades, dan 10 mL asam asetat glasial). Bromophenol berwarna biru seperti pewarna digunakan untuk menunjukkan aliran polipeptida dalam gel. Pita yang dihasilkan oleh protein divisualisasikan di bawah cahaya putih.

### 3.5.4 Aktivitas Antioksidan

#### 3.5.4.1 Metode 2,2 azinobis 3-ethylbenzothiazole-6-6sulfonic acid (ABTS)

Metode ABTS dilakukan sesuai dengan prosedur Re *et al.*, (1999). Larutan ABTS dipersiapkan dengan mencampurkan 7 mM ABTS dan 2,45 mM *potassium persulfate* dengan jumlah sebanding yang kemudian diinkubasikan selama 12-16 jam di tempat gelap pada suhu ruang. Sebelum memulai pengujian, larutan ABTS dilarutkan dengan *phosphate buffer saline* (0,2 M, pH 7,4) hingga besar absorbansi  $0,70 \pm 0,02$  pada panjang gelombang 734 nm. Kontrol blanko dibuat dengan cara yang sama tanpa penambahan sampel.

Campuran sampel dan reagen ABTS dihomogenisasi dengan vortex selama 30 detik dan diinkubasi pada ruang gelap selama 6 menit. Uji peredaman ABTS radikal dinyatakan dengan persen (%) penghambatan terhadap radikal ABTS. Persen penghitungan dihitung sesuai rumus:

$$\text{Daya Antioksidan} = \frac{(\text{Abs Blanko} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs Blanko}} \times 100\%$$

#### 3.5.4.2 Metode Hidroksil

Pengujian aktivitas antioksidan dengan hidroksil dilakukan berdasarkan metode Kumar *et al.*, (2013). Pengujian dilakukan dengan menambahkan masing-masing sampel dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  (100  $\mu\text{L}$ , 10 mM), EDTA (100  $\mu\text{L}$ , 1 mM), asam askorbat (50  $\mu\text{L}$ , 1 mM),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (50  $\mu\text{L}$ , 1 mM), buffer fosfat (150  $\mu\text{L}$ , 28 mM, pH 7,4), dan deoksiribosa (50  $\mu\text{L}$ , 28 mM). Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Setelah inkubasi, tambahkan TBA (400  $\mu\text{L}$ , 1%) dan TCA (400  $\mu\text{L}$ , 2,8%) untuk memunculkan warna kromogen merah muda. Tabung reaksi berisi sampel kemudian dipanaskan pada suhu 80°C selama 30 menit. Kemudian didinginkan dan dibaca absorbansinya pada  $\lambda$  532 nm. Sebagai pembanding digunakan kontrol positif yaitu dengan penambahan glutathione (GSH).

Aktivitas antioksidan melalui peredaman radikal hidroksil (OH) dinyatakan sebagai persen (%) penghambatan terhadap radikal hidroksil. Perhitungan peredaman radikal hidroksil ditentukan dengan persamaan:

$$\text{Peredaman radikal hidroksil (\%)} = \frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs kontrol = nilai absorbansi tanpa penambahan sampel

Abs sampel = nilai absorbansi dengan penambahan sampel

### 3.5.5 Aktivitas ACE Inhibitor

Aktivitas ACE inhibitor dilakukan berdasarkan metode Arihara *et al.*, (2001). Pengujian dilakukan dengan cara menambahkan sampel pada substrat 125  $\mu$ l (7,6 mM HHL dan 608 mM NaCl dalam 10 ml buffer borat pH 8,3). Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Selanjutnya enzim ACE (50  $\mu$ l, 50 mU/ml) ditambahkan pada campuran kemudian diinkubasi selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan HCl (200  $\mu$ l, 1 N). Campuran divortex dan ditambah dengan 1140  $\mu$ l etil asetat kemudian disentrifugasi 10.000 rpm selama 10 menit. Supernatan sebanyak 1 mL diambil dan dikeringkan pada suhu 95°C selama 90 menit. Asam hipurat yang terbentuk dilarutkan ke dalam 1 mL akuades. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 228 nm menggunakan spektro UV-vis dan sebagai kontrol positif digunakan captopril. Persen aktivitas ACE inhibitor ditentukan dengan rumus:

$$(\%) \text{ aktivitas ACE inhibitor} = \frac{(A-B) - (C-D)}{(A-B)} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Absorbansi kontrol

B = Absorbansi blanko kontrol

C = Absorbansi sampel

D = Absorbansi blanko sampel

### 3.6 Analisis Data

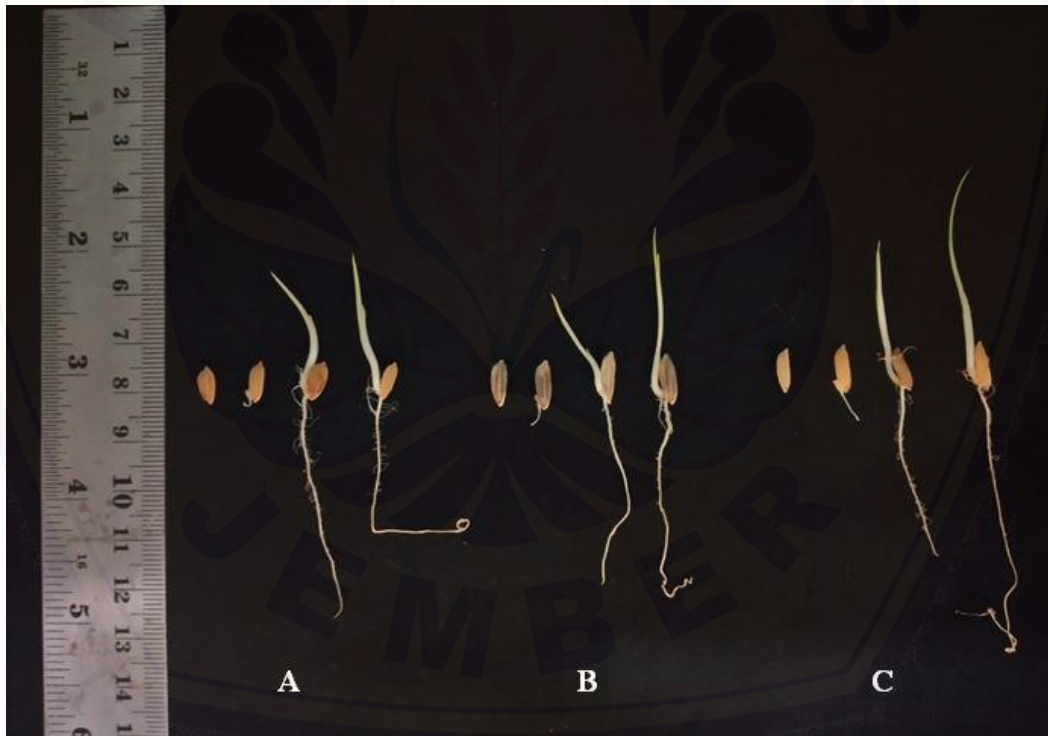
Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Jika terdapat beda nyata maka dilakukan uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) dengan taraf 5%.

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Data hasil pengamatan dari beberapa parameter penelitian, yaitu morfologi kecambah (panjang plumula, panjang radikula, dan daya berkecambah), derajat hidrolisis, aktivitas antioksidan (*2,2 azinobis 3-ethylbenzothiazole-6-6sulfonic acid* dan hidroksil), dan ACE inhibitor dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Jika berbeda nyata maka dilakukan Uji lanjut Jarak Berganda Duncan dengan taraf 5%.

### 4.1. Morfologi Kecambah

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa faktor varietas dan waktu perkecambahan menyebabkan perbedaan morfologi kecambah yang nyata sehingga dilanjutkan dengan uji DMRT 5%.



Gambar 4.1. Biji padi selama masa perkecambahan. Waktu perkecambahan ditunjukkan pada gambar biji padi kiri ke kanan (0, 2, 4, 6 hari). (A) Merah wangi, (B) Ketan hitam, (C) IR64



Tabel 4.1. Pengaruh Perkecambahan Padi terhadap Morfologi

Varietas	Waktu Perkecambahan (Hari)	Plumula (cm)	Radikula (cm)	Daya Berkecambah (%)
Merah Wangi	0	0,00 ± 0,00 <sup>aC</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>aC</sup>	00,00 ± 00,00 <sup>aC</sup>
	2	0,00 ± 0,00 <sup>aC</sup>	0,27 ± 0,25 <sup>aC</sup>	06,67 ± 05,77 <sup>cC</sup>
	4	1,15 ± 0,17 <sup>aB</sup>	4,10 ± 0,38 <sup>bB</sup>	80,00 ± 00,00 <sup>bB</sup>
	6	2,09 ± 0,25 <sup>bA</sup>	6,00 ± 0,33 <sup>cA</sup>	96,67 ± 05,77 <sup>aA</sup>
Ketan Hitam	0	0,00 ± 0,00 <sup>aC</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>aD</sup>	00,00 ± 00,00 <sup>aC</sup>
	2	0,00 ± 0,00 <sup>aC</sup>	0,36 ± 0,07 <sup>aC</sup>	33,33 ± 11,55 <sup>bB</sup>
	4	1,09 ± 0,34 <sup>aB</sup>	3,09 ± 0,38 <sup>cB</sup>	83,33 ± 20,82 <sup>abA</sup>
	6	3,56 ± 0,11 <sup>aA</sup>	6,69 ± 0,50 <sup>bA</sup>	86,67 ± 05,77 <sup>bA</sup>
IR64	0	0,00 ± 0,00 <sup>aC</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>aD</sup>	00,00 ± 00,00 <sup>aC</sup>
	2	0,00 ± 0,00 <sup>aC</sup>	0,49 ± 0,16 <sup>aC</sup>	40,00 ± 10,00 <sup>aB</sup>
	4	1,23 ± 0,15 <sup>aB</sup>	5,69 ± 0,17 <sup>aB</sup>	90,00 ± 00,00 <sup>aA</sup>
	6	3,57 ± 0,11 <sup>aA</sup>	7,97 ± 0,55 <sup>aA</sup>	96,67 ± 05,77 <sup>aA</sup>

Keterangan : Huruf kecil menunjukkan notasi untuk perlakuan varietas padi, sedangkan huruf besar menunjukkan notasi untuk perlakuan waktu perkecambahan. Angka yang diikuti oleh huruf kecil dan huruf besar yang berbeda pada setiap varietas padi dan waktu perkecambahan, maka menunjukkan berbeda sangat nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf 5%.

