



**IDENTIFIKASI KANDUNGAN PIGMEN SELAMA FASE VEGETATIF  
PADA TANAMAN PADI (*Oryza sativa* L.) BLACK MADRAS**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**Romy Taufiqur Rahman**  
**161510501203**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2021**



**IDENTIFIKASI KANDUNGAN PIGMEN SELAMA FASE VEGETATIF  
PADA TANAMAN PADI (*Oryza sativa* L.) BLACK MADRAS**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Pertanian.

Oleh:

**Romy Taufiqur Rahman**

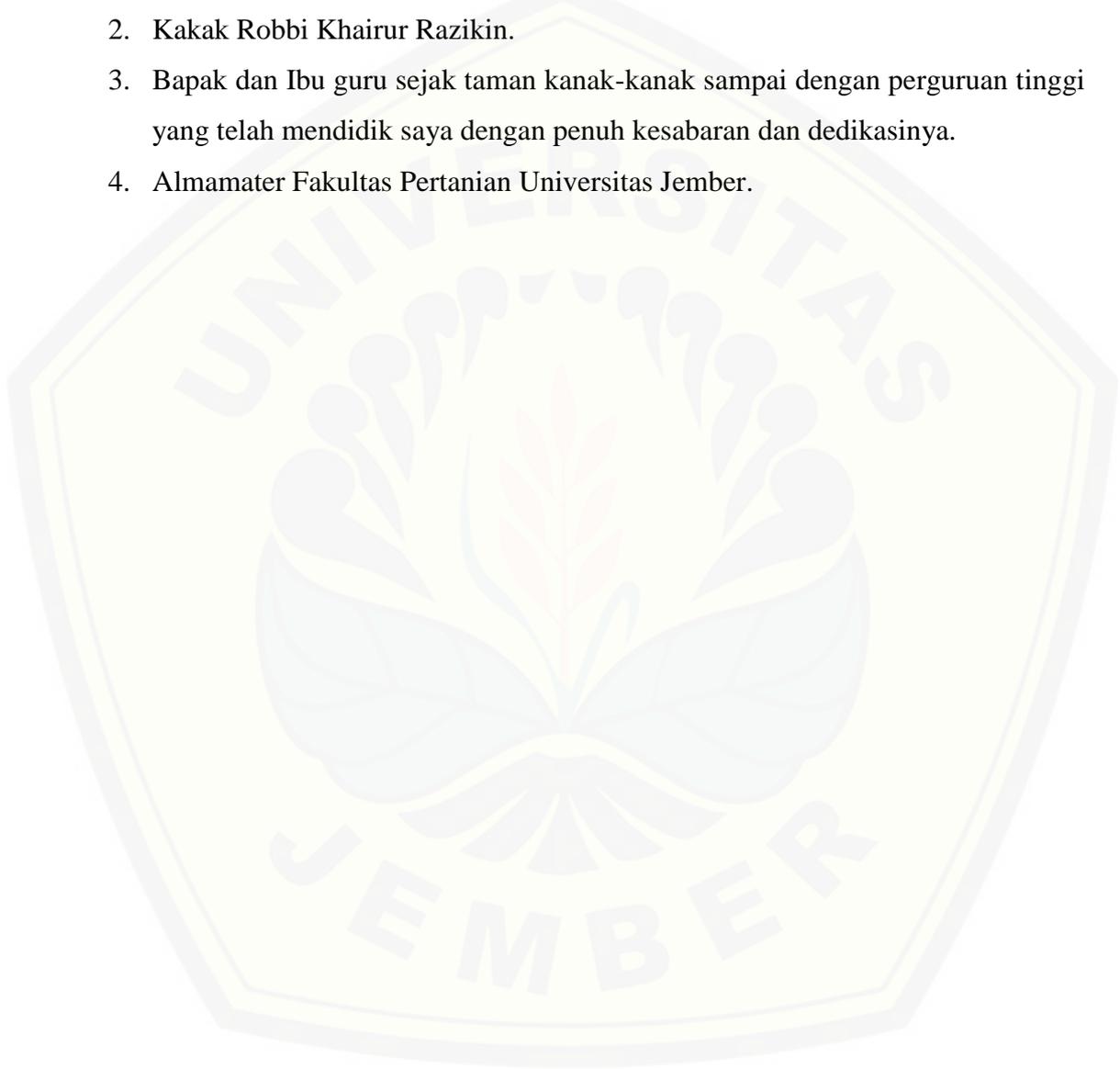
**161510501203**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2021**

## PERSEMBAHAN

Karya ilmiah ini saya persembahkan untuk :

1. Ibunda Susiyana Insufiah dan Ayahanda Rasidi tercinta, yang telah mendoakan dan memberikan kasih sayang serta pengorbanan selama ini.
2. Kakak Robbi Khairur Razikin.
3. Bapak dan Ibu guru sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi yang telah mendidik saya dengan penuh kesabaran dan dedikasinya.
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.



**MOTTO**

Jangan kamu merasa lemah dan jangan bersedih, sebab kamu paling tinggi derajatnya jika kamu beriman  
(QS. Ali Imran : 139)

Dan hanya milik Allah kerajaan langit dan bumi. Dia mengampuni siapa yang Dia kehendaki, dan akan mengazab siapa yang Dia kehendaki. Dan Allah Maha Pengampun, Maha Penyayang.  
(QS. Al-Fath : 14)

Destinasi yang hebat perlu perjuangan yang hebat.  
(Fiersa Besari)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Romy Taufiqur Rahman

NIM : 161510501203

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “**Identifikasi Kandungan Pigmen Selama Fase Vegetatif pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Black Madras**” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Juli 2021

Yang menyatakan,

**Romy Taufiqur Rahman**  
**Nim. 161510501203**

**SKRIPSI**

**IDENTIFIKASI KANDUNGAN PIGMEN SELAMA FASE VEGETATIF  
PADA TANAMAN PADI (*Oryza sativa* L.) BLACK MADRAS**

Oleh:

**Romy Taufiqur Rahman**

**161510501203**



**PEMBIMBING**

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

**NIP. 19700810 199803 1 001**

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Identifikasi Kandungan Pigmen Selama Fase Vegetatif pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Black Madras” telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal :

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Skripsi

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

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Wahyu Indra Duwi Fanata, SP, MSc, Ph.D  
NIP 198102042015041001

Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC  
NIP. 19660630199031002

Mengesahkan  
Dekan,

Prof. Dr. Ir. Soetriono, M.P  
NIP. 196403041989021001

## RINGKASAN

**Identifikasi Kandungan Pigmen Selama Fase Vegetatif pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Black Madras**; Romy Taufiqur Rahman; 161510501203; 2021; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

Pigmen pada tanaman merupakan pemberi warna pada suatu atau seluruh bagian-bagian pada tanaman, pigmen tidak hanya menjadi sebagai zat pemberi warna saja, akan tetapi juga memiliki tugas dan manfaat. Beberapa pigmen memiliki fungsi dan manfaat yaitu berperan dalam proses fotosintesis, dapat bermanfaat sebagai penangkal radikal bebas. Fase vegetatif tanaman memengaruhi keberadaan pigmen pada tanaman, semakin bertambah umur akan menyebabkan kemampuan metabolisme yang meningkat. Tanaman padi Black Madras yang memiliki daun berwarna ungu dan saat ini masih belum banyak penelitian yang dilakukan pada padi Black Madras. Tujuan penelitian ini yaitu mengetahui kandungan pigmen pada daun padi Black Madras selama fase vegetatif. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 1 faktor yaitu umur tanaman dan terdiri dari 4 ulangan. Pengamatan dilakukan yaitu saat umur 15 Hari Setelah Tanam (HST), 30 HST, 45 HST, 60 HST, dan 75 HST, Variabel yang diamati berupa (1) morfologi padi *Black Madras*, (2) kandungan klorofil, (3) kandungan karoten, (4) kandungan antosianin, dan (5) aktivitas antioksidan daun padi *Black Madras*. inhibitor didapatkan hasil pada pigmen klorofil dan Karoten mengalami peningkatan dari umur 15 HST sampai dengan 60 HST, dan mengalami penurunan saat umur 75 HST, hasil tersebut berlaku pula pada hasil pengamatan pigmen fikosianin, fikoeritrin,. Berbeda dari pigmen diatas, untuk hasil pigmen allofikosianin serta antosianin diketahui mengalami peningkatan. Hasil tersebut dipengaruhi oleh kemampuan dari aktivitas metabolik yang berlangsung selama fase vegetatif. Daun padi Black Madras juga berpotensi sebagai penangkal radikal bebas karena dengan bertambahnya umur memiliki nilai IC-50 yang semakin tinggi.

## SUMMARY

**Identification of Pigment Content During the Vegetative Phase of Black Madras Rice (*Oryza sativa* L.);** Romy Taufiqur Rahman; 161510501203; 2021; Departmen of Agrotechnology; Faculty of Agriculture; University of Jember.

Pigment in plants is a color giver to one or all parts of the plant, the pigment is not only a coloring agent, but also has duties and benefits. Some pigments have functions and benefits, namely playing a role in the process of photosynthesis, can be useful as an antidote to free radicals. The vegetative phase of plants affects the presence of pigments in plants, increasing age will cause increased metabolic abilities. Black Madras rice plants which have purple leaves and currently not much research has been done on Black Madras rice. The purpose of this study was to determine the pigment content in Black Madras rice leaves during the vegetative phase. This study used a completely randomized design (CRD) with 1 factor, namely the age of the plant and consisted of 4 replications. Observations were made at the age of 15 days after planting (DAP), 30 DAP, 45 DAP, 60 DAP, and 75 DAP. The variables observed were (1) morphology of Black Madras rice, (2) chlorophyll content, (3) carotene content, (4) anthocyanin content, and (5) antioxidant activity of Black Madras rice leaves. inhibitors showed that chlorophyll and carotene pigments increased from the age of 15 DAP to 60 DAP, and decreased at 75 DAP, the results also apply to the observations of the phycocyanin, phycoerythrin, pigments. Different from the above pigments, the yield of allophycocyanin and anthocyanin pigments is known to increase. These results are influenced by the ability of metabolic activities that take place during the vegetative phase. Black Madras rice leaves also have the potential as an antidote to free radicals because with increasing age they have a higher IC-50 value.

## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia serta hidayah-Nya. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada Rasulullah Muhammad SAW yang telah menuntun kita pada jalan yang benar. Penulis bersyukur atas terselesaikan dan tersusunnya skripsi yang berjudul **“Identifikasi Kandungan Pigmen Selama Fase Vegetatif pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Black Madras”**. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan sarjana pada Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan 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, Wahyu Indra Duwi Fanata, SP., M.Sc., Ph.D selaku Dosen Penguji I, Ir. Hari Purnomo. M.Si., Ph.D., DIC selaku Dosen Penguji II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini
4. Ir. Hari Purnomo M.Si., Ph.D., DIC. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberikan arahan, serta motivasi selama penulis menjadi mahasiswa.
5. Semua dosen Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah senantiasa berbagi ilmu dan memberikan dorongan, semangat serta doa kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
6. Kedua orangtua, Bapak Rasidi dan Ibu Susiana Insufiah, dan Kakak Robbi Khairur Razikin sekeluarga atas segala doa, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan hingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
7. Sahabat Apalah Daya Amela, Bale, Opah, Dini, Enggar, Kimba, Honi, Elpin, Sobah, Iacun, dan Bagas yang telah mendukung dan memberikan semangat

dalam penelitian ini.

8. Teman-teman Asisten Laboratorium Produksi Tanaman (Mas Pandu, Mas Gilang, Mas Rizal, Mbak Vina, Kumala, Fahira, Nabilah, Pertiwi, Yoga, Faiz, dan Rommy)
9. Keluarga Besar Agroteknologi 2016; Feri, Deviga, Maliki, Suceng, Ari, Nurul, Zahro, Yuli, Krisdian, Anam, Ulin, Eka, Eugie, Yanuar, Asmaul, Selvy, Febrian, Fajar, Jaliya, dan Nimas yang telah memberikan dukungan selama ini.
10. Teman seperjuangan di Laboratorium Nutrasetikal dan Farmasetikal, CDAST (Yosefine ., Haris, Hanifa Izzati, Ridho Rizkiantoro, Evi Fahrani, Nanang Qosim, Shafira Ezza, Afifa, Anuri Rahma, Halimatus Sa'dhiya, dan Yoga Eko) atas dukungan dan motivasi yang telah diberikan serta Erlin Susilowati, SP., M. Biotek dan Sandy Pradipta S.Pd., M.Biotek yang telah membimbing dan memberi arahan hingga mampu menyelesaikan skripsi ini.
11. Keluarga Besar Basket Pertanian Unej (Coach Purbo, Mas Dewo, Mas Karno, Ery, Fafa, Niko, Fandy, Iril, Daud, Edo, Dias, Yudi, Damai, dan Alfa)
12. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, namun telah memberikan bantuan dan dukungan selama penyusunan skripsi ini.