Berdasarkan analisis ragam diketahui bahwa panjang plumula varietas Merah Wangi, Ketan Hitam, dan IR64 pada waktu perkecambahan ke 0, 2, dan 4 berbeda tidak nyata. Pada waktu perkecambahan ke-6, varietas Ketan Hitam dan IR64 berbeda tidak nyata, sedangkan berbeda nyata jika dibandingkan dengan varietas Merah Wangi. Panjang plumula varietas Merah Wangi pada hari ke 0 dan 2 terbukti berbeda tidak nyata, namun berbeda nyata dengan waktu perkecambahan pada hari ke 4 dan 6. Panjang plumula tertinggi pada seluruh varietas padi terdapat pada hari ke 6, yaitu 2,09 cm pada padi Merah Wangi, 3,56 cm pada padi Ketan Hitam, dan 3,57 cm pada padi IR64.

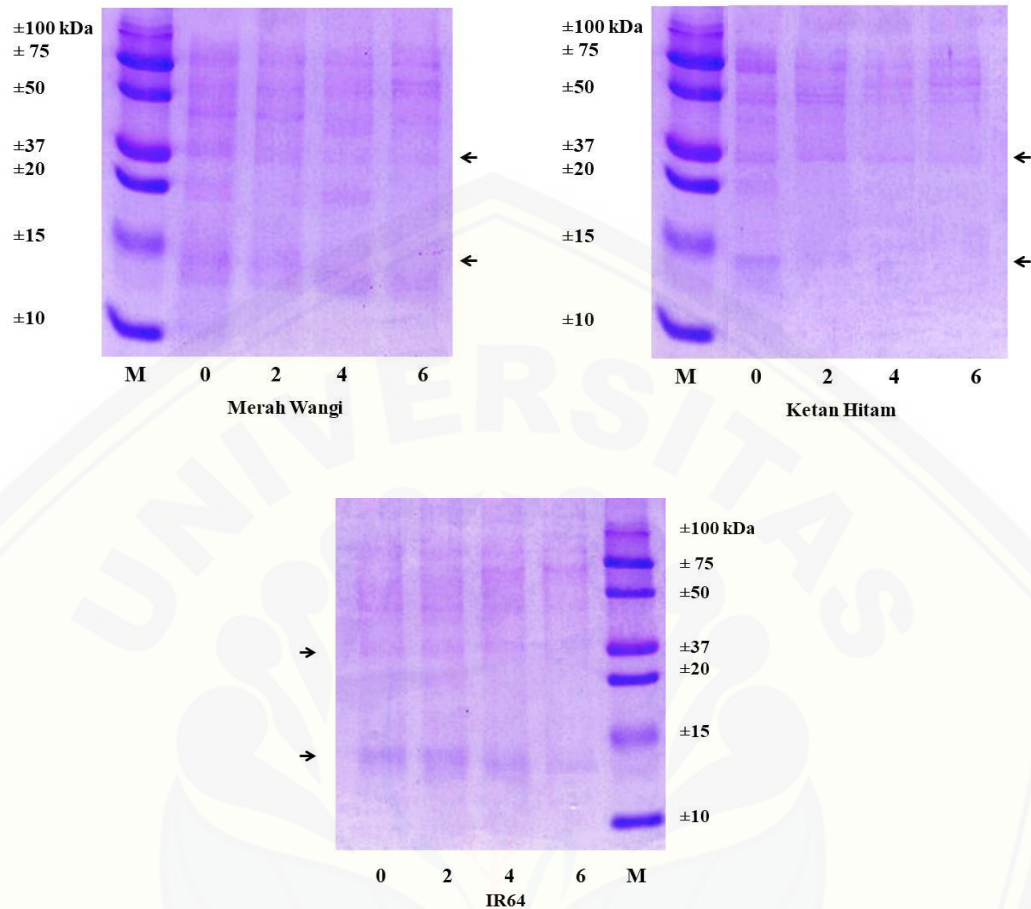
Panjang radikula varietas padi Merah Wangi, Ketan Hitam, dan IR64 pada waktu perkecambahan ke-0 dan 2 berbeda tidak nyata, sedangkan pada waktu perkecambahan ke-4 dan 6 berbeda nyata. Waktu perkecambahan ke-0 dan 2 pada varietas Merah Wangi menunjukkan berbeda tidak nyata, sedangkan pada waktu perkecambahan ke-4 dan 6 berbeda nyata. Waktu perkecambahan ke-0, 2, 4, dan 6 hari pada varietas Ketan Hitam dan IR64 menunjukkan berbeda nyata ditandai

dengan perbedaan huruf pada setiap perlakuan hari. Radikula tertinggi ditunjukkan pada perlakuan hari ke 6 pada setiap varietas, yaitu 6 cm pada varietas padi Merah Wangi, 6,69 cm pada varietas padi Ketan Hitam, dan 7,97 cm pada varietas padi IR64.

Daya berkecambah tertinggi pada setiap varietas padi dan waktu perkecambahan terdapat pada varietas Merah Wangi dan IR64 pada hari ke 6, yaitu 96,67%. Berdasarkan analisis ragam diketahui bahwa setiap varietas padi pada waktu perkecambahan ke-0 menunjukkan berbeda tidak nyata, sedangkan pada hari ke-2 berbeda nyata. Waktu perkecambahan ke-4 pada varietas Merah Wangi dan Ketan Hitam menunjukkan berbeda tidak nyata, sedangkan jika dibandingkan dengan varietas IR64 menunjukkan berbeda nyata. Waktu perkecambahan ke-6 pada varietas Merah Wangi dan IR64 menunjukkan berbeda tidak nyata, sedangkan jika dibandingkan dengan varietas Ketan Hitam berbeda nyata.

Morfologi tumbuhan merupakan sebuah parameter yang digunakan untuk memahami adaptasi tumbuhan terhadap lingkungan serta dapat menjadi gambaran guna mengetahui produktifitas suatu tanaman. Proses perkecambahan dimulai oleh rangsangan hormon pertumbuhan yang disebabkan oleh penyerapan air. Proses penyerapan air digunakan oleh tanaman untuk melunakkan biji dan menyebabkan pengembangan embrio dan endosperma sehingga akhirnya kulit biji akan pecah. Air sangat berperan saat proses perkecambahan guna proses hidrolisis dan reaksi kimia lainnya (Gardner and Franklin, 1991). Air masuk melalui akar sehingga memunculkan radikula sebagai cikal bakal tumbuhnya akar. Potensial air ini berpengaruh terhadap pertumbuhan akar kecambah. Persentase perkecambahan diperoleh dari jumlah benih yang berkecambah dibagi jumlah benih yang dikecambahkan dan dikalikan 100%. Perbedaan pertumbuhan antarvarietas menunjukkan bahwa sel tumbuhan antarvarietas memiliki potensi pengambilan air yang berbeda.

#### 4.2. Profil Protein (SDS-PAGE)



Gambar 4.2 Elektroforegram SDS-PAGE pada Perkecambahan Padi. Tanda panah menunjukkan protein sampel yang terdegradasi. M merupakan marker, sedangkan 0, 2, 4, dan 6 menunjukkan waktu perkecambahan.

Hasil SDS-PAGE dapat dilihat berdasarkan gambar tersebut. Marker (penanda protein) digunakan untuk mengetahui bobot molekul setiap pita dari protein. Fraksinasi protein memunculkan pita-pita protein yang jelas pada hari perkecambahan ke-0. Perbedaan pita protein varietas padi Merah Wangi, Ketan Hitam, dan IR64 dapat terlihat pada berat molekul 37 dan 15 kDa. Protein yang memiliki ketebalan lebih besar dibandingkan protein lain, menunjukkan bahwa protein tersebut memiliki konsentrasi yang tinggi. Semakin tinggi konsentrasi protein maka semakin tebal pita yang terbentuk. Semakin lama waktu perkecambahan, maka pita protein semakin tidak terlihat karena terhidrolisis secara alami.

Elektroforesis protein merupakan metode yang digunakan untuk memisahkan molekul protein berdasarkan beratnya. SDS-PAGE memisahkan molekul-molekul protein berdasarkan ukuran dan bentuk partikelnya. Gel ini dapat dibuat dengan ukuran pori yang beragam yang ditentukan berdasarkan jumlah total senyawa akrilamida yang ditambahkan (konsentrasi gel). Ukuran pori gel akan semakin kecil seiring dengan meningkatnya konsentrasi gel sehingga hanya dapat dilewati oleh molekul protein yang memiliki bobot molekul kecil. Penggunaan SDS dan merkaptoetanol disertai dengan pemanasan akan memecah struktur tiga dimensi dari protein, sehingga protein mempunyai densitas muatan yang identik dan bergerak pada gel hanya berdasarkan ukuran protein (Machsun dan Zulaika, 2017). Semakin lama waktu perkecambahan, maka pita yang dihasilkan akan semakin tipis. Hal tersebut menunjukkan bahwa protein telah terhidrolisis menjadi asam amino. Perbedaan ekspresi protein pada beras menunjukkan setiap beras memiliki karakter pita protein yang spesifik dan terkait dengan metabolisme dalam beras. Perbedaan ekspresi tersebut dapat menjadi penanda biokimia padi pada setiap varietas (Bhat and Riar (2017).

### 4.3. Derajat Hidrolisis

Hasil Uji lanjut Jarak Berganda Duncan 5% parameter derajat hidrolisis terhadap pengaruh perlakuan perbedaan varietas dan waktu perkecambahan.

Tabel 4.3 Pengaruh Perkecambahan Padi terhadap Derajat Hidrolisis

Varietas	Waktu Perkecambahan (Hari)	Derajat Hidrolisis (%)
Merah Wangi	0	00,00 ± 0,00 <sup>aD</sup>
	2	07,43 ± 1,02 <sup>bC</sup>
	4	39,39 ± 3,09 <sup>bB</sup>
	6	47,98 ± 2,20 <sup>aA</sup>
Ketan Hitam	0	00,00 ± 0,00 <sup>aC</sup>
	2	14,58 ± 1,62 <sup>aB</sup>
	4	46,96 ± 2,01 <sup>aA</sup>
	6	47,55 ± 1,04 <sup>aA</sup>
IR64	0	00,00 ± 0,00 <sup>aD</sup>
	2	13,08 ± 0,78 <sup>aC</sup>
	4	16,20 ± 1,51 <sup>cB</sup>
	6	30,65 ± 00,16 <sup>bA</sup>



Keterangan : Huruf kecil menunjukkan notasi untuk perlakuan varietas padi, sedangkan huruf besar menunjukkan notasi untuk perlakuan waktu perkecambahan. Angka yang diikuti oleh huruf kecil dan huruf besar yang berbeda pada setiap varietas padi dan waktu perkecambahan, maka menunjukkan berbeda sangat nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf 5%.

Berdasarkan hasil analisis ragam diketahui bahwa derajat hidrolisis setiap varietas padi pada waktu perkecambahan ke-0 menunjukkan berbeda tidak nyata. Waktu perkecambahan ke-2 pada varietas Ketan Hitam dan IR64 menunjukkan berbeda tidak nyata, sedangkan jika dibandingkan dengan varietas Merah Wangi berbeda nyata. Waktu perkecambahan ke-4 pada setiap varietas padi menunjukkan berbeda nyata. Hari ke-6 pada varietas Merah Wangi dan Ketan Hitam menunjukkan berbeda tidak nyata, sedangkan jika dibandingkan dengan varietas IR64 menunjukkan berbeda nyata. Derajat hidrolisis varietas Merah Wangi dan IR64 pada seluruh waktu perkecambahan menunjukkan berbeda nyata. Varietas Ketan Hitam pada waktu perkecambahan ke-0 dan 2 menunjukkan berbeda nyata, sedangkan jika dibandingkan dengan waktu perkecambahan ke-4 dan 6 menunjukkan berbeda tidak nyata. Pada perlakuan waktu perkecambahan, derajat hidrolisis tertinggi yaitu hari ke-6 pada setiap varietas padi.

Derajat hidrolisis merupakan proporsi ikatan peptida yang dipotong dalam protein hidrolisat. Penentuan derajat hidrolisis dapat menggunakan berbagai macam metode, salah satunya metode TNBS. Kelebihan dari metode ini adalah dapat menentukan gugus amino terminal N bebas secara langsung dalam menghidrolisis, sedangkan kekurangan dari metode ini adalah harus dilakukan dengan cara selain reaksi hidrolisis enzimatis. Metode TNBS tidak dapat bereaksi dengan prolin (Rutherford, 2010).

Protein terhidrolisis adalah produk dari putusnya ikatan peptida pada molekul protein yang mengandung campuran komponen berbagai peptida dan asam amino bebas tergantung pada derajat hidrolisis (Noviyanti *et al.*, 2020). Tingkat hidrolisis penyimpanan protein berhubungan dengan peningkatan kapasitas antioksidan pada benih perkecambahan. Aktivitas antioksidan dalam



protein yang terhidrolisis diketahui menghasilkan aktivitas peredaman radikal bebas yang tinggi.

Panjang dan karakteristik peptida yang terbentuk dilihat dari penyusun asam amino, keberadaan gugus polar, dan gugus polar yang dapat terionisasi. Hal tersebut juga menentukan sifat fungsional dan bioaktif suatu tanaman yang tidak hanya bergantung pada derajat hidrolisis, namun juga protein yang digunakan sebagai substrat (Piotrowicz *et al.*, 2020).

#### 4.4. Aktivitas Antioksidan

Hasil Uji lanjut Jarak Berganda Duncan 5% pada aktivitas antoksidan terhadap pengaruh perlakuan perbedaan varietas dan waktu perkecambahan.

Tabel 4.4 Pengaruh Perkecambahan Padi terhadap Aktivitas Antioksidan

Varietas	Waktu Perkecambahan (Hari)	Nilai IC <sub>50</sub> ABTS (µg/mL)	Nilai IC <sub>50</sub> Hidroksil (µg/mL)
Merah Wangi	0	217,29 ± 7,10 <sup>aA</sup>	87,99 ± 2,49 <sup>aA</sup>
	2	193,44 ± 9,49 <sup>aB</sup>	60,67 ± 2,67 <sup>aB</sup>
	4	79,75 ± 3,54 <sup>bC</sup>	46,17 ± 2,82 <sup>aC</sup>
	6	68,24 ± 4,14 <sup>aD</sup>	42,59 ± 2,52 <sup>aD</sup>
Ketan Hitam	0	50,98 ± 2,26 <sup>bA</sup>	36,39 ± 0,45 <sup>cA</sup>
	2	47,36 ± 2,16 <sup>cA</sup>	28,27 ± 0,10 <sup>cB</sup>
	4	29,95 ± 1,53 <sup>cB</sup>	26,01 ± 0,16 <sup>cC</sup>
	6	28,18 ± 1,45 <sup>cB</sup>	24,84 ± 0,28 <sup>cC</sup>
IR64	0	212,36 ± 5,29 <sup>aA</sup>	61,16 ± 3,73 <sup>bA</sup>
	2	184,27 ± 6,51 <sup>bB</sup>	41,31 ± 1,86 <sup>bB</sup>
	4	116,18 ± 1,86 <sup>aC</sup>	36,64 ± 1,45 <sup>bC</sup>
	6	53,77 ± 1,66 <sup>bD</sup>	32,79 ± 1,28 <sup>bD</sup>
GSH		2,68 ± 0,23	21,63 ± 2,60

Keterangan : Huruf kecil menunjukkan notasi untuk perlakuan varietas padi, sedangkan huruf besar menunjukkan notasi untuk perlakuan waktu perkecambahan. Angka yang diikuti oleh huruf kecil dan huruf besar yang berbeda pada setiap varietas padi dan waktu perkecambahan, maka menunjukkan berbeda sangat nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf 5%.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode ABTS dan hidroksil. Berdasarkan hasil analisis ragam, diketahui bahwa aktivitas antioksidan dengan metode ABTS pada waktu perkecambahan ke-0 varietas Merah Wangi

dan IR64 menunjukkan berbeda tidak nyata, sedangkan jika dibandingkan dengan varietas Ketan Hitam menunjukkan berbeda nyata. Waktu perkecambahan pada hari ke-2, 4, dan 6 pada setiap varietas padi menunjukkan berbeda nyata. Varietas Merah Wangi dan IR64 pada seluruh waktu perkecambahan menunjukkan berbeda nyata. Waktu perkecambahan pada hari ke-0 dan 2 pada varietas Ketan Hitam menunjukkan berbeda tidak nyata, jika dibandingkan dengan hari-4 dan 6 menunjukkan berbeda nyata.

Hasil aktivitas antioksidan dengan metode hidroksil menunjukkan bahwa seluruh waktu perkecambahan pada varietas Merah Wangi, Ketan Hitam, dan IR64 berbeda nyata. Waktu perkecambahan ke-0, 2, dan 4 pada seluruh varietas menunjukkan berbeda nyata. Varietas Merah Wangi dan IR64 pada waktu perkecambahan ke-6 menunjukkan berbeda tidak nyata, jika dibandingkan dengan varietas Ketan Hitam berbeda nyata. Aktivitas penghambatan radikal tertinggi dimiliki oleh varietas Ketan Hitam dengan nilai konsentrasi penghambatan terendah, sedangkan perlakuan waktu perkecambahan diketahui pada hari ke-6 setiap varietas padi baik pada metode ABTS maupun hidroksil. Semua varietas padi dengan perlakuan waktu perkecambahan menunjukkan terjadinya penurunan nilai  $IC_{50}$ .

Tiga jenis padi yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan warnanya yaitu, padi Ketan Hitam, padi merah, dan padi putih. Perbedaan warna ini diduga mempengaruhi kandungan aktivitas antioksidan pada padi. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa selama proses perkecambahan biji padi mengalami peningkatan aktivitas antioksidan, ditunjukkan dengan semakin lama waktu perkecambahan maka semakin rendah nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  yang kecil menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan melalui peredaman radikal ABTS dan hidroksil semakin besar. Proses perkecambahan mempengaruhi sifat biokimia pada benih karena adanya aktivasi proses enzimatik yang mengubah protein menjadi peptida bioaktif (Noviyanti *et al.*, 2020). Protein yang disimpan pada kotiledon akan dihidrolisis menjadi peptida dan mempercepat terjadinya sintesis protein, sehingga terjadi peningkatan konsentrasi protein pada biji (Onwuka *et al.*, 2009). Semakin tinggi konsentrasi protein yang digunakan, maka peredaman

radikal yang dihasilkan juga semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena kandungan antioksidan yang tinggi, sehingga berpengaruh terhadap tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut.

Aktivitas antioksidan yang tinggi pada beras Ketan Hitam disebabkan oleh banyaknya kandungan pigmen yang berperan sebagai antioksidan. Semakin gelap warna beras, maka semakin banyak kandungan pigmen pada lapisan luar beras. Aktivitas antioksidan juga meningkat seiring dengan semakin lamanya waktu perkecambahan (Lin *et al.*, 2015). Hal ini sesuai dengan penelitian lain yang menyebutkan bahwa perkecambahan dapat meningkatkan senyawa antioksidan dan kapasitas antioksidan dari beras berpigmen yang dapat bermanfaat sebagai makanan fungsional (Chung *et al.*, 2016).

Radikal ABTS mengukur kestabilan radikal bebas melalui donor proton. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan penghilangan warna ABTS yang semula berwarna biru-hijau akan semakin memudar warnanya apabila tereduksi oleh radikal bebas (Moon and Shibamoto, 2009). Radikal hidroksil menentukan kemampuan sampel untuk meredam radikal hidroksil yang paling reaktif diantara spesies oksigen reaktif, yang dihasilkan melalui reaksi feton. Radikal hidroksil merupakan spesi oksigen yang sangat reaktif (ROS), dapat menyebabkan kerusakan biomolekul seperti lipid, protein, dan asam nukleat serta menjadi faktor penyebab penyakit degeneratif (Reshmi and Nandini, 2018). Hal tersebut disebabkan karena ROS memiliki umur yang relatif singkat dan tidak dapat diangkut dalam jarak yang jauh dalam suatu organisme, sehingga mereka merusak struktur sel yang paling dekat dengan lokasi formasinya. Molekul yang dirusak akan hancur dan fungsinya berubah (Tremel and Smejkal, 2016). Antioksidan dapat berperan untuk mencegah pembentukan ROS. Antioksidan bersifat menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel (Rahman, 2007). Radikal bebas memiliki molekul yang tidak stabil. Oleh karena itu, antioksidan akan menangkap radikal bebas dan mengubahnya menjadi molekul stabil (Huy *et al.*, 2008).