Jember, Juli 2021

Penulis

**DAFTAR ISI**

HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN .....	v
HALAMAN PEMBIMBING.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN .....	viii
SUMMARY .....	ix
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
2.1 Tanaman Padi .....	4
2.2 Padi Black Madras.....	5
2.3 Fase Vegetatif Tanaman Padi .....	6
2.4 Pigmen pada Tanaman .....	7
2.5 Hipotesis Penelitian .....	10
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	11
3.2 Bahan dan Alat .....	11
3.3 Rancangan Percobaan.....	11
3.4 Prosedur Penelitian.....	12

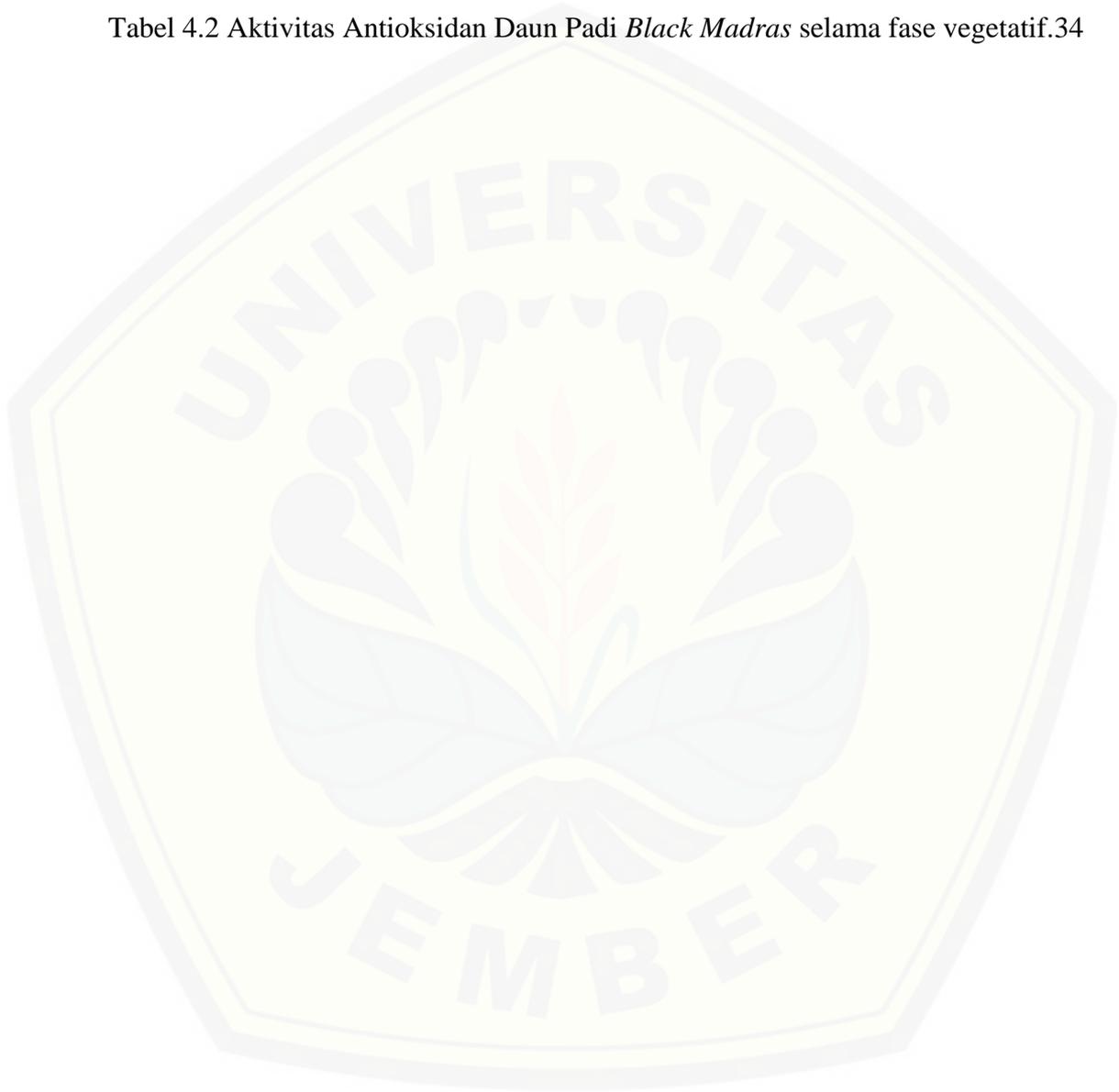
3.4.1	Persiapan Bibit Tanaman .....	12
3.4.2	Pemindahan dan Pemeliharaan Tanaman .....	12
3.4.3	Pemeliharaan.....	12
3.4.4	Pengambilan Sampel Tanaman.....	13
3.4.5	Ekstraksi Sampel.....	13
3.4.6	Kandungan Fikosianin, Allofikosianin, dan Fikoeritrin. ....	14
3.4.7	Kandungan Total Protein Terlarut .....	14
3.4.8	Kandungan Klorofil a, Klorofil b, Total Klorofil, dan Karoten .....	14
3.4.9	Kandungan Antosianin .....	15
3.4.10	SDS-PAGE .....	15
3.4.11	Aktivitas Antioksidan .....	16
3.5	Variabel Pengamatan.....	17
3.5.1	Kandungan Klorofil dan Karoten .....	17
3.5.2	Kandungan Antosianin .....	17
3.5.3	Kandungan Fikosianin, Allofikosianin, dan Fikoeritrin. ....	18
3.5.4	Aktivitas Antioksidan .....	18
3.5.5	Tinggi Tanaman.....	18
3.5.6	Jumlah anakan .....	18
3.5.7	Jumlah Daun .....	18
3.5.8	Warna Daun .....	18
3.5.9	SDS-PAGE .....	18
3.6	Analisis Data .....	18
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>20</b>
4.1	Morfologi Tanaman Padi <i>Black Madras</i> .....	20
4.2	Warna Daun Padi <i>Black Madras</i> selama Fase Vegetatif.....	22
4.3	Pigmen Klorofil, Karoten, dan Antosianin padi <i>Black Madras</i> .....	23
4.4	Pigmen Fikosianin, Fikoeritrin, dan Allofikosianin Padi <i>Black Madras</i> ....	29
4.5	Profil Protein (SDS-PAGE) Daun Padi <i>Black Madras</i> .....	32
4.6	Aktivitas Antioksidan Daun Padi <i>Black Madras</i> .....	33
<b>BAB 5.</b>	<b>PENUTUP .....</b>	<b>37</b>
5.1	Kesimpulan.....	37

5.2 Saran .....	37
DAFTAR PUSTAKA .....	38
LAMPIRAN .....	45



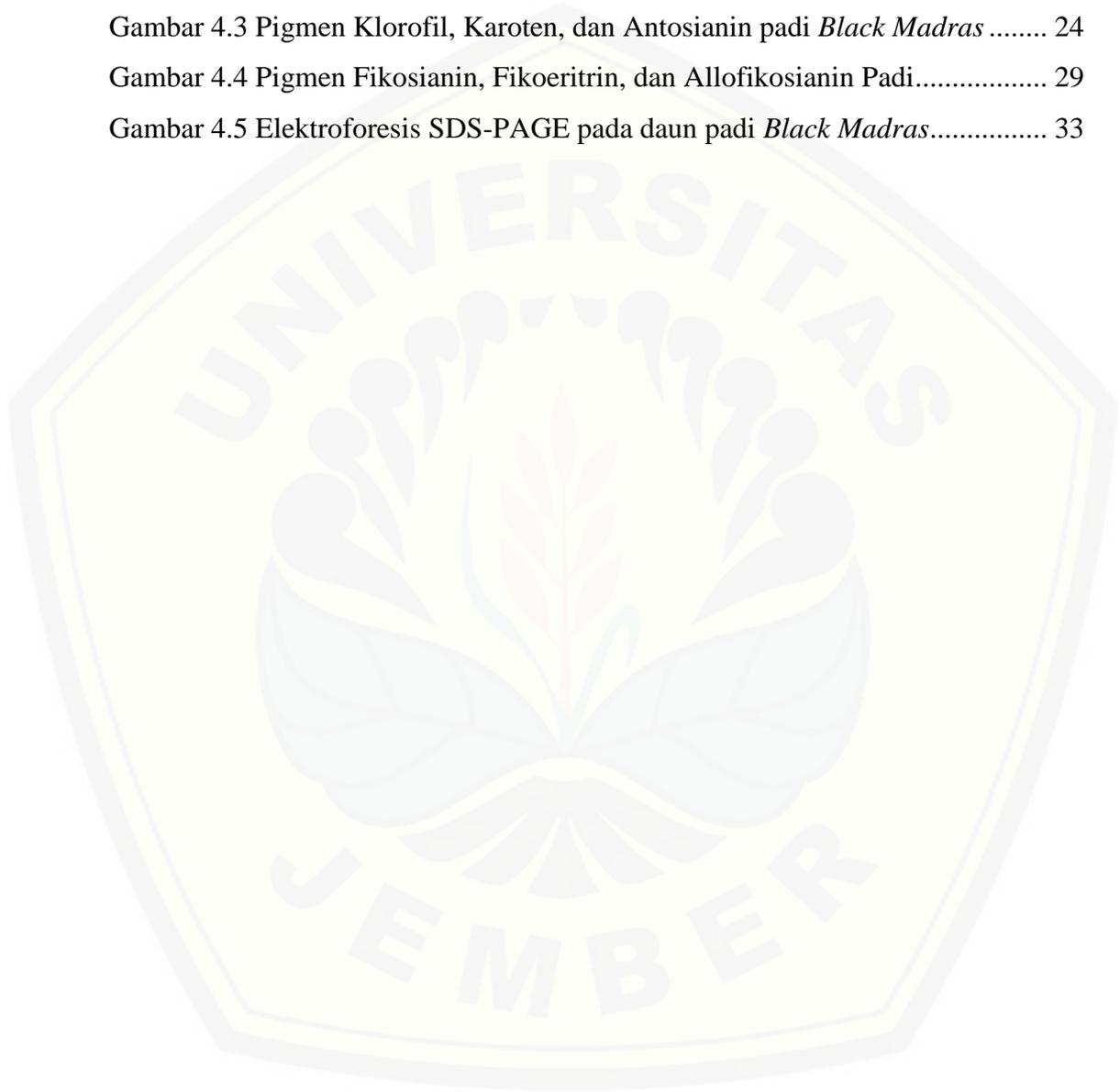
**DAFTAR TABEL**

Tabel 3.4 Rekomendasi Dosis Pupuk Anorganik Padi ..... 13  
Tabel 4.1 Morfologi Tanaman Padi *Black Madras* selama fase vegetatif ..... 20  
Tabel 4.2 Aktivitas Antioksidan Daun Padi *Black Madras* selama fase vegetatif.34



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1 Fase Tanaman Padi.....	6
Gambar 4.2 Warna Daun Tanaman Padi <i>Black Madras</i> selama fase vegetatif ....	22
Gambar 4.3 Pigmen Klorofil, Karoten, dan Antosianin padi <i>Black Madras</i> .....	24
Gambar 4.4 Pigmen Fikosianin, Fikoeritrin, dan Allofikosianin Padi.....	29
Gambar 4.5 Elektroforesis SDS-PAGE pada daun padi <i>Black Madras</i> .....	33



**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1 .1 Morfologi Tanaman Padi.....	45
Lampiran 1.2 Pengukuran Kandungan.....	45



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Tanaman padi merupakan kebutuhan utama bagi masyarakat di Indonesia, hal tersebut dapat dilihat berdasarkan Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian (2019) yang menyatakan konsumsi beras nasional mengalami peningkatan sebesar 97.05 kg/kapita/tahun atau sekitar 0.76% dari tahun 2018 ke tahun 2019, dan diprediksi akan terus mengalami peningkatan. Ada beragam jenis padi yang dibudidayakan di Indonesia, mulai dari padi lokal, hibrida, padi warna seperti padi ketan dan lain sebagainya, contoh-contoh varietas yang dibudidayakan di Indonesia seperti ciherang, IR64, Inpari, pandanwangi (Suryanto, 2019). Umumnya tanaman padi dimanfaatkan bagian biji, dan bagian lainnya terbuang atau menjadi bahan pakan ternak. Beberapa jenis tanaman padi memiliki ciri unik yaitu dengan pigmen daun yang dimiliki sehingga menyebabkan warna daun berbeda dari padi pada umumnya yang hanya berwarna hijau. Salah satu padi tersebut yaitu padi *Black Madras*.

Padi *Black Madras* memiliki warna yang khas pada daunnya karena padi tersebut merupakan padi hias. Warna pada daun *Black Madras* yang berwarna ungu gelap dan sedikit hijau tersebut dapat dihasilkan dari beberapa pigmen seperti karoten, antosianin, klorofil (Pandey, *et al.* 2013), selain pigmen tersebut terdapat pula pigmen yaitu fikosianin, fikoeritrin, dan allofikosianin (Vinod, *et al.* 2020). Tanaman memiliki warna karena dihasilkan oleh pigmen. Pigmen merupakan bagian penting bagi tanaman karena turut andil dalam proses metabolisme tanaman dengan melalui perannya dalam menangkap cahaya dan metabolisme lainnya. Pigmen-pigmen seperti klorofil pada tanaman memberikan warna hijau, klorofil terdiri dari klorofil a yang memiliki peran sebagai pusat reaksi dan klorofil b yang berfungsi untuk menangkap cahaya matahari untuk diteruskan ke pusat reaksi (Setiari dan Yulita, 2009). Karoten memberikan warna oranye, karoten ini dapat bermanfaat sebagai antioksidan dan dapat membantu dalam menangkalkan radikal bebas (Palawe dan Sri, 2018). Antosianin merupakan pigmen yang memberikan warna merah, ungu, serta biru, antosianin ini berfungsi

dalam memberikan perlindungan terhadap tanaman dari adanya cekaman baik secara biotik maupun abiotik, selain itu antosianin juga membantu terjadinya penyerbukan pada tanaman karena dapat memancing serangga agar dapat tertarik untuk hinggap pada tanaman (Priska, dkk. 2018). Pigmen yang terdiri dari fikoeritrin, allofikosianin, dan fikosianin, masing-masing pigmen tersebut menghasilkan warna yang berbeda antara satu dengan yang lainnya seperti fikoeritrin merupakan pigmen merah, allofikosianin adalah pigmen biru kehijauan, dan fikosianin merupakan pigmen yang terdiri atas warna merah dan biru. Ketiga pigmen tersebut juga dapat dimanfaatkan dalam industri kesehatan dan pangan karena dapat dimanfaatkan sebagai sebagai antikanker dan penangkal radikal bebas, selain itu juga mampu dimanfaatkan dalam pengobatan tumor karena memiliki potensi sebagai *photosensitizer* yang dapat digunakan pada terapi fotodinamik, sama seperti pigmen lainnya fikosianin, allofikosianin, serta fikoeritrin juga dapat dimanfaatkan sebagai sumber pewarna alami, pengawet makanan serta bahan baku pembuatan kosmetik (Niu, *et al.* 2006). Adanya pigmen pigmen fikosianin, allofikosianin serta fikoeritrin pada padi *Black Madras* menyebabkan terjadinya senyawa bioaktif yang sangat baik untuk kesehatan. Senyawa bioaktif seperti antioksidan tersebut pada manusia akan berfungsi sebagai penangkal radikal bebas, selain itu juga mampu sebagai anti inflamasi (Wijaya dan Junaidi, 2011).

Tanaman memiliki 2 fase, vegetatif dan generatif. Fase vegetatif merupakan fase dimana pertumbuhan tanaman berlangsung, seperti pertumbuhan daun, anakan, dan tinggi tanaman. Fase vegetatif pada tanaman padi berhenti pada saat pembentukan malai. Setiap tanaman akan memiliki lama fase yang berbeda sesuai dengan varietasnya. Fase vegetatif pada tanaman selain adanya pertumbuhan yang terjadi pada bagian-bagian tanaman, juga terjadi perubahan yang sesuai dengan ciri khas sesuai dengan ciri-ciri tanaman yang dimiliki serta perubahan metabolisme tanaman (Utama. 2019). Salah satunya yang terjadi pada tanaman padi *Black Madras*. Perubahan tidak hanya pada ciri tanaman, akan tetapi dalam kandungan pigmen yang terdapat pada tanaman juga sangat dipengaruhi berlangsung fase vegetatif tanaman, karena semakin bertambah umur tanaman atau bertambahnya umur dalam fase vegetatif akan mengakibatkan perubahan pigmen tanaman.

Padi *Black Madras* adalah salah satu padi yang memiliki warna daun yang berbeda dari padi pada umumnya karena berwarna ungu kehitaman. Informasi terkait kandungan pigmen dan bagaimana perubahannya pada padi *Black Madras* dan potensi yang dimiliki dari kandungan pigmen tersebut sangat jarang karena minimnya riset terkait padi *Black Madras*. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan menganalisis kandungan pigmen pada daun padi *Black Madras* selama fase vegetatif. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait kandungan pigmen pada tanaman padi *Black Madras* selama fase vegetatif berlangsung sehingga nantinya didapatkan informasi terkait kandungan pigmen yang dimiliki padi *Black Madras*.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas maka diperoleh rumusan masalah yaitu bagaimana kandungan pigmen yang ada pada padi *Black Madras* selama fase vegetatif ?

### **1.3 Tujuan**

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah maka tujuan penelitian yaitu untuk mengidentifikasi kandungan pigmen selama fase vegetatif pada padi *Black Madras*.

### **1.4 Manfaat**

1. Mengetahui kandungan pigmen selama fase vegetatif pada padi *Black Madras*.
2. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai informasi mengenai potensi kandungan pigmen pada padi *Black Madras*.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Padi

Padi adalah salah satu tanaman pangan utama di Indonesia yang tergolong dalam *Graminae* atau rumput-rumputan yang banyak dibudidayakan sepanjang tahun. Tanaman padi merupakan tanaman dengan ciri batang tegak yang tersusun dari beberapa ruas dan tertutup oleh buku. Daun pada padi berwarna hijau dengan panjang berkisar antara 39 -60 cm dan memiliki lebar daun berkisar 0,8-1,3 cm. Padi memiliki bunga yang akan berkumpul membentuk *spikelet* yang akan membentuk malai saat keluar dari buku paling atas. Malai pada padi memiliki panjang kurang dari 20-30 cm dengan jumlah cabang 15-20 buah per malai, dan setiap malai akan menghasilkan 100-120 bunga. Padi akan dipanen saat gabah menguning sekitar 90-95% dengankadar air gabah berkisar 25-27% pada musim hujan 21-24% saat musim kemarau, atau saat padi berumur 50-60 hari setelah berbunga (Rembang, dkk. 2018). Mustikarini, dkk (2019) menjelaskan taksonomi tanaman padi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermathopyta
Sub divisi	: Angiospermae
Class	: Monokotiledon
Ordo	: Glumeflorae
Famili	: Gramineae
Genus	: <i>Oryza</i>
Species	: <i>Oryza sativa</i> L.

Tanaman padi merupakan tanaman yang berasal dari asia dan memiliki beragam jenis yang memiliki ciri dan keunggulannya masing-masing. Tanaman yang memiliki ciri mudah beradaptasi dan mudah dikembangkan sehingga dapat kita temui diberbagai daerah (Utama, 2015). Kemampuan padi yang mudah beradaptasi didukung oleh kemampuan akar yang mampu megoksidasi lingkungan sehingga dapat menjaga tanaman agar tidak mengalami keracunan (Mustikarini, dkk. 2019).

Tamanan padi dibedakan menjadi 2 kategori berdasarkan pigmennya yaitu padi putih yang biasa dibudidayakan oleh masyarakat di Indonesia dengan ciri-ciri bulir beras berwarna putih, dan padi berpigmen seperti padi hitam dan padi merah yang memiliki kandungan senyawa bioaktif lebih tinggi yang bermanfaat sebagai antioksidan, anti kanker, antidiabetik, dan antihipertensi serta memiliki kandungan fenol, flavonoid zat besi, lignin, yang lebih tinggi dibandingkan dengan padi berwarna putih (Yuliana dan Muhammad, 2020), selain berdasarkan pigmennya ada satu jenis jenis padi yang dijadikan tanaman hias karena memiliki warna selain hijau pada daun. Adapaun salah satu jenis padi yang memiliki ciri khusus adalah padi Black Madras yang memiliki warna daun ungu kehitaman (Widyawati, dkk. 2014).

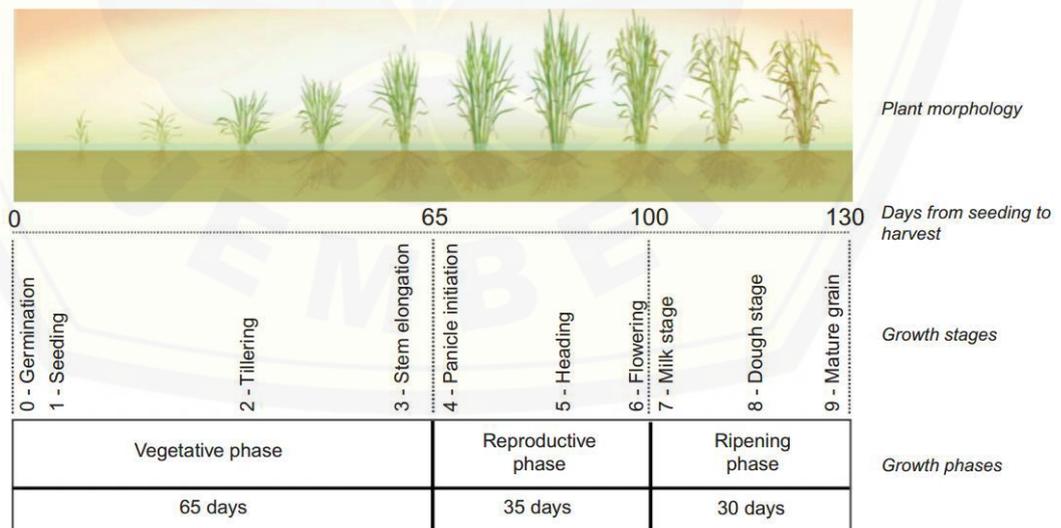
## 2.2 Padi Black Madras

Padi *Black Madras* merupakan jenis padi ornamental yang belum banyak dimanfaatkan, dan budidayanya hanya sebatas sebagai tanaman hias. Padi ornamental adalah tanaman yang mempunyai ciri khusus seperti memiliki warna daun ungu kehitaman disebabkan oleh genetik dari tanaman tersebut (Utama, 2015). Padi ornamental di beberapa negara utamanya di Korea dan Jepang dijadikan sebagai sebuah karya seni yang biasa disebut dengan *Tanbo art* karena padi ornamental memiliki warna daun yang beragam sehingga dapat dijadikan perpaduan yang menghasilkan karya seni. Jenis warna padi yang digunakan yaitu hitam, merah, hijau, dan kuning. Warna pada daun padi ornamental dihasilkan oleh biosintesis klorofil dan atau biosintesis antosianin yang menyebabkan warna daun berbeda dari padi pada umumnya (Kim, *et al.* 2015). Salah satu jenis padi ornamental yang mulai dikembangkan di Indonesia yaitu padi *Black Madras*

Padi *Black Madras* merupakan varietas padi yang tahan akan serangan hama dan penyakit hal ini disebabkan karena warna daun *Black Madras* tidak disukai oleh hama yang biasa menyerang tanaman padi seperti wereng dan juga tikus. *Black Madras* juga memiliki manfaat bagi kesehatan, sama seperti padi berpigmen lainnya karena padi *Black Madras* memiliki antioksidan yang tinggi serta mengandung vitamin A dan juga vitamin C untuk mengatasi radikal bebas

(Muntana dan Prasong, 2010). Padi *Black Madras* yang dibudidayakan secara organik yang dilakukan di Kabupaten Merauke menunjukkan hasil bahwa padi *Black Madras* merupakan padi yang memiliki bernas tertinggi namun padi ini memiliki persentase anakan yang kecil yaitu 13,6% (Palobo, dkk. 2019). Padi *Black Madras* merupakan padi dengan ciri daun berwarna ungu gelap, bulir beras berwarna putih. Daun padi *Black Madras* yang berwarna ungu tersebut terjadi dengan seiring bertambahnya umur tanaman, karena pada fase awal pertumbuhan daun padi *Black Madras* berwarna hijau, kondisi daun yang berwarna ungu tersebut akan bertahan sampai dengan saat umur panen, yang mana padi ini merupakan golongan padi genjah atau berumur pendek (Jamilah, dkk. 2020). Padi *Black Madras* memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan padi jenis lainnya karena memiliki kandungan antosianin yang tinggi pada daunnya. Hal tersebut dapat menjadikan padi *Black Madras* ini sebagai bahan dalam industri pangan dan juga farmaseutikal. Padi *Black Madras* dapat dipanen pada usia 106 HST (Hari Setelah Tanam) dan menghasilkan 70 biji setiap malainya dengan panjang malai yaitu 27,8 cm (Ubaidillah dan Siswoyo, 2018).

### 2.3 Fase Vegetatif Tanaman Padi



**Gambar 2.1 Fase Tanaman Padi (Suryanto, 2019)**

Tanaman dalam siklus hidupnya memiliki 2 fase, yang terdiri dari fase vegetatif dan fase generatif. Fase vegetatif merupakan fase pemanjangan sel, serta pembelahan sel terjadi sehingga nantinya organ-organ seperti akar, batang, dan daun juga muncul, serta kemampuan dari metabolisme pada tanaman juga mengalami perkembangan. fase vegetatif tanaman ini dimulai saat tanaman tersebut mulai dkecambahkan hingga sampai tanaman akan memulai pembentukan bunga (Joesi,2001). Fase tanaman padi oleh Suryanto (2019) dijelaskan bahwa ada 3 fase, fase tersebut terdiri dari fase vegetatif, reproduksi, serta pemasakan. Fase vegetatif dimulai pada saat pindah tanam berlangsung hingga sampai anakan terbentuk dengan maksimal. Fase vegetatif tiap tanaman berbeda-beda, dan hal itu terjadi juga pada tanaman padi, tidak hanya fase vegetatif akan tetapi lama umur tanaman pun juga berbeda seperti padi yang terdapat padi genjah dan padi yang berumur 130 hari. Pada padi *Black Madras* yang memiliki umur tanaman 106 hari ini, memiliki fase vegetatif sampai umur 73 hari, hal itu ditandai dengan munculnya ujung malai pada padi *Black Madras*. Fase vegetatif pada padi *Black Madras* yang berlangsung selama 73 hari tersebut, menyebabkan beberapa pertumbuhan dan perkembangan padi *Black Madras*, seperti perubahan warna yang bermula dari warna hijau, semakin lama akan menyebabkan perubahan warna daun menjadi ungu, bertambahnya anakan, bertambahnya, tinggi tanaman, dan bertambahnya jumlah daun (Ubaidillah dan Siswoyo, 2018).