#### 4.5. Angiotensin Converting Enzyme-I Inhibitor

Hasil Uji lanjut Jarak Berganda Duncan 5% pada aktivitas ACE inhibitor terhadap pengaruh perlakuan perbedaan varietas dan waktu perkecambahan.

Tabel 4.5 Pengaruh Perkecambahan Padi terhadap Aktivitas ACE Inhibitor

Varietas	Waktu Perkecambahan (Hari)	Nilai IC <sub>50</sub> ACE Inhibitor (µg/mL)
Merah Wangi	0	22,81 ± 0,96 <sup>aA</sup>
	2	21,87 ± 1,59 <sup>aB</sup>
	4	19,40 ± 0,85 <sup>aC</sup>
	6	17,16 ± 0,33 <sup>aD</sup>
Ketan Hitam	0	17,58 ± 1,70 <sup>cA</sup>
	2	15,19 ± 1,48 <sup>cB</sup>
	4	12,08 ± 2,81 <sup>cC</sup>
	6	09,07 ± 0,19 <sup>cD</sup>
IR64	0	24,31 ± 0,35 <sup>bA</sup>
	2	17,24 ± 0,28 <sup>bB</sup>
	4	15,51 ± 0,24 <sup>bC</sup>
	6	12,93 ± 0,29 <sup>bD</sup>
Captopril		2,08±0,20

Keterangan : Huruf kecil menunjukkan notasi untuk perlakuan varietas padi, sedangkan huruf besar menunjukkan notasi untuk perlakuan waktu perkecambahan. Angka yang diikuti oleh huruf kecil dan huruf besar yang berbeda pada setiap varietas padi dan waktu perkecambahan, maka menunjukkan berbeda sangat nyata pada Uji Jarak Berganda Duncan dengan taraf 5%.

Berdasarkan hasil analisis ragam, diketahui bahwa aktivitas ACE inhibitor pada perlakuan varietas padi dan waktu perkecambahan menunjukkan berbeda nyata. Aktivitas ACE inhibitor tertinggi terdapat pada varietas Ketan Hitam yang ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub> terendah, sedangkan aktivitas terendah terdapat pada varietas padi Merah Wangi yang ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub> tertinggi. Aktivitas ACE inhibitor tertinggi pada perlakuan waktu perkecambahan yaitu pada hari ke-6, sedangkan terendah pada hari ke-0.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin lama waktu perkecambahan maka semakin rendah nilai IC<sub>50</sub> pada seluruh varietas padi. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penurunan nilai IC<sub>50</sub> ACE inhibitor, maka terjadi peningkatan pembentukan peptida bioaktif selama proses perkecambahan. Diantara peptida bioaktif, peptida ACE inhibitor telah ditemukan pada tanaman

padi dengan susunan asam amino dari dua oligopeptida murni, yaitu Gln-Phe-Tyr-Ala-Val dan Ala-Gly-Pro-Val-Leu-Leu (Gu *et al.*, 2012).

Mekanisme penghambatan ACE oleh peptida bioaktif adalah ACE terikat oleh residu asam amino dalam peptida melalui ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi hidrofilik, interaksi elektrostatis, dan pengikatan  $Zn^{2+}$  (Pan *et al.*, 2011). Aktivitas penghambatan ACE dapat dipengaruhi oleh karakteristik strukturalnya seperti panjang rantai, komposisi, dan urutan. Ukuran peptida juga akan mempengaruhi penghambatan aktivitas ACE. Peptida penghambat ACE harus memiliki stabilitas gastrointestinal dan mencapai sistem kardiovaskular untuk menunjukkan bioaktivitasnya. Peptida penghambat ACE umumnya terdiri dari rantai pendek dengan 2 – 12 asam amino (Dikmen *et al.*, 2017).



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

1. Waktu perkecambahan berpengaruh positif terhadap aktivitas protein antioksidan pada padi berpigmen. Aktivitas antioksidan tertinggi, terdapat pada perlakuan waktu perkecambahan ke-6 hari pada varietas padi ketan hitam.
2. Waktu perkecambahan berpengaruh positif terhadap aktivitas ACE inhibitor pada padi berpigmen. Aktivitas ACE-I Inhibitor tertinggi terdapat pada perlakuan waktu perkecambahan ke-6 hari pada varietas ketan hitam.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada sampel padi perkecambahan hari ke-6 mengenai isolasi protein, purifikasi protein, dan fraksinasi protein. Serta perlu dilakukan observasi lebih lanjut mengenai waktu perkecambahan untuk mengetahui batasan peningkatan aktivitas antioksidan dan *angiotensin converting enzyme* inhibitor.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Arifin, A. S., N. D. Yuliana, dan M. Rafi. 2019. Aktivitas Antioksidan pada Beras Bergipmen dan Dampaknya terhadap Kesehatan. *PANGAN*, 28(1): 11-22.
- Arihara, K., Y. Nakashima, T. Mukai, S. Ishikawa, and M. Itoh. 2001. Peptide Inhibitor for Angiotensin-I Converting Enzyme from Enzymatic Hydrolyses of Porcine Skeletal Muscle Proteins. *Meat Science*, 57(3): 319-324.
- Asropah, S., Nurrahman, dan W. Hersoelistyorini. 2019. Pengaruh Lama Perkecambahan terhadap Rendemen, Kadar Antosianin, Vitamin E dan Aktivitas Antioksidan Kecambah Kedelai Hitam. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 9(1): 39-52.
- Aziz, A., M. Izzati, dan S. Haryanti. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Nilai Gizi dari Beberapa Jenis Beras dan Millet Sebagai Bahan Pangan Fungsional Indonesia. *Jurnal Biologi*, 4(1): 45-61.
- Bau, H. M., C. Villaume, and L. Mejean. 2000. Effects of Soybean (*Glycine max*) Germination on Biologically Active Components, Nutritional Values of Seeds, and Biological Characteristics in Rats. *Nahrung*, 44(1): 2-6.
- Bhat, F. M. and C. S. Riar. 2017. Characterizing the Traditional Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars on the Basis of Seed Morphology and Protein Characteristics. *Indian Journal of Plant Sciences*, 6(1): 39-47.
- Chung, S. I., L. M. P. Lo, and M. Y. Kang. 2016. Effect of Germination on the Antioxidant Capacity of Pigmented Rice (*Oryza sativa* L. cv. Superjami and Superhongmi). *Food Science and Technology Research*, 22(3): 387-394.
- Dharma I. P. E. S., S. Samudin, dan Adrianton. 2015. Perkecambahan Benih Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) dengan Metode Skarifikasi dan Perendaman ZPT Alami. *E-J. Agrotekbis*, 3(2): 158-167.
- Diatmika, I. K. D., G. A. Artini, dan D. K. Ernawati. 2018. Profil Efek Samping Kaptopril pada Pasien Hipertensi di Puskesmas Denpasar Timur I Periode Oktober 2017. *E-Jurnal Medika Udayana*, 7(5): 221-225.
- Dikmen, C. D., A. Yucetepe, F. K. Guler, H. Daskaya, and B. Ozcelik. 2017. Angiotensin-I-Converting Enzyme (ACE)-Inhibitory Peptides from Plants. *Nutrients*, 9(316): 1-19.
- Dwiatmini, K. dan H. Afza. 2018. Karakterisasi Kadar Antosianin Varietas Lokal Padi Warna sebagai SDG Pangan Fungsional. *Buletin Plasma Nutfah*, 24(2): 125-134.

- Gardner and P. Franklin. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Jakarta: UI Press.
- Goufo, P. and H. Trindade. 2014. Rice Antioxidants: Phenolic Acids, Flavonoids, Anthocyanins, Proanthocyanidins, Tocopherols, Tocotrienols, C-Oryzanol, and Phytic acid. *Food Science & Nutrition*, 2(2): 75-104.
- Gu, K. M., J. H. Kim, B. H. Ahn, and J. S. Lee. 2012. Characterization of New Antihypertensive Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Peptides from Korean Traditional Rice Wine. *J. Microbiol. Biotechnol*, 22(3): 339-342.
- Hernawan, H. dan V. Meylani. 2016. Analisis Karakteristik Fisikokimia Beras Putih, Beras Merah, dan Beras Hitam (*Oryza sativa* L., *Oryza nivara* dan *Oryza sativa* L. *indica*). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 15(1): 79-91.
- Huy, L. A. P., H. He, C. P. Huy. 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2): 89-96.
- Jasmi. 2016. Pengaruh Konsentrasi NaCl dan Varietas Terhadap Viabilitas, Vigor dan Pertumbuhan Vegetatif Benih Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.). *Jurnal Agrotek Lestari*, 2(1): 11-22.
- Kasmiyati, S., Santosa, I. D. Priyambada, K. Dewi, dan R. Sandradewi. 2015. Perkecambah Biji dan Pertumbuhan Kecambah Varietas Sorgum (*Sorghum bicolor* L.) pada Cekaman Krom Heksavalen. *BIOMA*, 17(1): 41-54.
- Kearney, P.M., M. Whelton, K. Reynold, P. Muntner, P. K. Whelton, and J. He. 2005. Worldwide Prevalence of Hypertension: A Systematic Review. *Journal of Hypertensions*, 22(1): 11-19.
- Kumar, G. P., K. Navyaa, E. M. Ramya, M. Venkataramana, T. Anand, and K. R. Anilakumar. 2013. DNA Damage Protecting and Free Radical Scavenging Properties of Terminalia Arjuna Bark in PC-12 Cells and Plasmid DNA. *Free Radicals and Antioxidants*, 3(2013): 35-39.
- Lin, Y. T., C. C. Pao, S. T. Wu, and C. Y. Chang. 2015. Effect of Different Germination Conditions on Antioxidative Properties and Bioactive Compounds of Germinated Brown Rice. *BioMed Research International*, 2015(1): 1-10.
- Mancia, G., R. Fagard, K. Narkiewicz, J. Redon, A. Zanchetti, M. Bo, T. Christiaens, R. Cifkova, G. D. Backer, A. Dominiczak, M. Galderisi, D. E. Grobbee, T. Jaarsma, P. Kirchhof, S. E. Kjeldsen, S. Laurent, A. J. Manolis, P. M. Nilsson, L. M. Ruilope, R. E. Schmieder, P. A. Sirnes, P. Sleight, M.