#### **2.4 Pigmen pada Tanaman**

Pigmen merupakan bagian penting pada tanaman karena menentukan warna daun dan bunga atau bagian lain pada tanaman. Pigmen pada tanaman dikatakan penting karena terlibat langsung dalam proses penyerapan energi saat terjadi fotosintesis. Beberapa macam pigmen pada tanaman yaitu klorofil, karotenoid, dan flavonoid yang terdiri atas antosianin dan flavon (Mulyani. 2006). Menurut Harmoko dan Sepriyaningsih (2019) pigmen fotosintetik tanaman terletak pada kloroplas, dimana pigmen tersebut terdiri dari klorofil, fikobilin, dan juga karotenoid. Klorofil sendiri dibagi menjadi klorofil a dan b, karotenoid terbagi menjadi xantofil dan karoten, dan fikobilin yang terbagi menjadi fikoeritrin,

fikosianin, serta allofikosianin. Pigmen pada tanaman akan mengalami fase peningkatan seiring dengan adanya penambahan umur tanaman, dan akan terjadi penurunan ketika memasuki masa penuaan tanaman (Hendriyani, dkk. 2018).

Klorofil merupakan pigmen tanaman yang membawa warna hijau. Klorofil pada proses fotosintesis terbagi menjadi 2 macam yaitu klorofil a dan klorofil b, masing-masing klorofil tersebut memiliki perannya sendiri, seperti klorofil b yang memiliki peran untuk menangkap cahaya fotosintetik lalu diteruskan menuju klorofil a yang berperan sebagai pusat reaksi (Setiari dan Yulita, 2009). Klorofil memiliki struktur yaitu nitrogen yang berasal dari dua cincin pirol yang berikatan kovalen yang mengikat atom magnesium. Klorofil berikatan juga dengan protein pada dalam kondisi daun tanam hidup atau bekerja dengan optimal (Saati, dkk. 2019). Pigmen tanaman lainnya yaitu antosianin. Antosianin merupakan pigmen bagian dari flavonoid yang membawa warna ungu, biru, merah, dan merah muda berdasarkan pH (Mulyani, 2006). Antosianin pada tanaman memiliki peran dalam membantu tanaman dari cekaman biotik dan abiotik seperti penyesuaian osmotik zat yang terlarut sehingga tanaman dapat menyesuaikan dengan kondisi lingkungannya, selain itu antosianin juga berperan sebagai kamuflase untuk menangkai serangan hama, serta menjadi fotoprotektor bagi kloroplas sehingga mencegah terjadinya kerusakan pada kloroplas yang diakibatkan oleh intensitas cahaya yang terlalu tinggi, intensitas cahaya yang terlalu tinggi tersebut akan merugikan bagi tanaman karena dapat menyebabkan degradasi protein yang dapat menghambat proses fotosintesis. Pigmen antosianin merupakan struktur tunggal turunan sianidin yang terdiri atas 15 atom karbon (Priska, dkk. 2018). Tanaman yang memiliki daun berwarna merah pada umumnya merupakan hasil dari kandungan pigmen antosianin yang dimiliki tanaman tersebut, karena antosianin tidak hanya terdapat atau ditemukan pada bagian buah melainkan juga pada bagian lain pada tanaman seperti halnya pada daun bayam merah (Lingga. 2010), termasuk pada padi *Black Madras* yang memiliki daun berwarna ungu kehitaman ini juga dapat diakibatkan adanya pigmen antosianin yang merupakan pigmen pemberi warna merah maupun ungu pada suatu tanaman atau bagian tanaman.

Proses fotosintesis pada tanaman dan alga tidak hanya dilakukan klorofil untuk menangkap cahaya dan merubahnya menjadi energi, akan tetapi terdapat pigmen lainnya seperti karoten, fikosianin, allofikosianin, serta fikoeritrin sebagai komponen yang membantu menyerap cahaya yang sebelumnya dirubah menjadi makro molekul dan letaknya menempel pada membran tilakoid (Lee, 2008). Pigmen karoten yang terdapat pada kloroplas merupakan pigmen yang memiliki struktur gabungan dari unit-unit suatu diena yaitu isoprena yang mana pigmen ini adalah gabungan dari alfa, beta, serta gamma karoten yang kemudian senyawa-senyawa tersebut bercampur menjadi karoten (Saati, dkk. 2019).

Tiga pigmen yang terdiri dari fikoeritrin, fikosianin, dan allofikosianin saling terhubung satu sama lain, pigmen warna tersebut dihubungkan oleh rod linker yang juga menjadi jembatan untuk membawa energi ke pusat fotosintesis yaitu pada membran tilakoid sehingga nanti akan terjadi reaksi terang. Pigmen fikosianin, allofikosianin, serta fikoeritrin memancarkan warna yang berbeda yaitu fikosianin dengan pigmen biru, allofikosianin yang memancarkan warna hijau kebiruan, dan fikoeritrin yang menghasilkan warna merah (Pandey, *et al.* 2013). Berdasarkan Richa, *et al* (2011) fikoeritrin, fikosianin, dan allofikosianin memiliki panjang gelombang maksimum masing-masing. Fikosianin memiliki panjang gelombang maksimum pada 610-620 nm, fikoeritrin 490-570 nm, dan allofikosianin 650-660 nm.

Pigmen fikosianin, fikoeritrin, serta allofikosianin bersifat larut air dan membentuk senyawa fikobilosom yang melekat pada membran tilakoid dan memiliki sifat farmakologis dengan adanya antioksidan dan anti-inflamasi (Romay, *et al.* 2003). Fikosianin bersama allofikosianin, dan fikoeritrin merupakan protein yang memiliki cincin tetrapirrol serta termasuk gugus kromofor, semua gugus kromofor dapat mengikat sistein spesifik pada rantai polipeptida karena adanya ikatan-ikatan tioeter (Sa'diyah, dkk. 2018)

### 2.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu terdapat peningkatan kandungan pigmen yang dimiliki daun padi *Black Madras* karena adanya pengaruh dari umur tanam yang berlangsung selama fase vegetatif dan perubahan warna daun



## BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian “Identifikasi Pembentukan dan Kandungan Pigmen selama Fase Vegetatif pada Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) Black Madras” dilaksanakan pada bulan Januari 2021 sampai dengan bulan Mei 2021 di green house dan Laboratorium Nutrasetikal dan Farmasetikal CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*) Universitas Jember.

### 3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu benih padi Black Madras yang diperoleh dari Laboratorium CDAST (*Center for Development of Advanced Sciences and Technology*), dan beberapa bahan-bahan lain yang digunakan pada penelitian ini yaitu larutan buffer KCl pH 1 0,025 M, larutan buffer sodium asetat pH 4,5 0,4 M, HCl, buffer fosfat pH 7 0,2 M, larutan Bradford, larutan ABTS 2,2 azinobis 3-ethylbenzothiazole-6-sulfonic acid, 2 Deoksi D-Ribosa, FeCl<sub>3</sub>, EDTA, 10 mM buffer Tris-HCl pH 8,2, pirogalol, dan 10 mM HCl. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, sentrifuge Hitachi U-2900, spektrofotometer Hitachi CF 15rxii dan alat pendukung lain.

### 3.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor yaitu umur tanaman yang terdiri dari 5 taraf perlakuan. Setiap taraf perlakuan terdiri dari 4 ulangan. Berikut taraf perlakuan percobaan:

P1 : Tanaman umur 15 Hari Setelah Tanam (HST)

P2 : Tanaman umur 30 HST

P3 : Tanaman umur 45 HST

P4 : Tanaman umur 60 HST

P5 : Tanaman umur 75 HST

Berikut adalah denah pengacakan pada tanaman padi yang terdiri dari 5 taraf perlakuan dan 4 kali ulangan, ulangan sampel dilambangkan dengan (U) :

P1U1	P2U1	P3U1	P4U1	P5U1
P1U2	P2U2	P3U2	P4U2	P5U2
P1U3	P2U3	P3U3	P4U3	P5U3
P1U4	P2U4	P3U4	P4U4	P5U4

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Persiapan Bibit Tanaman

Benih padi direndam dalam larutan fungisida selama 10 menit kemudian dibilas dengan air dan diimbibisi hingga benih berkecambah. Benih yang telah berkecambah kemudian disemai pada *pot tray* yang telah berisi media tanah dan dipelihara hingga benih berumur 14 Hari Setelah Semai (HSS). Bibit yang ada kemudian diseleksi dan dilakukan penanaman dengan media tanah pada *polybag* dengan berat tanah 3 kg/*polybag*.

#### 3.4.2 Pemindahan dan Pemeliharaan Tanaman

Bibit yang tumbuh baik dan seragam dipindahkan ke dalam *polybag* yang telah berisikan tanah. Tanah yang digunakan sebagai media tanam pada saat pindah tanam yaitu kombinasi tanah sawah dan pupuk kandang dengan perbandingan 2 : 1. Tanah dimasukkan ke dalam sampai mencapai  $\frac{3}{4}$  dari tinggi *polybag* kemudian digenangi dengan air hingga setinggi permukaan tanah.

#### 3.4.3 Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman terdiri dari beberapa kegiatan yaitu pemupukan, penyiangan gulma, pengairan, serta pengendalian hama dan penyakit.

- a. Kebutuhan pupuk pada tanaman padi mengacu pada Peraturan Menteri Pertanian Nomor 40/Permentan/OT.140/4/2007 tentang rekomendasi pemupukan N, P, dan K pada padi sawah spesifik lokasi. Pupuk rekomendasi yang digunakan pada tanah sawah komoditas padi yaitu 300 kg/ha Urea, 100 kg SP-36, 100 kg/ha KCl dan 2 ton/ha pupuk kandang. Pupuk organik diberikan saat pengolahan tanah dan pupuk anorganik diberikan setelah pindah tanam. Pupuk anorganik diaplikasikan dengan cara disebar disekitar tanaman kemudian ditutup dengan tanah dan diberikan secara bertahap yaitu pada umur 7, 21 dan 42 HST. Jenis pupuk yang diberikan pada tanaman padi

berumur 7 HST yaitu pupuk Urea, SP-36 dan KCl, pada umur 21 HST yaitu pupuk Urea dan pada umur 42 HST akan diberikan pupuk Urea dan KCl.

Tabel 3.4 Rekomendasi Dosis Pupuk Anorganik Padi (berdasarkan berat tanah)

Umur	Jenis Pupuk	Dosis/ha	Dosis/polibag
7 HST	Urea	75 kg	0.16 g
	SP-36	100 kg	0.28 g
	KCl	50 kg	0.2 g
21 HST	Urea	150 kg	0.32 g
42 HST	Urea	75 kg	0.16 g
	KCl	50 kg	0.2 g

b. Pengendalian Gulma, Pengairan dan Pengendalian Hama dan Penyakit

Pengendalian gulma dilakukan untuk menghindari terjadinya persaingan hara dengan tanaman padi. Pengendalian gulma dilakukan secara fisik yaitu mencabut gulma yang tumbuh disekitar tanaman padi. Pengairan dilakukan sejak padi berumur 0 HST. Pengendalian hama dan penyakit dilakukan untuk mencegah terjadinya kerusakan dan terganggunya pertumbuhan tanaman padi. Pengendalian dilakukan jika terjadi intensitas serangan tinggi.

#### 3.4.4 Pengambilan Sampel Tanaman

Pengambilansampel daun dilakukansesuai dengan umur perlakuan tanaman yaitu umur 15, 30, 45, 60, dan 75 HST. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara memotong daun padi dari pangkal daun.

#### 3.4.5 Ekstraksi Sampel

Sampel daun diambil sebanyak 0,01 gram, lalu dihaluskan dengan menggunakan mortar, selanjutnya ditambahkan metanolPA sebanyak 1,5 mL kemudian disentrifugasidengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan diambil untuk analisis klorofil, dan karoten, serta antosianin.

Analisis totalfikosianin, allofikosianin, serta fikoeritrin menggunakan sampel daun dalam kondisi fresh diambil 0,01 gram kemudian diekstrak denganbuffer fosfatpH 7 sebanyak 1,5 mL, selanjutnya disonikasi selama 5 menit,

tiap 30 detik sampel diangkat. Kemudian di sentrifugasi 16.000 xg pada suhu 4°C selama 10 menit. Supernatan diambil dan digunakan untuk analisis pigmen tersebut.

Analisis protein terlarut menggunakan sampel daun dalam kondisi fresh diambil 0,01 gram kemudian di ekstrak dengan buffer fofat pH 7,4 sebanyak 1,5mL, selanjutnya sampel disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm dengan suhu 4°C selama 10 menit.

#### 3.4.6 Kandungan Fikosianin, Allofikosianin, dan Fikoeritrin.

Menurut Bennet dan Bogorad (1973)absorbansi supernatan ditentukan secara spektrofotometer dengan panjang gelombang masing-masing yaitufikoeritrin (PE) 562 nm, fikosianin (PC) 615 nm dan alofikosianin (APC) 652 nm. Kandungan masing-masing pigmen dihitung menggunakan rumus:

$$PE \text{ [mg/g]} = [(A_{562} - (2,41 \times PC) - (0,849 \times APC)) / 9,62] \times V / W]$$

$$PC \text{ [mg/g]} = [(A_{615} - (0,474 \times A_{652})) / 5,34] \times V / W]$$

$$APC \text{ [mg/g]} = [(A_{652} - (0,208 \times A_{615})) / 5,09] \times V / W]$$

#### 3.4.7 Kandungan Total Protein Terlarut

Analisis kadar protein terlarut pada Padi *Black Madras* ditentukan dengan menggunakan metode Bradford (1976). Supernatan sampel daun padi *Black Madras*sebanyak 5 µL ditambahkan aquadest sebanyak 45 µL (dilakukan 4 ulangan). Kemudian larutan tersebut ditambahkan larutan Bradford sebanyak950 µL, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit. Absorbansi diukur dengan panjang gelombang 595 nm menggunakan spektrofotometer. Sebagai standart menggunakan BSA dengan satuan mg BSA. Penentuan total protein terlarut bertujuan untuk mengetahui kandungan protein yang larut pada sampel padi *Black Madras* berdasarkan fase vegetatif tanaman padi.