- Viigimaa, B. Waeber, F. Zannad. 2013. The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 34(1): 2159–2219.
- Matra, N. F., E. Puspitasari, T. A. Siswoyo. 2018. Hidrolisis Protein Isolat Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) menggunakan Alkalase Terimobilisasi dan Aktivitasnya sebagai Antihipertensi. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 6(1): 18-24.
- Mayer, A. M. and P. Mayber. 1963. *The Germination of Seeds*. New York: Macmillan.
- Moon, J. K. and T. Shibamoto. 2009. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 57(5): 1655-1666.
- Murray, B. A. and R. J. Fitzgerald. 2007. Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitory Peptides Derived from Food Proteins: Biochemistry, Bioactivity and Production. *Curr Pharm Design Journal*, 13(1): 773-791.
- Noviyanti, I., A. Supriyadi, L. S. Arum, R. R. Akbar, and T. A. Siswoyo. 2020. Effect of Germination on Free Radical Scavenging Activities and Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory of Melinjo (*Gnetum gnemon* L) Seed Proteins. *J Microbiol Biotech Food Sci*, 9(4): 809-812.
- Nugraha, M. I., Tamrin, dan N. Asyik. 2018. Karakterisasi Sifat Fisik, Kimia dan Aktifitas Antioksidan pada Beras Merah (*Oryza nivara*) Varietas (Bulo Bulo) Asal Kabupaten Kolaka dan Kabupaten Konawe Selatan. *J. Sains dan Teknologi Pangan (JSTP)*, 3(3): 1283-1296.
- Onwuka, C. F., I. C. Catherine, I. C. Jude, Ayalogu, O. Edward. 2009. Investigation on the Effect of Germination on the Proximate Composition of African Yam Bean (*Sphenostylis stenocarpa* Hochst ex A Rich) and Fluted Pumpkin (*Telferia occidentalis*). *JASEM*, 13(2): 59-61.
- Pan, D., H. Guo, B. Zhao, and J. Cao. 2011. The Molecular Mechanisms of Interactions Between Bioactive Peptides and Angiotensin-Converting Enzyme. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 21(1): 3898–3904.
- Piotrowicz, I. B. B., M. G. Rimón, S. M. Fernandez, A. Aleixandre, M. S. Mellado, and M. M. Castro. 2020. Antioxidant, Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitory Properties and Blood Pressure Lowering Effect of Rice Bran Protein Hydrolysates. *Foods*, 9(812): 1-14.
- Prabhandaru, I. dan T. B. Saputro. 2017. Respon Perkecambahan Benih Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas Lokal SiGadis Hasil Iradiasi Sinar Gamma.



*Jurnal Sains dan Seni Its*, 6(2): 48-52.

- Prasad, B. J., P. S. Sharavanan, and R. Sivaraj. 2019. Health Benefits of Black Rice – a Review. *Journal Pre-proof*, 1(1): 1-18.
- Prastika, H. H., K. Ratnayani, N. M. Puspawati, dan A. A. I. A. M. Laksmiwati. 2019. Penggunaan Enzim Pepsin untuk Produksi Hidrolisat Protein Kacang Gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) yang Aktif Antioksidan. *Cakra Kimia*, 7(2): 180-188.
- Purwani, R., dan N. Widyastuti. 2015. Hubungan Asupan Protein dengan Tekanan Darah pada Remaja. *Journal of Nutrition College*, 4(2): 534-540.
- Purwanto, A., A. N. Fajriyati, dan D. Wahyuningtyas. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan dalam Ekstrak Minyak Bekatul Padi (*Rice Bran Oil*). *Ekuilibrium*, 13(1): 29-34.
- Rafi, M., T. Y. R. Pertiwi, dan Syaefudin. 2019. Penentuan Kadar Fenolik Total dan Aktivitas Antioksidan Enam Tanaman Hias. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 22(3): 79-84.
- Rahman, Khalid. 2008. Studies on Free Radicals, Antioxidants, and Co-Factors. *Clinical Interventions in Aging*, 2(2): 219-236.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. R. Evans. 1999. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9/10): 1231-1237.
- Reshmi. R., P. V. Nandini. 2018. Antioxidant Activity of Indian Medicinal Rice (*Oryza sativa* L.) cv. Njavara. *International Journal of Advanced Engineering, Management and Science*, 4(3): 141-148.
- Rinto, A. Baehaki, dan H. Subarka. 2019. Study of Antioxidant Activity, Anticolestrol, and Antihypertence of Extract Rusip. *Jurnal Fishtech*, 8(1): 18-16.
- Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2018. Diakses: 22 Agustus 2020, dari [http://dinkes.babelprov.go.id/sites/default/files/dokumen/bank\\_data/20181228%20-%20Laporan%20Riskesdas%202018%20Nasional-1.pdf](http://dinkes.babelprov.go.id/sites/default/files/dokumen/bank_data/20181228%20-%20Laporan%20Riskesdas%202018%20Nasional-1.pdf)
- Riyadi, P. H. 2018. Peptida Bioaktif untuk Penurunan Tekanan Darah dari Hidrolisa Limbah Perikanan: Kajian Pustaka. *J. Peng. & Biotek*, 7(1): 1-6.



- Rutherford, S. M. 2010. Methodology for Determining Degree of Hydrolysis of Proteins in Hydrolysates: a Review. *Journal of AOAC International*, 93(5): 1515-1522.
- Safiera, A. A., E. Puspitasari, dan T. A. Siswoyo. 2017. Aktivitas Antioksidan dan Kemampuan Proteksi terhadap Kerusakan DNA dari Protein Isolat Biji Melinjo (*Gnetum Gnemon* L.) Terhidrolisis menggunakan Alkalase Terimobilisasi. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 5(2): 382-388.
- Sugiarto, R., B. A. Kristanto, dan D. R. Lukiwati. 2018. Respon Pertumbuhan dan Produksi Padi Beras Merah (*Oryza nivara*) terhadap Cekaman Kekeringan pada Fase Pertumbuhan Berbeda dan Pemupukan Nanosilika. *J. Agro Complex*, 2(2): 169-179.
- Suhartatik, N., M. Karyantina, dan A. Mustofa. 2013. Aktivitas Antioksidan dan Kadar Antosianin Beras Berwarna yang Beredar di DIY dan Sekitarnya. *Jurnal UNISRI*, 25(2): 1-10.
- Suita, E. dan D. Syamsuwida. 2015. Peningkatan Daya dan Kecepatan Berkecambah Benih Malapari (*Pongamia pinnata*). *Jurnal Perbenihan Tanaman Hutan*, 3(1): 49-59.
- Suprayitno, E. dan T. D. Sulistiyati. 2017. *Metabolisme Protein*. Malang: UB Press.
- Swasti, E., K. Sayuti, A. Kusumawati, dan N. E. Putri. 2017. Kandungan Protein dan Antosianin Generasi F4 Turunan Persilangan Padi Merah Lokal Sumatera Barat dengan Varietas Unggul Fatmawati. *J. Floratek*, 12(1): 49-56.
- Tan, P., N. Mayulu, dan S. Kawengian. 2016. Gambaran Aktivitas dan Stabilitas Antioksidan Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Kultivar Enrekang Sulawesi Selatan. *Jurnal e-Biomedik*, 4(1): 184-187.
- Treml, J. and K. Smejkal. 2016. Flavonoids as Potent Scavengers of Hydroxyl Radicals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1): 720-738.
- Werdhasari, A. 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 3(2): 59-68.
- Widyawati, P. S., A. M. Suteja, T. I. P. Suseno, P. Monika, W. Saputrajaya, dan C. Liguori. 2014. Pengaruh Perbedaan Warna Pigmen Beras Organik terhadap Aktivitas Antioksidan. *Agritech*, 34(4): 399-406.
- Wikandari, P. R., Suparmo, Y. Marsono, dan E. S. Rahayu. 2012. Potensi Bakteri

Asam Laktat yang Diisolasi dari Bekasam sebagai Penghasil *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* pada Fermentasi “Bekasam-Like” Product. *Agritech*. 32(3): 258-264.

Winarsih, Hery. 2010. *Protein Kedelai & Kecambah*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil ANOVA dan DMRT Variabel Panjang Plumula

Varietas	Waktu Perkecambahan	Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Merah Wangi	0	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>
	4	1,11	1,33	1,00	3,44	<b>1,15</b>
	6	2,33	2,09	1,84	6,26	<b>2,09</b>
Ketan Hitam	0	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>
	4	0,87	0,91	1,48	3,26	<b>1,09</b>
	6	3,68	3,46	3,53	10,67	<b>3,56</b>
IR64	0	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>
	2	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>
	4	1,37	1,08	1,23	3,68	<b>1,23</b>
	6	3,68	3,47	3,56	10,71	<b>3,57</b>
<b>Total</b>		<b>13,04</b>	<b>12,34</b>	<b>12,64</b>	<b>38,02</b>	<b>1,06</b>
<b>Rata-Rata</b>		<b>1,09</b>	<b>1,03</b>	<b>1,05</b>		

TABEL Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%	NOTASI
Perlakuan	11	61,09	5,55	267,17	2,22	3,09	**
Varietas	2	1,11	0,56	26,79	3,40	5,61	**
Waktu	3	56,70	18,90	909,20	3,01	4,72	**
Varietas x Waktu	6	3,28	0,55	26,27	2,51	3,67	**
Galat	24	0,50	0,02				
Total	35	61,59					

Keterangan:

- F5% > F 1% F Hitung : tn
- F5% < F Hitung < F 1% : \*
- F hitung lebih besar dari 5% dan 1% : \*\*

Tabel *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%

## 1. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P0 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V2P0	V3P0	Notasi
		0,00	0,00	0,00	
V1P0	0,00	0,00			a
V2P0	0,00	0,00	0,00		a
V3P0	0,00	0,00	0,00	0,00	a
Nilai Uji D		0,15	0,15	0,14	
Jarak		4	3	2	

Keterangan:

V1 (Varietas padi Merah Wangi), V2 (Varietas padi Ketan Hitam), V3 (Varietas padi IR64), P0 (Waktu Perkecambahan 0 hari), P1 (Waktu Perkecambahan 2 hari), P2 (Waktu Perkecambahan 4 hari), dan P3 (Waktu Perkecambahan 6 hari).

## 2. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P1 yang sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V2P0	V3P0	Notasi
		0,00	0,00	0,00	
V1P1	0,00	0,00			a
V2P1	0,00	0,00	0,00		a
V3P1	0,00	0,00	0,00	0,00	a
Nilai Uji D		0,15	0,15	0,14	
Jarak		4	3	2	

## 3. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V2P0	V3P0	Notasi
		0,00	0,00	0,00	
V3P2	1,23	0,00			a
V1P2	1,15	0,08	0,00		a
V2P2	1,09	0,14	0,06	0,00	a
Nilai Uji D		0,15	0,15	0,14	
Jarak		4	3	2	

## 4. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V2P0	V3P0	Notasi
		0,00	0,00	0,00	
V3P3	3,57	0,00			a
V2P3	3,56	0,01	0,00		a
V1P3	2,09	1,48	1,47	0,00	b
Nilai Uji D		0,15	0,15	0,14	
Jarak		4	3	2	

## 5. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V1 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P3	V1P2	V1P1	V1P0	Notasi
		2,09	1,15	0,00	0,00	
V1P3	2,09	0,00				A
V1P2	1,15	0,94	0,00			B
V1P1	0,00	2,09	1,15	0,00		C
V1P0	0,00	2,09	1,15	0,00	0,00	C
	Nilai Uji D	0,15	0,15	0,14		
	Jarak	4	3	2		

## 6. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V2P3	V2P2	V2P1	V2P0	Notasi
		3,56	1,09	0,00	0,00	
V2P3	3,56	0,00				A
V2P2	1,09	2,47	0,00			B
V2P1	0,00	3,56	1,09	0,00		C
V2P0	0,00	3,56	1,09	0,00	0,00	C
	Nilai Uji D	0,15	0,15	0,14		
	Jarak	4	3	2		

## 7. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P3	V3P2	V3P1	V3P0	Notasi
		3,57	1,23	0,00	0,00	
V3P3	3,57	0,00				A
V3P2	1,23	2,34	0,00			B
V3P1	0,00	3,57	1,23	0,00		C
V3P0	0,00	3,57	1,23	0,00	0,00	C
	Nilai Uji D	0,15	0,15	0,14		
	Jarak	4	3	2		

## Lampiran 2. Hasil ANOVA dan DMRT Variabel Panjang Radikula

Varietas	Waktu Perkecambahan	Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Merah Wangi	0	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>
	2	0,30	0,50	0,00	0,80	<b>0,27</b>
	4	3,88	4,54	3,89	12,31	<b>4,10</b>
	6	6,35	5,69	5,97	18,01	<b>6,00</b>
Ketan Hitam	0	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>
	2	0,30	0,43	0,35	1,08	<b>0,36</b>
	4	2,87	2,88	3,53	9,28	<b>3,09</b>
	6	6,86	7,09	6,13	20,08	<b>6,69</b>



Varietas	Waktu Perkecambahan	Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
IR64	0	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,00</b>
	2	0,35	0,46	0,67	1,48	<b>0,49</b>
	4	5,77	5,50	5,80	17,07	<b>5,69</b>
	6	7,37	8,09	8,44	23,90	<b>7,97</b>
<b>Total</b>		<b>34,05</b>	<b>35,18</b>	<b>34,78</b>	<b>104,01</b>	<b>2,89</b>
<b>Rata-Rata</b>		<b>2,84</b>	<b>2,93</b>	<b>2,90</b>		

TABEL Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F-Hitung	F Tabel 5%	F Tabel 1%	NOTASI
Perlakuan	11	310,10	28,19	317,34	2,22	3,09	**
Varietas	2	7,59	3,79	42,69	3,40	5,61	**
Waktu	3	293,79	97,93	1102,37	3,01	4,72	**
Varietas X Waktu	6	8,72	1,45	16,37	2,51	3,67	**
Galat	24	2,13	0,09				
Total	35	312,23					

Keterangan:

F5% > F 1% F Hitung : tn  
 F5% < F Hitung < F 1% : \*  
 F hitung lebih besar dari 5% dan 1% : \*\*

Tabel Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5%

1. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P0 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V2P0	V3P0	Notasi
V1P0	0,00	0,00			a
V2P0	0,00	0,00	0,00		a
V3P0	0,00	0,00	0,00	0,00	a
Nilai Uji D		0,31	0,31	0,29	
Jarak		4	3	2	

Keterangan:

V1 (Varietas padi Merah Wangi), V2 (Varietas padi Ketan Hitam), V3 (Varietas padi IR64), P0 (Waktu Perkecambahan 0 hari), P1 (Waktu Perkecambahan 2 hari), P2 (Waktu Perkecambahan 4 hari), dan P3 (Waktu Perkecambahan 6 hari).

## 2. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P1 yang sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P1	V2P1	V3P1	Notasi
		0,49	0,36	0,27	
V3P1	0,49	0,00			a
V2P1	0,36	0,13	0,00		a
V1P1	0,27	0,23	0,09	0,00	a
	Nilai Uji D	0,31	0,31	0,29	
	Jarak	4	3	2	

## 3. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P2	V1P2	V2P2	Notasi
		5,69	4,10	3,09	
V3P2	5,69	0,00			a
V1P2	4,10	1,59	0,00		b
V2P2	3,09	2,60	1,01	0,00	c
	Nilai Uji D	0,31	0,31	0,29	
	Jarak	4	3	2	

## 4. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P3	V2P3	V1P3	Notasi
		7,97	6,69	6,00	
V3P3	7,97	0,00			a
V2P3	6,69	1,27	0,00		b
V1P3	6,00	1,96	0,69	0,00	c
	Nilai Uji D	0,31	0,31	0,29	
	Jarak	4	3	2	

## 5. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V1 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P3	V1P2	V1P1	V1P0	Notasi
		6,00	4,10	0,27	0,00	
V1P3	6,00	0,00				A
V1P2	4,10	1,90	0,00			B
V1P1	0,27	5,74	3,84	0,00		C
V1P0	0,00	6,00	4,10	0,27	0,00	C
	Nilai Uji D	0,31	0,31	0,29		
	Jarak	4	3	2		

## 6. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V2P3	V2P2	V2P1	V2P0	Notasi
		6,69	3,09	0,36	0,00	
V2P3	6,69	0,00				A
V2P2	3,09	3,60	0,00			B
V2P1	0,36	6,33	2,73	0,00		C
V2P0	0,00	6,69	3,09	0,36	0,00	D
	Nilai Uji D	0,31	0,31	0,29		
	Jarak	4	3	2		

## 7. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P3	V3P2	V3P1	V3P0	Notasi
		7,97	5,69	0,49	0,00	
V3P3	7,97	0,00				A
V3P2	5,69	2,28	0,00			B
V3P1	0,49	7,47	5,20	0,00		C
V3P0	0,00	7,97	5,69	0,49	0,00	D
	Nilai Uji D	0,31	0,31	0,29		
	Jarak	4	3	2		

## Lampiran 3. Hasil ANOVA dan DMRT Variabel Daya Berkecambah

Varietas	Waktu Perkecambahan	Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Merah Wangi	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	10,00	10,00	0,00	20,00	6,67
	4	80,00	80,00	80,00	240,00	80,00
	6	100,00	100,00	90,00	290,00	96,67
Ketan Hitam	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	40,00	40,00	20,00	100,00	33,33
	4	60,00	100,00	90,00	250,00	83,33
	6	90,00	80,00	90,00	260,00	86,67
IR64	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	40,00	50,00	30,00	120,00	40,00
	4	90,00	90,00	90,00	270,00	90,00
	6	100,00	90,00	100,00	290,00	96,67
<b>TOTAL</b>		<b>610</b>	<b>640</b>	<b>590</b>	<b>1840</b>	<b>51,11</b>
<b>Rata-RATA</b>		<b>50,83</b>	<b>53,33</b>	<b>49,17</b>		

TABEL Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F-Hitung	F Tabel 5%	F Tabel 1%	NOTASI
Perlakuan	11	57155,56	5195,96	77,94	2,22	3,09	**
Varietas	2	705,56	352,78	5,29	3,40	5,61	**
Waktu	3	54933,33	18311,11	274,67	3,01	4,72	**
Varietas X Waktu	6	1516,67	252,78	3,79	2,51	3,67	**
Galat	24	1600,00	66,67				
Total	35	58755,56					

Keterangan:

F5% &gt; F 1% F Hitung : tn

F5% &lt; F Hitung &lt; F 1% : \*

F hitung lebih besar dari 5% dan 1% : \*\*

Tabel Duncan Multiple Range Test (DMRT) 5%

1. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P0 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V2P0	V3P0	Notasi
		0,00	0,00	0,00	
V1P0	0,00	0,00			a
V2P0	0,00	0,00	0,00		a
V3P0	0,00	0,00	0,00	0,00	a
	Nilai Uji D	8,57	8,36	7,95	
	Jarak	4	3	2	

Keterangan:

V1 (Varietas padi Merah Wangi), V2 (Varietas padi Ketan Hitam), V3 (Varietas padi IR64), P0 (Waktu Perkecambahan 0 hari), P1 (Waktu Perkecambahan 2 hari), P2 (Waktu Perkecambahan 4 hari), dan P3 (Waktu Perkecambahan 6 hari).

2. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P1 yang sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P1	V2P1	V1P1	Notasi
		40,00	33,33	6,67	
V3P1	40,00	0,00			a
V2P1	33,33	6,67	0,00		b
V1P1	6,67	33,33	26,67	0,00	c
	Nilai Uji D	8,57	8,36	7,95	
	Jarak	4	3	2	

## 3. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P2	V2P2	V1P2	Notasi
		90,00	83,33	80,00	
V3P2	90,00	0,00			a
V2P2	83,33	6,67	0,00		ab
V1P2	80,00	10,00	3,33	0,00	b
	Nilai Uji D	8,57	8,36	7,95	
	Jarak	4	3	2	

## 4. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P3	V3P3	V2P3	Notasi
		96,67	96,67	86,67	
V1P3	96,67	0,00			a
V3P3	96,67	0,00	0,00		a
V2P3	86,67	10,00	10,00	0,00	b
	Nilai Uji D	8,57	8,36	7,95	
	Jarak	4	3	2	

## 5. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V1 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P3	V1P2	V1P1	V1P0	Notasi
		96,67	80,00	6,67	0,00	
V1P3	96,67	0,00				A
V1P2	80,00	16,67	0,00			B
V1P1	6,67	90,00	73,33	0,00		C
V1P0	0,00	96,67	80,00	6,67	0,00	C
	Nilai Uji D	8,57	8,36	7,95		
	Jarak	4	3	2		

## 6. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V2P3	V2P2	V2P1	V2P0	Notasi
		86,67	83,33	33,33	0,00	
V2P3	86,67	0,00				A
V2P2	83,33	3,33	0,00			A
V2P1	33,33	53,33	50,00	0,00		B
V2P0	0,00	86,67	83,33	33,33	0,00	C
	Nilai Uji D	8,57	8,36	7,95		
	Jarak	4	3	2		



## 7. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P3	V3P2	V3P1	V3P0	Notasi
		96,67	90,00	40,00	0,00	
V3P3	96,67	0,00				A
V3P2	90,00	6,67	0,00			A
V3P1	40,00	56,67	50,00	0,00		B
V3P0	0,00	96,67	90,00	40,00	0,00	C
	Nilai Uji D	8,57	8,36	7,95		
	Jarak	4	3	2		

## Lampiran 4. Hasil ANOVA dan DMRT Variabel Derajat Hidrolisis

Varietas	Waktu Perkecambahan	Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Merah Wangi	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	6,26	8,17	7,85	22,28	7,43
	4	35,84	40,76	41,55	118,16	39,39
	6	45,44	49,17	49,33	143,93	47,98
Ketan Hitam	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	13,14	14,26	16,34	43,74	14,58
	4	45,00	46,86	49,01	140,87	46,96
	6	46,71	47,23	48,71	142,65	47,55
IR64	0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	2	12,63	13,98	12,63	39,23	13,08
	4	16,04	17,79	14,77	48,60	16,20
	6	30,81	30,65	30,49	91,95	30,65
<b>Total</b>		<b>251,88</b>	<b>268,86</b>	<b>270,68</b>	<b>791,41</b>	<b>21,98</b>
<b>Rata-Rata</b>		<b>20,99</b>	<b>22,40</b>	<b>22,56</b>		

## TABEL Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F-Hitung	F Tabel 5%	F Tabel 1%	NOTASI
Perlakuan	11	12480,76	1134,61	521,51	2,22	3,09	**
Varietas	2	959,12	479,56	220,42	3,40	5,61	**
Waktu	3	10268,59	3422,86	1573,27	3,01	4,72	**
Varietas x Waktu	6	1253,05	208,84	95,99	2,51	3,67	**
Galat	24	52,22	2,18				
Total	35	12532,98					

## Keterangan:

F5% &gt; F 1% F Hitung : tn

F5% &lt; F Hitung &lt; F 1% : \*

F hitung lebih besar dari 5% dan 1% : \*\*

Tabel *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%

1. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P0 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V2P0	V3P0	Notasi
		0,00	0,00	0,00	
V1P0	0,00	0,00			a
V2P0	0,00	0,00	0,00		a
V3P0	0,00	0,00	0,00	0,00	a
	Nilai Uji D	1,55	1,51	1,44	
	Jarak	4	3	2	

Keterangan:

V1 (Varietas padi Merah Wangi), V2 (Varietas padi Ketan Hitam), V3 (Varietas padi IR64), P0 (Waktu Perkecambahan 0 hari), P1 (Waktu Perkecambahan 2 hari), P2 (Waktu Perkecambahan 4 hari), dan P3 (Waktu Perkecambahan 6 hari).

2. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P1 yang sama

Perlakuan	Rata-rata	V2P1	V3P1	V1P1	Notasi
		14,58	13,08	7,43	
V2P1	14,58	0,00			a
V3P1	13,08	1,50	0,00		a
V1P1	7,43	7,15	5,65	0,00	b
	Nilai Uji D	1,55	1,51	1,44	
	Jarak	4	3	2	

3. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V2P2	V1P2	V3P2	Notasi
		46,96	39,39	16,20	
V2P2	46,96	0,00			a
V1P2	39,39	7,57	0,00		b
V3P2	16,20	30,76	23,19	0,00	c
	Nilai Uji D	1,55	1,51	1,44	
	Jarak	4	3	2	

4. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P3	V2P3	V3P3	Notasi
		47,98	47,55	30,65	
V1P3	47,98	0,00			a
V2P3	47,55	0,43	0,00		a
V3P3	30,65	17,33	16,90	0,00	b
	Nilai Uji D	1,55	1,51	1,44	

Jarak 4 3 2

#### 5. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V1 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P3	V1P2	V1P1	V1P0	Notasi
		47,98	39,39	7,43	0,00	
V1P3	47,98	0,00				A
V1P2	39,39	8,59	0,00			B
V1P1	7,43	40,55	31,96	0,00		C
V1P0	0,00	47,98	39,39	7,43	0,00	D
	Nilai Uji D	1,55	1,51	1,44		
	Jarak	4	3	2		

#### 6. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V2P3	V2P2	V2P1	V2P0	Notasi
		47,55	46,96	14,58	0,00	
V2P3	47,55	0,00				A
V2P2	46,96	0,59	0,00			A
V2P1	14,58	32,97	32,38	0,00		B
V2P0	0,00	47,55	46,96	14,58	0,00	C
	Nilai Uji D	1,55	1,51	1,44		
	Jarak	4	3	2		

#### 7. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P3	V3P2	V3P1	V3P0	Notasi
		30,65	16,20	13,08	0,00	
V3P3	30,65	0,00				A
V3P2	16,20	14,45	0,00			B
V3P1	13,08	17,58	3,12	0,00		C
V3P0	0,00	30,65	16,20	13,08	0,00	D
	Nilai Uji D	1,55	1,51	1,44		
	Jarak	4	3	2		

#### Lampiran 5. Hasil ANOVA dan DMRT Variabel ABTS

Varietas	Perlakuan	Ulangan		Total	Rata-Rata
		1	2		
Merah Wangi	0	222,31	212,27	434,58	<b>217,29</b>
	2	200,15	186,73	386,88	<b>193,44</b>
	4	82,25	77,24	159,49	<b>79,75</b>
	6	71,17	65,31	136,48	<b>68,24</b>
Ketan Hitam	0	52,57	49,38	101,95	<b>50,98</b>
	2	48,88	45,83	94,71	<b>47,36</b>

Varietas	Perlakuan	Ulangan		Total	Rata-Rata
		1	2		
	4	31,03	28,87	59,90	<b>29,95</b>
	6	29,20	27,15	56,35	<b>28,18</b>
IR64	0	216,10	208,62	424,72	<b>212,36</b>
	2	188,87	179,66	368,53	<b>184,27</b>
	4	117,49	114,86	232,35	<b>116,18</b>
	6	54,94	52,59	107,53	<b>53,77</b>
<b>Total</b>		<b>1314,96</b>	<b>1248,51</b>	<b>2563,47</b>	<b>106,81</b>
<b>Rata-Rata</b>		<b>109,58</b>	<b>104,04</b>		

TABEL *Analysis of Variance* (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F-Hitung	F Tabel 5%	F Tabel 1%	Notasi
Perlakuan	11	121431,34	11039,21	507,65	2,72	4,22	**
Varietas	2	55010,82	27505,41	1264,86	3,89	6,93	**
Waktu	3	49691,02	16563,67	761,70	3,49	5,95	**
Interaksi	6	16729,49	2788,25	128,22	3,00	4,82	**
Galat	12	260,95	21,75				
Total	23	121692,29					

Keterangan:

F5% > F 1% F Hitung : tn  
 F5% < F Hitung < F 1% : \*  
 F hitung lebih besar dari 5% dan 1% : \*\*

Tabel *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%

## 1. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P0 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V3P0	V2P0	Notasi
		217,29	212,36	50,98	
V1P0	217,29	0,00			a
V3P0	212,36	4,93	0,00		a
V2P0	50,98	166,32	161,39	0,00	b
	Nilai Uji D	7,34	7,16	6,81	
	Jarak	4	3	2	

Keterangan:

V1 (Varietas padi Merah Wangi), V2 (Varietas padi Ketan Hitam), V3 (Varietas padi IR64), P0 (Waktu Perkecambahan 0 hari), P1 (Waktu Perkecambahan 2 hari), P2 (Waktu Perkecambahan 4 hari), dan P3 (Waktu Perkecambahan 6 hari).

## 2. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P1 yang sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P1	V3P1	V2P1	Notasi
		193,44	184,27	47,36	
V1P1	193,44	0,00			a
V3P1	184,27	9,18	0,00		b
V2P1	47,36	146,09	136,91	0,00	c
	Nilai Uji D	7,34	7,16	6,81	
	Jarak	4	3	2	

## 3. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P2	V1P2	V2P2	Notasi
		116,18	79,75	29,95	
V3P2	116,18	0,00			a
V1P2	79,75	36,43	0,00		b
V2P2	29,95	86,23	49,80	0,00	c
	Nilai Uji D	7,34	7,16	6,81	
	Jarak	4	3	2	

## 4. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P3	V3P3	V2P3	Notasi
		68,24	53,77	28,18	
V1P3	68,24	0,00			a
V3P3	53,77	14,48	0,00		b
V2P3	28,18	40,07	25,59	0,00	c
	Nilai Uji D	7,34	7,16	6,81	
	Jarak	4	3	2	

## 5. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V1 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V1P1	V1P2	V1P3	Notasi
		217,29	193,44	79,75	68,24	
V1P0	217,29	0,00				A
V1P1	193,44	23,85	0,00			B
V1P2	79,75	137,55	113,70	0,00		C
V1P3	68,24	149,05	125,20	11,51	0,00	D
	Nilai Uji D	7,34	7,16	6,81		
	Jarak	4	3	2		



## 6. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V2P0	V2P1	V2P2	V2P3	Notasi
		50,98	47,36	29,95	28,18	
V2P0	50,98	0,00				A
V2P1	47,36	3,62	0,00			A
V2P2	29,95	21,03	17,41	0,00		B
V2P3	28,18	22,80	19,18	1,78	0,00	B
	Nilai Uji D	7,34	7,16	6,81		
	Jarak	4	3	2		