#### 3.4.8 Kandungan Klorofil a, Klorofil b, Total Klorofil, dan Karoten

Kandungan klorofil a, klorofil b dan total klorofil ditentukan berdasarkan metode Porra, *et al* (1989), sedangkan kandungan karoten berdasarkan metode Lichtenhaler (1987). Absorbansi ekstrak sampel diukur pada panjang gelombang 665, 652, dan 470 nm. Kandungan masing-masing dihitung dengan rumus :

$$\text{Klorofil a (mg/g)} = [(16,29 \times A_{665}) - (8,54 \times A_{652})] / 1000 \times V / W$$

$$\text{Klorofil b (mg/g)} = [(30,66 \times A_{652}) - (13,58 \times A_{665})] / 1000 \times V / W$$

$$\text{Total Klorofil (mg/g)} = [(22,12 \times A_{652}) + (2,71 \times A_{665})] / 1000 \times V / W$$

$$\text{Karoten (mg/g)} = [(1000 \times A_{470}) - (1,63 \times C_a) - (104,96 \times C_b)] / 221 \times V / W$$

Keterangan :

A = Absorbansi pada panjang gelombang tertentu

V = Volume akhir ekstrak daun (mL)

W = Berat segar ekstrak daun (gram)

C<sub>a</sub> = Klorofil a

C<sub>b</sub> = Klorofil b

### 3.4.9 Kandungan Antosianin

Menurut Giusti and Wrolstad (2001) kandungan antosianin total dianalisis menggunakan metode perbedaan pH. Larutkan 200 $\mu$ L supernatan daun padi pada larutan buffer pH 1 dan pH 4,5 dengan perbandingan sampel dan larutan buffer pH yaitu 1 : 5, sampel yang dilarutkan pada buffer pH 1 dibiarkan selama 15 menit, sedangkan sampel yang dilarutkan pada buffer pH 4,5 dibiarkan selama 5 menit. Absorbansi ekstrak diukur pada panjang gelombang 510 dan 700 nm. Kandungan antosianin dihitung dengan rumus :

$$A = [(A_{510} - A_{700})_{pH1} - (A_{510} - A_{700})_{pH4,5}]$$

Kandungan antosianin total dihitung dengan rumus :

$$\text{Antosianin} = (A \times MW \times DF \times \frac{V}{W})$$

Keterangan :

MW : Berat molekul sianidin-3-rutinosida = 445,2 g/mol

DF : Faktor pengenceran

V : Volume akhir / volume ekstrak pigmen (L)

W : Berat sampel (g)

### 3.4.10 SDS-PAGE

SDS-PAGE yang dilakukan ini mengacu berdasarkan metode dari Bhat and Riar (2017) dengan dilakukan sedikit modifikasi. Pertama yaitu menyiapkan sample protein yang kemudian ditambahkan dengan buffer 1:1, setelah itu dipanaskan pada suhu 90°C selama 3 menit. Sample tersebut kemudian dimasukkan

kedalam sumuran 15% gel akrilamida yang sudah tercampur dengan buffer tris-HCL 50 mM pH 6,8. Gel dipolimerasi dengan TEMED (tetramethylenediamine) serta amonium persulfat (APS). Sample selanjutnya dielektroforesis pada tegangan konstan 80 V selama 4 jam. Gel yang telah dielektroforesis selanjutnya diwarnai dengan 0,1% bromofenol biru, dan penghilang pewarna dengan larutan metanol, air suling serta asam asetat glasial dengan perbandingan 4:5:0,7% (v/v), penggunaan bromofenol untuk menunjukkan aliran polipeptida pada dalam gel, kemudian gel divisualisasikan dibawah sinar putih untuk mengetahui pita yang terbentuk.

#### 3.4.11 Aktivitas Antioksidan

a. *Metode 2,2 azinobis 3-ethylbenzothiazole-6-6sulfonic acid (ABTS)*

Metode ABTS dilakukan sesuai dengan prosedur Re *et al.*, (1999). Reagen 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, reagen ABTS dilarutkan dengan 0,2 M PBS (phosphate buffer saline) 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:

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

b. *Metode Hidroksil*

Aktivitas antioksidan dengan hidroksil dilakukan berdasarkan metode Kumar *et al.*, (2013). Pengujian dilakukan dengan menambahkan masing-masing sampel dengan larutan deoksiribosa 28 mM 97,5  $\mu\text{L}$ , EDTA 1 mM 107,5  $\mu\text{L}$ ,  $\text{FeCl}_3$  10 mM 107,5  $\mu\text{L}$ , 1 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  97,5  $\mu\text{L}$ , 1 mM asam askorbat 97,5  $\mu\text{L}$ , , 28 mM buffer fosfat pH 7,4 150  $\mu\text{L}$ ,. Kemudian inkubasi pada

suhu 37°C selama 1 jam. Setelah inkubasi, tambahkan 187,5 µL TBA 1% dan 187,5 µL TCA 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. Aktivitas antioksidan melalui peredaman radikal hidroksil 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 absobansi tanpa penambahan sampel

Abs sampel = nilai absorbansi dengan penambahan sampel

c. Superokisda

Analisis superoksida diamati dengan mengacu pada metode yang dilakukan oleh Supriyadi et al (2019). Mencampurkan sampel ekstrak (200 µL) dengan 10 mM buffer Tris-HCl pH 8,2 hingga volume 1,7 ml dan diinkubasi pada suhu 26°C selama 10 menit. Kemudian ditambahkan pirogalol sebanyak 100 µl dalam 10 mM HCl dan diukur atau di scanning sloponya selama 4 menit pada panjang gelombang 320 nm. Peredaman radikal superoksida dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Aktivitas Peredaman (\%)} = \frac{(\text{Slope Blanko} - \text{Slope Sampel})}{\text{Slope Blanko}} \times 100\%$$

### 3.5 Variabel Pengamatan

#### 3.5.1 Kandungan Klorofil dan Karoten (mg/g)

Kandungan klorofil (mg/g) dilakukan dengan mengukur sampel daun padi *Black Madras* dengan metode Porra, et al (1989) dan karoten dengan metode metode Lichtenhaler (1987) yang diukur pada masing-masing perlakuan umur pengamatan pada panjang gelombang 470, 652, 665 nm.

#### 3.5.2 Kandungan Antosianin (mg/g)

Kandungan antosianin (mg/g) dilakukan dengan mengukur sampel daun padi *Black Madras* dengan metode Giusti and Wrolstad (2001) yang diukur pada

masing-masing perlakuan umur pengamatan pada panjang gelombang 700, dan 510 nm.

### **3.5.3 Kandungan Fikosianin, Allofikosianin, dan Fikoeritrin. (mg/g)**

Kandungan total fikosianin, allofikosianin, serta fikoeritrin (mg/g) dilakukan dengan mengukur sampel daun padi *Black Madras* dengan metode Bennet dan Bogorad (1973) dan pengamatan dilakukan pada masing-masing umur pengamatan pada panjang gelombang 562, 615, dan 652 nm.

### **3.5.4 Aktivitas Antioksidan**

Aktivitas antioksidan daun padi *Black Madras* diamati dengan 3 metode yaitu peredaman radikal ABTS, peredaman radikal hidroksil, dan peredaman radikal superoksida yang nantinya akan dinyatakan dalam nilai IC-50.

### **3.5.5 Tinggi Tanaman (cm)**

Tinggi tanaman (cm) dilakukan dengan mengukur tanaman dimulai dari pangkal batang pada permukaan tanah sampai daun terpanjang dalam satu rumpun. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mistar yang dilakukan pada masing-masing umur pengamatan

### **3.5.6 Jumlah anakan per tanaman**

Jumlah anakan per rumpun (batang) yang diamati pada masing-masing umur pengamatan.

### **3.5.7 Jumlah Daun (helai) per tanaman**

Jumlah daun per tanaman yang diamati pada masing-masing umur pengamatan.

### **3.5.8 Warna Daun**

Warna daun per tanaman yang diamati pada masing-masing umur pengamatan.

### **3.5.9 SDS-PAGE**

Mengamati pola protein yang dihasilkan pada analisa profil protein dengan mengamati pita protein yang didapat.

## **3.6 Analisis Data**

Rancangan percobaan pada penelitian ini menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) satu faktor yang terdiri dari umur pemanenan daun padi *Black*

*Madras* dan terdiri dari 5 taraf perlakuan dengan tiap perlakuan terdiri dari 4 ulangan. Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan perhitungan *Analysis of Variance* (ANOVA). Jika terdapat perbedaan di antara rata-rata perlakuan maka akan diuji lanjut menggunakan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kepercayaan 95% dan uji lanjut polinomial orthogonal.



## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Morfologi Tanaman Padi *Black Madras*

Fase vegetatif yang berlangsung pada tanaman padi *Black Madras* menyebabkan pertumbuhan pada morfologi tanaman padi *Black Madras*. Morfologi pada tanaman padi *Black Madras* dapat diamati melalui variabel tinggi tanaman (cm), jumlah daun, jumlah anakan, berat basah (gram), dan berat kering (gram) yang diukur per tanaman. Hasil pengamatan morfologi ditampilkan pada tabel berikut (Tabel 4.1).

Tabel 4.1 Pengamatan Morfologi Tanaman Padi *Black Madras* selama fase vegetatif

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	Morfologi Tanaman				
	Tinggi tanaman(cm)	Jumlah Daun/Tanaman	Jumlah anakan/Tanaman	Berat basah (gram)/Tanaman	Berat Kering (gram)/Tanaman
15	31,43±5,23 <sup>a</sup>	6,00±2,49 <sup>a</sup>	2,00±1,00 <sup>a</sup>	1,00±0,50 <sup>a</sup>	0,18±0,03 <sup>a</sup>
30	42,70±2,61 <sup>b</sup>	12,00±1,64 <sup>b</sup>	3,00±0,50 <sup>b</sup>	5,00±0,82 <sup>b</sup>	0,37±0,10 <sup>a</sup>
45	46,18±3,40 <sup>c</sup>	14,00±1,92 <sup>c</sup>	4,00±0,00 <sup>c</sup>	10,00±1,41 <sup>c</sup>	1,65±0,47 <sup>b</sup>
60	62,13±6,54 <sup>d</sup>	46,00±9,03 <sup>d</sup>	14,00±2,45 <sup>d</sup>	16,50±0,58 <sup>d</sup>	4,08±1,35 <sup>c</sup>
75	69,50±11,03 <sup>e</sup>	55,00±13,12 <sup>e</sup>	17,00±4,50 <sup>e</sup>	72,75±25,84 <sup>e</sup>	24,25±6,70 <sup>d</sup>

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Berdasarkan hasil dari pengamatan yang dilakukan, didapatkan hasil bahwa berangsur-angsur dengan bertambahnya usia tanam, pertumbuhan tinggi juga semakin bertambah, dan pada tinggi tanaman diketahui juga bahwa perlakuan umur tanaman ini saling berbeda nyata, termasuk juga pada jumlah daun, jumlah anakan, dan berat basah tanaman juga saling berbeda nyata, namun pada berat kering umur 15 dan 30 HST memiliki hasil yang berbeda tidak nyata. Pengamatan dimulai pada umur 15 HST (Hari Setelah Tanam) yang dari hasil pengamatan didapatkan tinggi tanaman telah mencapai tinggi 31,43 cm, kemudian dilanjutkan saat umur 30 HST tanaman padi *Black Madras* memiliki tinggi yaitu 42,70 cm, pada umur 45 HST pengamatan tinggi yang sudah dilakukan mendapatkan hasil bahwa tinggi tanaman yaitu 46,18 cm, selanjutnya yaitu pada umur 60 HST tinggi tanaman yaitu 62,13 cm, dan pada pengamatan terakhir saat umur 75 HST, tanaman *Black Madras*

memiliki tinggi yaitu 69,50 cm. Jumlah daun yang didapatkan berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa umur 15 HST memiliki daun yaitu sebanyak 6,00 helai daun, 30 HST memiliki daun sebanyak 12 helai daun, selanjutnya pada 45 HST terdapat 14,00 daun, dan umur 60 HST serta 75 HST berangsur-angsur yaitu memiliki daun sebanyak 46,00 dan 55,00 helai daun. Jumlah anakan yang didapatkan pada padi *Black Madras* pada umur 15 HST yaitu sejumlah 2,00 anakan per tanaman, pada umur 30 HST terdapat 3,00 anakan per tanaman, pengamatan saat 45 HST didapatkan hasil yaitu ada 4,00 anakan per tanaman yang telah muncul, selanjutnya pada umur 60 HST dan 75 HST, jumlah anakan yang muncul yaitu 14,00 dan 17,00 anakan per tanaman. Berat basah dan berat kering tanaman juga diukur dan berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan, untuk berat basah dan berat kering tanaman pada umur 15 HST memiliki berat basah sebesar 1,00 g/tanaman dan dengan berat kering yaitu 0,18 g. Tanaman pada umur 30 HST memiliki berat basah dan berat kering yaitu sebesar 5,00 g/tanaman dan berat kering yaitu 0,37 g/tanaman. Saat umur 45 HST, tanaman padi *Black Madras* memiliki berat basah yaitu sebesar 10,00 g/tanaman, dan untuk berat keringnya yaitu sebesar 1,65 g/tanaman. Pengamatan pada saat 60 HST memiliki berat basah sebesar 16,50 g/tanaman dan untuk berat keringnya yaitu 4,08 g/tanaman. Pengamatan terakhir yaitu pada 75 HST didapatkan berat basah sebesar 72,75 g/tanaman dan berat keringnya 24,25 g/tanaman.

Pertumbuhan ditandai dengan adanya perubahan ukuran, volume, serta bobot. Pertumbuhan merupakan sifat yang *irreversible* atau tidak dapat kembali. Pertumbuhan pada tanaman juga dapat dipengaruhi dengan adanya faktor dari genetik yang dimiliki oleh tanaman dan juga faktor yang didapatkan dari kondisi lingkungan yang ada (usman dkk, 2014). Hal tersebut dapat juga dilihat pada tanaman padi *Black Madras* yang dengan bertambahnya umur tanam dengan dimulai dari 15 HST sampai pada umur 75 HST berangsur-angsur mengalami tinggi yang semakin bertambah, tidak hanya pada tinggi, namun juga pada jumlah daun, jumlah anakan, berat basah dan juga pada berat kering tanaman yang semakin meningkat dengan bertambahnya umur tanam. Faizal, dkk (2017) juga menambahkan bahwa pertumbuhan tinggi dan perkembangan organ-organ tanaman

selama fase vegetatif juga dipengaruhi oleh hasil fotosintesis, hasil fotosintesis yang telah terbentuk kemudian digunakan untuk percepatan pertumbuhan dan perkembangan organ pada tanaman.

#### 4.2 Warna Daun Padi *Black Madras* selama Fase Vegetatif

Fase vegetatif merupakan fase terjadinya pertumbuhan dan perkembangan bagi tanaman, proses seperti perkembangan sel dan organ memengaruhi bagaimana proses penyerapan energi berlangsung, semakin bertambahnya usia tanam metabolisme pada tanaman juga akan semakin matang, dan begitu pula pada daun dimana terjadinya perubahan warna daun yang disebabkan oleh metabolisme daun dalam menghasilkan pigmen. Daun padi *black madras* memiliki keunikan dibandingkan dengan daun padi pada umumnya, daun padi *Black Madras* berwarna ungu kehitaman, daun padi *Black Madras* diamati warnanya guna mengetahui bagaimana perubahan yang terjadi pada daun padi *Black Madras*. Perubahan yang diamati tersebut berlangsung pada saat fase vegetatif berlangsung. Berikut hasil pengamatan perubahan warna daun padi *Black Madras* ditampilkan pada gambar berikut (gambar 4.2).



Gambar 4.2 Pengamatan Warna Daun Tanaman Padi *Black Madras* selama fase vegetatif

Keterangan : Semakin bertambahnya tanda (+) menunjukkan warna daun padi *Black Madras* yang semakin gelap.

Berdasarkan pengamatan daun padi *Black Madras* yang sudah dilakukan, dapat diketahui bahwa daun padi *Black Madras* pada saat awal tanam yaitu saat berumur 15 HST dimulai dengan daun yang berwarna hijau, dan dilanjutkan saat

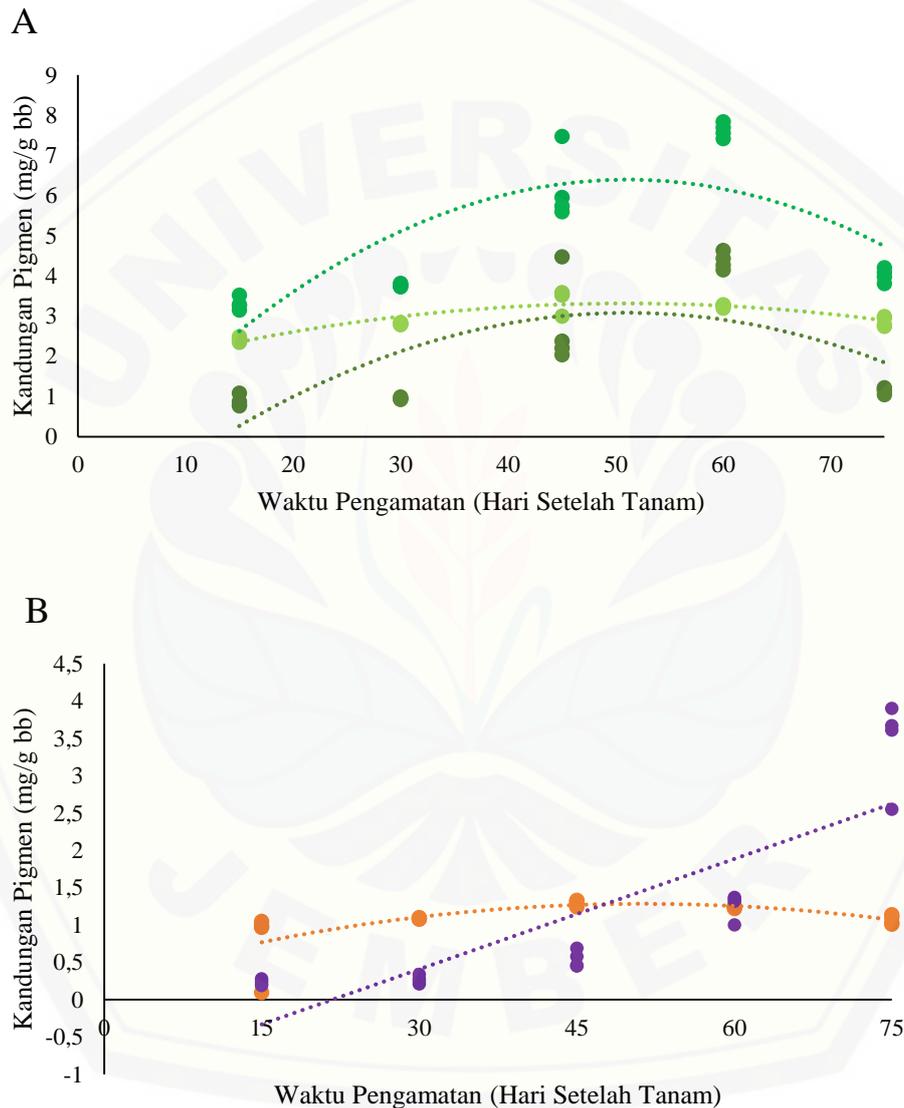
memasuki umur 30 HST, daun akan berubah warna menjadi ungu, seiring bertambahnya umur dan memasuki 45 HST, daun yang semula berwarna ungu berubah menjadi ungu gelap. Umur 60 HST daun padi *Black Madras* berubah menjadi berwarna ungu yang semakin gelap, dan kemudian pada saat tanaman memasuki umur 75 HST, daun padi *Black Madras* yang memasuki fase generatif memiliki warna daun yaitu ungu gelap yang pudar. Padi *Black Madras* pada fase awal tanam memiliki warna sama seperti padi pada umumnya yaitu berwarna hijau, lalu selama fase vegetatif berlangsung daun mengalami perubahan menjadi warna ungu gelap.

Perubahan warna yang terjadi pada daun padi *Black Madras* tersebut diakibatkan oleh adanya pigmen tanaman. Mlodzinska (2009) menyatakan bahwa pigmen merupakan bagian yang memberikan warna baik bagi tanaman tingkat tinggi maupun rendah, pigmen-pigmen itu terdiri dari klorofil, antosianin, karoten, dan selain itu terdapat pigmen fikoeritrin, fikosianin, dan juga allofikosianin, ditambahkan juga oleh Mulyani (2018) bahwa pigmen pada tanaman dapat ditemukan pada vakuola dan juga plastida, yang selanjutnya pigmen juga dapat dibagi menjadi pigmen yang terdapat pada kloroplas dan juga kromoplas, pigmen pada tanaman dapat dipengaruhi oleh lingkungan, cahaya serta pH dan warna merah atau ungu yang keluar dari daun tersebut dapat disebabkan dengan adanya oksidasi flavonoid. Danniswari, dkk (2019) menjelaskan bahwa pigmen pada tanaman selain karena dipengaruhi oleh faktor dari internal dari tanaman yaitu genetik, dapat juga disebabkan oleh faktor lingkungan seperti suhu, dan juga cahaya. Kandungan pigmen yang beragam pada tanaman dapat dibedakan melalui panjang gelombang yang mampu diserap oleh masing-masing pigmen, seperti warna klorofil yaitu pada panjang gelombang 420-660 nm, karoten yaitu pada panjang gelombang 400-500 nm, antosianin pada 460-550 nm, dan untuk fikoeritrin yaitu 540-570 nm, allofikosianin pada 652 nm, dan fikosianin pada 620 nm (Mlodzinska, 2009).

#### **4.3 Kandungan Pigmen Klorofil, Karoten, dan Antosianin padi *Black Madras***

Fase vegetatif selain menyebabkan pertumbuhan yang bersifat *irreversible*, juga menyebabkan kandungan biokimia yang ada pada tanaman, salah satunya pada

daun padi *Black Madras*. Daun padi *Black Madras* yang berwarna ungu tentunya memiliki pigmen-pigmen yang menyusun sehingga menyebabkan daun *Black Madras* memiliki ciri khas dibandingkan dengan padi lainnya. Berikut pengamatan pigmen yang terdapat pada daun padi *Black Madras*. Hasil pengamatan kandungan pigmen ditampilkan pada diagram berikut berikut (gambar 4.2)



Gambar 4.3 Pigmen Klorofil, Karoten, dan Antosianin padi *Black Madras*  
 Keterangan : (A) Hasil identifikasi kandungan pigmen klorofil a, klorofil b, total klorofil. Klorofil A —, Klorofil B —, Total Klorofil — (B) Hasil identifikasi pigmen karoten, dan antosianin pada umur pengamatan yang berbeda. Karoten —, Antosianin —

Berdasarkan hasil analisis yang didapatkan hasil bahwa kandungan pigmen klorofil yang terdiri dari klorofil A pada umur 15 HST yaitu sebesar 2,42 mg/g bb(berat basah) dan pada umur 30 HST yaitu 2,83 mg/g bb, saat memasuki umur 45 HST klorofil A yang dimiliki yaitu sebesar 3,42 mg/g bb, dilanjutkan saat umur 60 HST, klorofil A yang dimiliki daun padi *Black Madras* yaitu 3,26 mg/g bb, saat umur 75 HST klorofil A yang dikandung padi *Black Madras* yaitu 2,87 mg/g bb. Berikutnya pengamatan pada kandungan klorofil B pada daun pada *Black Madras* pada saat 15 HST diketahui yaitu sebanyak 0,89 mg/g bb, setelah memasuki umur 30 HST klorofil B mencapai 0,94 mg/g bb, dan selanjutnya pada saat memasuki 45 HST, klorofil B yang terkandung yaitu sebesar 2,97 mg/g bb. Saat umur 60 HST klorofil B yang dimiliki yaitu mencapai 4,29 mg/g bb, selanjutnya saat telah mencapai umur 75 HST, diketahui kandungan klorofil B yaitu sebanyak 1,14 mg/g bb. Total klorofil yang merupakan akumulasi dari hasil klorofil A dan juga klorofil B juga diamati, hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada saat umur 15 HST total klorofil yang ada pada tanaman padi *Black Madras* yaitu sebesar 3,31 mg/g bb, saat umur 30 HST total klorofil mencapai 3,77 mg/g bb, setelah memasuki umur 45 HST, total klorofil pada daun padi *Black Madras* yaitu sebanyak 6,20 mg/g bb, pada pengamatan saat umur 60 HST kandungan total klorofil yang ada yaitu mencapai 7,63 mg/g bb. Selanjutnya saat umur 75 HST kandungan pigmen total klorofil yaitu mencapai 4,02 mg/g bb.

Kandungan pigmen klorofil baik klorofil A, klorofil B, maupun Total klorofil diamati dengan uji lanjut polinomial ortogonal didapatkan bahwa membentuk pola kuadrat, dari hasil analisis juga ditemukan bahwa kandungan Klorofil A akan memiliki kandungan pigmen yang optimal pada umur 54 Hari Setelah tanam dengan kandungan pigmen yaitu mencapai 3,42 mg/g bb. Pada analisa pigmen klorofil B, pigmen ini dapat diprediksi memiliki kandungan optimalnya saat memasuki umur 50 Hari Setelah Tanam, dengan memiliki kandungan pigmen Klorofil B yaitu sebesar 8,12 mg/g bb. Klorofil total juga dianalisa dengan menggunakan uji lanjut polinomial dan didapatkan hasil bahwa pada umur 50 Hari Setelah Tanam memiliki kandungan total klorofil sebanyak 8,73 mg/bb.

Grafik B menunjukkan data hasil pengamatan kandungan pigmen antosianin dan juga pigmen karoten yang terdapat pada daun padi *Black Madras*, pada *line* yang berwarna ungu yang menunjukkan hasil kandungan pigmen antosianin, diketahui bahwa kandungan pigmen antosianin mengalami peningkatan dari umur 15 HST sampai mencapai umur 75 HST, antosianin yang terdapat saat umur 15 HST yaitu sebanyak 0,23 mg/g bb, dilanjutkan saat umur 30 HST, kandungan antosianinnya yaitu sebanyak 0,27 mg/g bb, saat memasuki umur 45 HST antosianin yang dikandung yaitu sebanyak 0,54 mg/g bb, kemudian pada umur 60 HST, pigmen antosianin yang terdapat pada daun padi *Black Madras* yaitu sebanyak 1,26 mg/g bb, dan pada umur 75 HST yaitu mencapai 3,43 mg/g bb. Pigmen karoten juga ditemukan pada daun padi *Black Madras* serta diketahui juga bahwa pada saat umur 15 HST, karoten yang ada pada daun padi *Black Madras* yaitu sebanyak 0,99 mg/g bb, kemudian 30 HST yaitu 1,09 mg/g bb, dan berikutnya 45 HST yaitu 1,30 mg/g bb, dan saat umur 60 HST yaitu 1,24 mg/g bb, dan saat umur 75 HST pigmen karoten yang dimiliki yaitu sebanyak 1,07 mg/g bb.