## 7. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P0	V3P1	V3P2	V3P3	Notasi
		212,36	184,27	116,18	53,77	
V3P0	212,36	0,00				A
V3P1	184,27	28,10	0,00			B
V3P2	116,18	96,19	68,09	0,00		C
V3P3	53,77	158,60	130,50	62,41	0,00	D
	Nilai Uji D	7,34	7,16	6,81		
	Jarak	4	3	2		

## Lampiran 6. Hasil ANOVA dan DMRT Variabel Hidroksil

Varietas	Waktu Perkecambahan	Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Merah Wangi	0	86,49	86,62	90,87	263,98	<b>87,99</b>
	2	58,43	59,95	63,63	182,01	<b>60,67</b>
	4	43,70	45,57	49,25	138,52	<b>46,17</b>
	6	40,75	41,55	45,46	127,76	<b>42,59</b>
Ketan Hitam	0	36,17	36,91	36,10	109,18	<b>36,39</b>
	2	28,29	28,36	28,16	84,81	<b>28,27</b>
	4	26,17	26,01	25,85	78,03	<b>26,01</b>
	6	25,14	24,79	24,59	74,52	<b>24,84</b>
IR64	0	57,44	61,14	64,89	183,47	<b>61,16</b>
	2	39,58	41,07	43,27	123,92	<b>41,31</b>
	4	35,23	36,56	38,12	109,91	<b>36,64</b>
	6	31,43	32,96	33,97	98,36	<b>32,79</b>
<b>TOTAL</b>		<b>508,82</b>	<b>521,49</b>	<b>544,16</b>	<b>1574,47</b>	<b>43,74</b>
<b>RATA-RATA</b>		<b>42,40</b>	<b>43,46</b>	<b>45,35</b>		

TABEL *Analysis of Variance* (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F-Hitung	F Tabel 5%	F Tabel 1%	NOTASI
Perlakuan	11	11090,35	1008,21	246,66	2,22	3,09	**
Varietas	2	5583,76	2791,88	683,03	3,40	5,61	**
Waktu	3	4415,14	1471,71	360,06	3,01	4,72	**
Interaksi	6	1091,45	181,91	44,50	2,51	3,67	**
Galat	24	98,10	4,09				
Total	35	11188,45					

Keterangan:

F5% > F 1% F Hitung : tn  
 F5% < F Hitung < F 1% : \*  
 F hitung lebih besar dari 5% dan 1% : \*\*

Tabel *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%

## 1. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P0 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V3P0	V2P0	Notasi
		87,99	61,16	36,39	
V1P0	87,99	0,00			a
V3P0	61,16	26,84	0,00		b
V2P0	36,39	51,60	24,76	0,00	c
	Nilai Uji D	2,12	2,07	1,97	
	Jarak	4	3	2	

Keterangan:

V1 (Varietas padi Merah Wangi), V2 (Varietas padi Ketan Hitam), V3 (Varietas padi IR64), P0 (Waktu Perkecambahan 0 hari), P1 (Waktu Perkecambahan 2 hari), P2 (Waktu Perkecambahan 4 hari), dan P3 (Waktu Perkecambahan 6 hari).

## 2. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P1 yang sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P1	V3P1	V2P1	Notasi
		60,67	41,31	28,27	
V1P1	60,67	0,00			a
V3P1	41,31	19,36	0,00		b
V2P1	28,27	32,40	13,04	0,00	c
	Nilai Uji D	2,12	2,07	1,97	
	Jarak	4	3	2	

## 3. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P2	V3P2	V2P2	Notasi
		46,17	36,64	26,01	
V1P2	46,17	0,00			a
V3P2	36,64	9,54	0,00		b
V2P2	26,01	20,16	10,63	0,00	c
	Nilai Uji D	2,12	2,07	1,97	
	Jarak	4	3	2	

## 4. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P3	V3P3	V2P3	Notasi
		42,59	32,79	24,84	
V1P3	42,59	0,00			a
V3P3	32,79	9,80	0,00		b
V2P3	24,84	17,75	7,95	0,00	c
	Nilai Uji D	2,12	2,07	1,97	
	Jarak	4	3	2	

## 5. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V1 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V1P1	V1P2	V1P3	Notasi
		87,99	60,67	46,17	42,59	
V1P0	87,99	0,00				A
V1P1	60,67	27,32	0,00			B
V1P2	46,17	41,82	14,50	0,00		C
V1P3	42,59	45,41	18,08	3,59	0,00	D
	Nilai Uji D	2,12	2,07	1,97		
	Jarak	4	3	2		

## 6. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V2P3	V2P2	V2P1	V2P0	Notasi
		36,39	28,27	26,01	24,84	
V2P0	36,39	0,00				A
V2P1	28,27	8,12	0,00			B
V2P2	26,01	10,38	2,26	0,00		C
V2P3	24,84	11,55	3,43	1,17	0,00	C
	Nilai Uji D	2,12	2,07	1,97		
	Jarak	4	3	2		

## 7. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P0	V3P1	V3P2	V3P3	Notasi
		61,16	41,31	36,64	32,79	
V3P0	61,16	0,00				A
V3P1	41,31	19,85	0,00			B
V3P2	36,64	24,52	4,67	0,00		C
V3P3	32,79	28,37	8,52	3,85	0,00	D
	Nilai Uji D	2,12	2,07	1,97		
	Jarak	4	3	2		

## Lampiran 7. Hasil ANOVA dan DMRT Variabel ACE Inhibitor

Varietas	Waktu Perkecambahan	Ulangan			Total	Rata-Rata
		1	2	3		
Merah Wangi	0	23,88	22,51	22,04	68,43	22,81
	2	23,68	21,22	20,71	65,61	21,87
	4	20,34	19,15	18,70	58,19	19,40
	6	17,50	17,12	16,85	51,47	17,16
Ketan Hitam	0	19,27	17,61	15,87	52,75	17,58
	2	16,58	15,34	13,64	45,56	15,19
	4	14,18	13,17	8,89	36,24	12,08
	6	9,26	8,89	9,05	27,20	9,07
IR64	0	24,65	24,32	23,96	72,93	24,31
	2	17,53	17,21	16,98	51,72	17,24
	4	15,74	15,52	15,27	46,53	15,51
	6	12,76	12,76	13,27	38,79	12,93
<b>Total</b>		<b>215,37</b>	<b>204,82</b>	<b>195,23</b>	<b>615,42</b>	<b>17,10</b>
<b>Rata-Rata</b>		<b>17,95</b>	<b>17,07</b>	<b>16,27</b>		

TABEL Analysis of Variance (ANOVA)

SK	db	JK	KT	F-Hitung	F Tabel 5%	F Tabel 1%	NOTASI
Perlakuan	11	678,55	61,69	42,09	2,22	3,09	**
Varietas	2	282,74	141,37	96,45	3,40	5,61	**
Waktu	3	354,77	118,26	80,68	3,01	4,72	**
Interaksi	6	41,04	6,84	4,67	2,51	3,67	**
Galat	24	35,18	1,47				
Total	35	713,73					

Keterangan:

$F_{5\%} > F_{1\%}$  F Hitung : tn  
 $F_{5\%} < F_{Hitung} < F_{1\%}$  : \*  
 F hitung lebih besar dari 5% dan 1% : \*\*

Tabel *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) 5%

## 1. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P0 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P0	V1P0	V2P0	Notasi
		24,31	22,81	17,58	
V3P0	24,31	0,00			a
V1P0	22,81	1,50	0,00		b
V2P0	17,58	6,73	5,23	0,00	c
	Nilai Uji D	1,27	1,24	1,18	
	Jarak	4	3	2	

Keterangan:

V1 (Varietas padi Merah Wangi), V2 (Varietas padi Ketan Hitam), V3 (Varietas padi IR64), P0 (Waktu Perkecambahan 0 hari), P1 (Waktu Perkecambahan 2 hari), P2 (Waktu Perkecambahan 4 hari), dan P3 (Waktu Perkecambahan 6 hari).

## 2. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P1 yang sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P1	V3P1	V2P1	Notasi
		21,87	17,24	15,19	
V1P1	21,87	0,00			a
V3P1	17,24	4,63	0,00		b
V2P1	15,19	6,68	2,05	0,00	c
	Nilai Uji D	1,27	1,24	1,18	
	Jarak	4	3	2	

## 3. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P2	V3P2	V2P2	Notasi
		19,40	15,51	12,08	
V1P2	19,40	0,00			a
V3P2	15,51	3,89	0,00		b
V2P2	12,08	7,32	3,43	0,00	c
	Nilai Uji D	1,27	1,24	1,18	
	Jarak	4	3	2	

## 4. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Varietas (V) pada Taraf P3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P3	V3P3	V2P3	Notasi
		17,16	12,93	9,07	
V1P3	17,16	0,00			a
V3P3	12,93	4,23	0,00		b
V2P3	9,07	8,09	3,86	0,00	c
	Nilai Uji D	1,27	1,24	1,18	
	Jarak	4	3	2	



## 5. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V1 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V1P0	V1P1	V1P2	V1P3	Notasi
		22,81	21,87	19,40	17,16	
V1P0	22,81	0,00				A
V1P1	21,87	0,94	0,00			A
V1P2	19,40	3,41	2,47	0,00		B
V1P3	17,16	5,65	4,71	2,24	0,00	C
	Nilai Uji D	1,27	1,24	1,18		
	Jarak	4	3	2		

## 6. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V2 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V2P3	V2P2	V2P1	V2P0	Notasi
		17,58	15,19	12,08	9,07	
V2P0	17,58	0,00				A
V2P1	15,19	2,40	0,00			B
V2P2	12,08	5,50	3,11	0,00		C
V2P3	9,07	8,52	6,12	3,01	0,00	D
	Nilai Uji D	1,27	1,24	1,18		
	Jarak	4	3	2		

## 7. Pengujian Pengaruh Sederhana Faktor Perlakuan (P) pada Taraf V3 yang Sama

Perlakuan	Rata-rata	V3P0	V3P1	V3P2	V3P3	Notasi
		24,31	17,24	15,51	12,93	
V3P0	24,31	0,00				A
V3P1	17,24	7,07	0,00			B
V3P2	15,51	8,80	1,73	0,00		C
V3P3	12,93	11,38	4,31	2,58	0,00	D
	Nilai Uji D	1,27	1,24	1,18		
	Jarak	4	3	2		