Klorofil merupakan pigmen yang ada pada setiap tanaman, pigmen klorofil terdiri dari klorofil A, klorofil B, dan total klorofil. Kandungan pigmen klorofil A selama fase vegetatif memiliki hasil yang tinggi dibandingkan dengan kandungan klorofil B, namun pada umur 60 HST kandungan klorofil A memiliki hasil yang lebih rendah dibandingkan dengan kandungan klorofil B yang meningkat, akan tetapi pada umur 75 HST kandungan klorofil A lebih tinggi dibandingkan dengan klorofil B yang pada umur 75 HST mengalami penurunan. Penurunan kandungan pigmen menandai juga adanya kenaikan pigmen lainnya sehingga terdapat juga suatu perubahan tugas atau fungsi pigmen, seperti yang sudah dijelaskan, hasil tersebut dapat terjadi karena adanya proses fotosintesis yang berlangsung pada umur 15 sampai 45 HST dan juga terjadi pada umur 75 HST yang memiliki klorofil A lebih tinggi tersebut dapat sedang terjadi proses pembentukan klorofil B yang dilakukan oleh klorofil A, dan untuk umur 60 HST yang memiliki kandungan klorofil B lebih tinggi tersebut dapat diketahui proses penyerapan cahaya berada pada fotosistem I (Maghfiroh, 2017) ditambahkan juga oleh Davies (2004) bahwa jumlah pigmen klorofil A dan B tersebut dipengaruhi oleh proses pada fotosistem I terhadap

fotosistem II serta komposisi dari *light harvesting complexes* dimana kandungan klorofil A akan lebih tinggi jika berada pada proses fotosistem serta terjadi pembentukan klorofil B yang dilakukan oleh klorofil A pada saat terjadinya reaksi fotosintesis, sedangkan pada *light harvesting complexes* yang merupakan proses pemanenan cahaya oleh antena protein maka jumlah klorofil B akan lebih tinggi. Hasil analisis diatas juga menunjukkan bahwa dengan bertambahnya umur tanaman maka kandungan pigmen klorofil baik klorofil A, B, total klorofil serta karoten mengalami peningkatan, dan terjadi penurunan pada saat memasuki umur 75 HST. Penurunan saat memasuki umur 75 HST tersebut terjadi karena umur tanaman berpengaruh bagi kemampuan dari kloroplas karena telah memasuki masa tua atau biasa disebut masa *senescence*, pada awal masa *senescence* klorofil mengalami penurunan (Saati, dkk. 2019). Berdasarkan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Hidayati, *et al* (2016) pada tanaman padi yang memiliki daun warna hijau, salah satunya yaitu varietas ciherang, kandungan total klorofil selama fase vegetatif yaitu mencapai 5,5 mg/g dan itu lebih tinggi jika dibandingkan dengan rata-rata kandungan klorofil pada padi *Black Madras* selama fase vegetatif yaitu sebesar 4,98 mg/g. Kandungan pigmen antosianin yang diuji dengan uji lanjut polinomial ortogonal menunjukkan hasil yang linier, dimana pada setiap 1 hari pengamatan didapatkan penambahan kandungan pigmen sebesar 0,049 mg/g bb. Perubahan juga terjadi pada pigmen antosianin yang selama fase pertumbuhan semakin meningkat, hal tersebut senada dengan yang dinyatakan oleh Johnson (1981) bahwa pada tanaman selama proses pertumbuhan pada daun juga akan mengalami perubahan, dan perubahan itu tidak hanya pada morfologi dari daun tersebut, tetapi juga perubahan-perubahan aktivitas metabolik yang berlangsung pada daun, sehingga hal tersebut menyebabkan perubahan kandungan pigmen yang terjadi selama fase vegetatif.

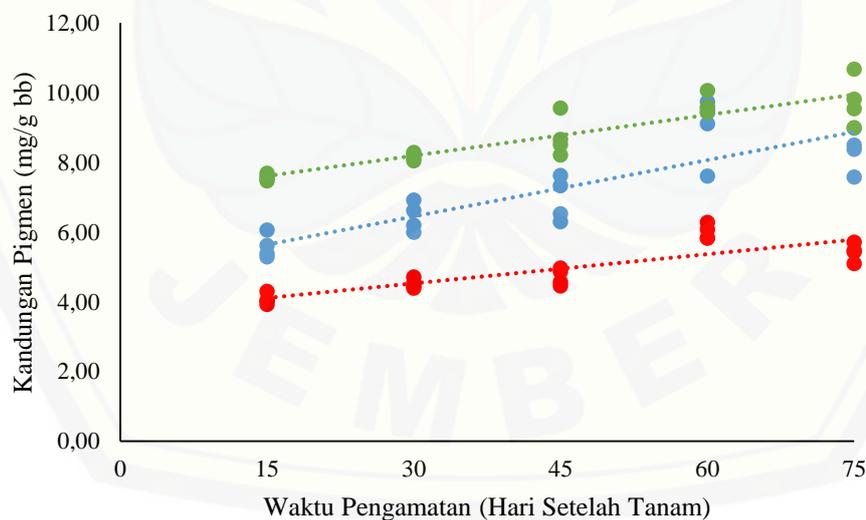
Pigmen klorofil merupakan pigmen yang kita kenal sebagai pigmen yang melakukan proses fotosintesis pada tanaman, kandungan pigmen klorofil pada tanaman juga tidak dapat melebihi kapasitas yang ada, karena akan berakibat buruk pada tanaman, oleh karena itu klorofil kemudian akan dilepaskan atau akan digunakan untuk melakukan metabolisme atau beraksi dengan senyawa-senyawa

yang ada, klorofil tidak hanya dimanfaatkan tanaman saja, akan tetapi pemanfaatannya juga dapat mendukung bagi industri pangan dan kesehatan, kondisi saat ini yang membutuhkan keamanan dalam kondisi pangan dapat memanfaatkan klorofil sebagai bahan pewarna alami bagi bahan pangan, selain itu pemanfaatannya juga dimanfaatkan sebagai suplemen, serta dapat dimanfaatkan dalam dunia peternakan karena juga bisa dimanfaatkan sebagai suplemen yang dicampurkan dalam pakan ternak (Davies, 2004). Klorofil bagi manusia saat ini semakin dipertimbangkan kegunaannya, karena memiliki manfaat dalam dunia kesehatan seperti dapat digunakan sebagai *photosensitizer*, penambah sel darah merah, antibakteria, serta antioksidan guna mengatasi radikal bebas (Costa, dkk. 2009). Tanaman tidak hanya memiliki pigmen klorofil, terdapat juga pigmen karoten, karoten merupakan pigmen yang memberi warna merah ataupun jingga, karoten sama seperti klorofil yaitu sama-sama terdapat pada kloroplas, karoten bersifat larut dalam lemak, karoten dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami, dapat juga dimanfaatkan untuk mengatasi radikal bebas, selain itu juga mengkonsumsi pangan yang memiliki kandungan karoten juga akan meminimalisir dari penyakit kanker (Astawan dan Andreas, 2008), bagi tanaman disampaikan oleh (Costa, dkk. 2009) bahwa karoten memiliki peran yaitu sebagai pendukung klorofil untuk menyerap cahaya matahari yang selanjutnya diteruskan ke klorofil sebagai pusat reaksi, selain itu, karoten juga berperan dalam melingi klorofil dari penyerapan cahaya yang berlebih.

Antosianin juga merupakan salah satu pigmen yang ada pada tanaman, pigmen ini memberikan warna merah, ungu, kuning dan juga biru, seperti pigmen yang sudah dijelaskan sebelumnya, pemanfaatan antosianin ini dapat meliputi sebagai pewarna alami serta sebagai sumber antioksidan, antosianin merupakan salah satu senyawa dari golongan flavonoid (Ilham dan Sumarni, 2020). Pembentukan antosianin pada tanaman dipengaruhi oleh faktor seperti kondisi pH, serta juga adanya kopigmen, sintesis antosianin diawali dengan phenylalanine yang melewati beberapa proses sintesis oleh beberapa enzim dan nantinya terbentuk antosianin pada vakuola (wang, *et al.* 2017) Antosianin merupakan salah satu pigmen yang terdapat pada tanaman dan terletak pada vakuola, fungsi pigmen

antosianin pada tanaman adalah melindungi tanaman dari serangan hama serta juga untuk memancing serangga yang dapat membantu proses penyerbukan pada tanaman (Syah dan Sukartini, 2009). Priska, dkk (2018) juga menambahkan, antosianin yang terletak pada vakuola menyebabkan keberadaan antosianin yang bisa ditemukan pada organ seperti daun, batang, juga pada mahkota bunga, selain itu antosianin dapat pula ditemukan pada umbi-umbian, biji, juga buah. Salah satu penelitian pada daun *Caladium*, kandungan antosianin yang ditemukan yaitu berkisar 0,002-0,057 mg/g, dan untuk daun padi *Black Madras* memiliki kandungan pigmen yang lebih tinggi karna mengandung pigmen antosianin sebesar 0,23-3,43 mg/g bb. Berdasarkan kandungan tersebut pigmen antosianin pada padi *Black Madras* dapat digunakan sebagai bahan-bahan farmaseutikal, karena kemampuan antosianin yang memiliki manfaat sebagai antioksidan.

#### 4.4 Kandungan Pigmen Fikosianin, Fikoeritrin, dan Allofikosianin Padi *Black Madras*



Gambar 4.4 Pigmen Fikosianin, Fikoeritrin, dan Allofikosianin Padi *Black Madras*

Keterangan : Hasil identifikasi kandungan pigmen fikosianin, fikoeritrin, dan allofikosianin sampel daun padi *Black Madras* dengan waktu pengamatan yang berbeda. Fikosianin —, Fikoeritrin —, dan Allofikosianin —

Berdasarkan hasil pengamatan pada daun padi *Black Madras* saat memasuki umur 15, 30, 45, 60, serta 75 HST didapatkan hasil bahwa kandungan pigmen fikosianin, dan fikoeritrin dengan bertambahnya umur tanam sampai pada umur 60 HST mengalami peningkatan, dan terjadi penurunan saat memasuki umur 75 HST, namun untuk pigmen allofikosianin mengalami peningkatan dari umur 15 HST sampai dengan umur 75 HST. Hasil pengamatan dapat dilihat pada gambar dibawah berikut (Gambar 4.3).

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa pigmen fikosianin pada umur 15 HST yaitu sebanyak 5,59 mg/g bb, saat umur 30 HST memiliki kandungan pigmen fikosianin sebanyak 6,43 mg/g bb, ketika umur 45 HST fikosianin yang dimiliki yaitu sebanyak 6,94 mg/g bb, pada saat memasuki umur 60 HST pigmen fikosianin mencapai 8,98 mg/g bb dan mengalami penurunan saat memasuki umur 75 HST dengan kandungan fikosianin sebanyak 8,35 mg/g bb. Pigmen fikoeritrin pada saat umur 15 HST yaitu mencapai 4,07 mg/g bb, kemudian 30 HST sebanyak 4,52 mg/g bb, dan pada 45 HST sebanyak 4,71 mg/g bb, pada pengamatan saat umur 60 HST, pigmen fikoeritrin mencapai 6,00 mg/g bb dan saat memasuki umur 75 HST yaitu sebanyak 5,43 mg/g bb pigmen fikoeritrin. Kandungan pigmen allofikosianin memiliki hasil yaitu untuk umur 15 HST sebanyak 7,57 mg/g bb, pada 30 HST yaitu 8,17 mg/g bb, dan umur 45 HST sebanyak 8,73 mg/g bb, ketika memasuki umur 60 HST allofikosianin pada daun padi *Black Madras* yaitu 9,65 mg/g bb dan untuk umur 75 HST sebesar 9,76 mg/g bb. Pigmen dengan jumlah tertinggi yaitu pada pigmen allofikosianin, pigmen allofikosianin merupakan pigmen yang memancarkan warna biru kehijauan. Kandungan pigmen yang terdiri dari fikosianin, fikoeritrin, dan allofikosianin, diuji lanjut dengan uji polinomial ortogonal dimana hasil yang didapatkan yaitu untuk ketiga pigmen tersebut memiliki hasil yang linear, dan menunjukkan hasil bahwa pada pigmen fikosianin dalam setiap 4 hari pengamatan akan ditemukan perubahan kandungan pigmen yaitu sebesar 0,053 mg/g bb, pada pigmen allofikosianin dalam pengamatan setiap 7 hari didapatkan hasil bahwa terjadi perubahan sebesar 0,039 mg/g bb, sedangkan pada pigmen fikoeritrin didapatkan hasil bahwa setiap 3 hari pengamatan didapatkan perubahan pigmen yaitu 0,028 mg/g bb

Pigmen total fikobilin merupakan pigmen yang terdiri dari pigmen fikosianin, allofikosianin, dan juga pigmen fikoeritrin. Pigmen fikosianin, fikoeritrin, dan allofikosianin pada saat ini banyak diambil dari ekstraksi yang didapat dari rumput laut maupun alga, ketiga pigmen tersebut pada bidang kesehatan merupakan pigmen yang kaya akan manfaat seperti dapat digunakan dalam pengobatan kanker, penangkal radikal bebas, serta dapat dimanfaatkan pula dalam industri makanan yang memerlukan bahan pewarna alami guna memenuhi penyedia pangan yang sehat dan juga aman (Djunaedi, dkk. 2017). Kandungan pigmen yang terdiri atas pigmen fikosianin, allofikosianin, serta fikoeritrin, yang kemudian diakumulasikan dengan penghitungan berdasarkan persamaan dari Bennet dan Bogorad yang pada umumnya digunakan untuk mengetahui jumlah kandungan fikobiliprotein (1973). Pigmen fikoeritrin, fikosianin, dan allofikosianin merupakan pigmen yang larut dalam air atau bersifat *soluble*, pigmen ini merupakan pigmen protein kompleks yang maksudnya merupakan pigmen yang berasosiasi dengan protein, tiga pigmen tersebut terletak pada fikobilisom, yang mana fikobilisom merupakan protein dengan sifat kompleks dan nantinya bermuara pada membran tilakoid (Stadnichuk and Tropin. 2016), pada membran tilakoid tersebut fikobilisom membawa struktur dari beberapa pigmen yaitu fikosianin, allofikosianin, serta fikoeritrin.

Dari data penelitian diatas dapat dilihat bahwa, dengan bertambahnya umur pada saat fase vegetatif menyebabkan peningkatan pada pigmen allofikosianin sampai pada umur 75 HST, akan tetapi pada kandungan dari pigmen fikosianin, serta pigmen fikoeritrin mengalami peningkatan, namun pada saat tanaman padi *Black Madras* sudah memasuki umur 75 Hari Setelah Tanam terjadi penurunan kandungan pigmen tersebut, Yang, *et al* (2014) menyatakan bahwa tanaman yang mengalami perubahan kandungan pigmen tersebut terjadi karena adanya proses fase vegetatif yang berlangsung atau juga dapat dikatakan tanaman mengalami penuan karena umur tanaman menyebabkan perubahan-perubahan kemampuan dalam sistem tanaman yang salah satunya yaitu adanya penerunan proses metabolisme yang terjadi sehingga menyebabkan kandungan pigmen mengalami penurunan, selaras dengan pernyataan tersebut, tanaman padi *Black Madras* yang menurut

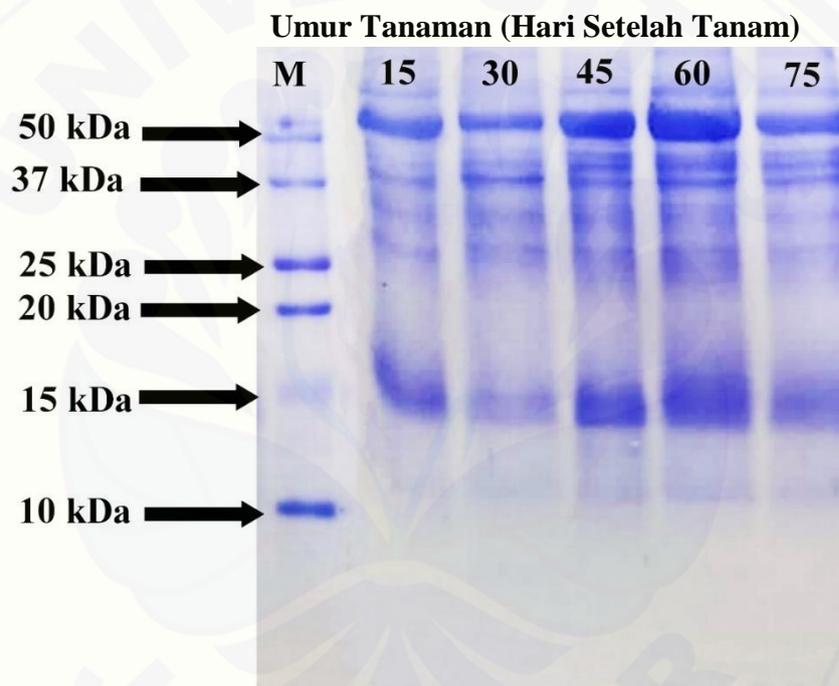
(Siswoyo dan Ubaidillah, 2018) memiliki fase vegetatif sampai pada umur 73 hari, dengan pernyataan tersebut dapat dijelaskan bahwa penurunan kandungan pigmen terjadi akibat perubahan umur pada tanaman yang mana tanaman mengalami penuaan serta telah memasuki peralihan menuju fase generatif.

Pigmen fikosianin, fikoeritrin, dan allofikosianin merupakan pigmen yang kaya akan manfaat, pada saat ini pigmen tersebut digunakan dalam industri pangan, kosmetik, serta kesehatan, seperti yang disampaikan Stadnichuk and Tropin (2016) bahwa pemanfaatan pigmen fikosianin, allofikosianin, serta fikoeritrin seperti pada bidang farmasi yaitu sebagai penangkal radikal bebas, dapat digunakan dalam pengobatan kanker karena dapat digunakan sebagai *photosensitizer* dalam proses terapi penyembuhan kanker, tidak hanya dalam bidang kesehatan, tapi dalam industri pangan juga dapat digunakan sebagai pewarna alami serta dapat digunakan dalam bahan suplemen, selain itu pemanfaatan juga dapat meliputi sebagai pasta gigi, parfum, serta bahan pembuatan *body lotions*.

#### **4.5 Profil Protein (SDS-PAGE) Daun Padi *Black Madras***

Gambar dibawah (Gambar.4.5) tersebut menunjukkan hasil SDS-PAGE, dimana berdasarkan gambar yang ada, pita-pita protein dengan semakin bertambahnya umur tanam sampai pada 60 HST mengalami penebalan, dan pada umur 75 HST mengalami pemudaran. Molekul pita-pita protein semakin menebal tersebut dapat diartikan bahwa kandungan protein daun padi *Black Madras* semakin meningkat, molekul protein dengan ukuran nilai yang kecil akan memiliki letak posisi berada dibawah dari molekul protein yang lebih besar, seperti hasil elektroforesis tersebut pada umur 60 HST memiliki protein yang paling besar hal tersebut terlihat dari tebalnya pita protein yang ada, dimana ukuran pita tersebut yaitu 37 kDa (Masyitoh, dkk. 2016), Hasil tersebut juga mendukung bahwa pada daun padi *Black Madras* memiliki pigmen protein di dalamnya, dan dari hasil tersebut juga dapat menunjukkan bahwa semakin bertambahnya umur tanaman, pigmen protein yang terdapat pada daun *Black Madras* mengalami peningkatan sampai pada umur 60 HST dan terjadi penurunan saat memasuki 75 HST. Protein bagi tanaman merupakan hal yang penting karena protein dilibatkan dalam proses

fotosintesis (Ai, 2012) ditambahkan juga oleh (Baker and Habershon, 2017) bahwa pigmen protein sangat penting dalam proses pemanenan cahaya, dan juga pigmen protein kompleks pada tanaman dapat berdampak terhadap proses transfer energi yang menjadi lebih efisien. Tidak hanya menunjukkan adanya pigmen protein, kandungan protein pada daun padi *Black Madras* yang sudah diamati tersebut, dapat menjelaskan bahwa manfaat suatu bahan yang memiliki kemampuan sebagai imunogenik, antibodi, vaksin atau juga digunakan dalam terapi penyakit sehingga mampu digunakan sebagai bahan farmaseutikal dengan memanfaatkan protein pada berat molekul tertentu (Masyitoh, dkk. 2016).



Gambar 4.5 Elektroforesis SDS-PAGE pada daun padi *Black Madras* selama fase vegetatif

#### 4.6 Aktivitas Antioksidan Daun Padi *Black Madras*

Tanaman padi *Black Madras* merupakan tanaman yang mampu mengatasi radikal bebas, aktivitas antioksidan daun padi *Black Madras* diamati dengan metode ABTS, hidroksil, serta superoksida. Pengukuran dengan metode ABTS menggunakan panjang gelombang 734 nm, hidroksil pada panjang gelombang 532 nm, dan superoksida dengan *time scan* pada panjang gelombang 320nm selama 4 menit. Berdasarkan tabel 4.6 dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan daun padi

*Black Madras* pada metode peredaman radikal ABTS dan peredaman radikal hidroksil semakin meningkat, dan untuk metode superoksida, aktivitas antioksidan daun padi *Black Madras* memiliki nilai yang menurun lalu mengalami peningkatan. Hasil pengamatan yang juga diuji lanjut dengan menggunakan uji DMRT pada taraf kepercayaan 95% menunjukkan hasil bahwa pada nilai IC-50 peredaman radikal ABTS menunjukkan bahwa pada umur 30 dan 45 Hari Setelah Tanam yaitu berbeda tidak nyata, pada peredaman radikal hidroksil pada umur 30 dan 45 Hari Setelah Tanaman menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata, sedangkan pada peredaman radikal superoksida, umur 15 sampai dengan 60 memiliki hasil yang berbeda tidak nyata dan terhadap umur 75 Hari Setelah Tanam menunjukkan hasil berrbeda nyata.

Tabel 4.6 Pengamatan Aktivitas Antioksidan Daun Padi *Black Madras* selama fase vegetatif

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	Nilai IC-50 Aktivitas Antioksidan		
	ABTS ( $\mu\text{g/mL}$ )	Hidroksil ( $\mu\text{g/mL}$ )	Superoksida ( $\mu\text{g/mL}$ )
15	25,97 $\pm$ 0,24e	27,78 $\pm$ 0,91e	10,88 $\pm$ 00,29b
30	25,14 $\pm$ 0,25cd	26,36 $\pm$ 0,55cd	10,93 $\pm$ 00,40b
45	25,03 $\pm$ 0,36c	26,30 $\pm$ 0,78c	10,93 $\pm$ 00,69b
60	18,18 $\pm$ 0,46b	23,05 $\pm$ 0,67ab	10,82 $\pm$ 00,73b
75	16,28 $\pm$ 0,29a	22,81 $\pm$ 0,82a	9,37 $\pm$ 01,00a

Keterangan : Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda menunjukkan hasil yang berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

Aktivitas antioksidan pada daun padi *Black Madras* tertinggi dengan metode ABTS terdapat pada umur 75 HST yaitu 16,28  $\mu\text{g/mL}$ , pada umur 15 HST yang memiliki nilai terendah dengan 25,97  $\mu\text{g/mL}$ , dilanjutkan dengan umur 30 HST yaitu 25,14  $\mu\text{g/mL}$ , pada umur 45 HST dengan nilai IC-50 yaitu 25,03  $\mu\text{g/mL}$ , dan ketika berumur 60 HST memiliki nilai yaitu 18,18  $\mu\text{g/mL}$ . Metode Hidroksil menunjukkan hasil bahwa pada saat umur 15 HST nilai IC-50 pada ekstrak daun padi *Black Madras* yaitu 27,78  $\mu\text{g/mL}$ , ketika berumur 30 HST memiliki nilai IC-50 sebesar 26,36  $\mu\text{g/mL}$ , dilanjutkan dengan umur 45 HST yaitu 26,30 HST, dan umur 60 HST yaitu 23,05  $\mu\text{g/mL}$ , dan saat umur 75 HST yaitu 22,81  $\mu\text{g/mL}$ . Pengamatan pada peredaman radikal superoksida dapat diketahui bahwa pada saat umur 15 HST

memiliki nilai IC-50 sebesar 10,88  $\mu\text{g/mL}$ , umur 30 HST dan 45 HST yaitu sebesar 10,93  $\mu\text{g/mL}$ , saat memasuki umur 60 HST yaitu 10,82  $\mu\text{g/mL}$ , dan ketika memasuki umur 75 HST yaitu sebesar 9,37  $\mu\text{g/mL}$ .

Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal adanya radikal bebas, bagi tubuh antioksidan dapat diperoleh dengan 2 cara, yang pertama yaitu didapatkan dari dalam tubuh, dan yang kedua yaitu dengan memberi input bahan-bahan yang mampu memberikan antioksidan bagi tubuh seperti mengkonsumsi buah-buahan yang memiliki kandungan antioksidan tinggi ataupun mengkonsumsi konsumen yang mampu menghasilkan antioksidan bagi tubuh. Radikal bebas pada tubuh didapatkan dari sisa-sisa polutan yang dihasilkan dari lingkungan, juga adanya radiasi yang diterima oleh tubuh serta adanya sisa-sisa obat yang masih belum diproses oleh tubuh sehingga terjadi pengendapan dan akan membentuk radikal bebas di dalam tubuh (Firdaus, 2019). Hasil dari ekstraksi daun padi *Black Madras* menunjukkan bahwa daun padi *Black Madras* memiliki kemampuan untuk menangkal radikal bebas, karena memiliki nilai IC-50 yang tinggi, dari data tersebut juga dapat dilihat bahwa semakin bertambahnya umur tanaman padi *Black Madras* tersebut, maka aktivitas antioksidannya pun juga semakin meningkat, terbukti dari hasil dari peredaman radikal ABTS, hidroksil, serta superoksida menunjukkan nilai yang semakin rendah, dan hal itu mengartikan bahwa aktivitas antioksidannya tinggi.

Aktivitas antioksidan pada daun padi *Black Madras* yang semakin tinggi dapat diduga karena adanya kandungan pigmen yang terdapat pada daun tersebut. Data hasil analisis pigmen pada daun padi *Black Madras* yang sudah ditunjukkan diatas tersebut, jika dilihat maka aktivitas antioksidan yang tinggi ini dapat dihasilkan dari kandungan pigmen-pigmen yang dimiliki daun padi *Black Madras*, salah satu pigmen yang berpengaruh yaitu kandungan pigmen antosianin yang semakin meningkat, hal itu senada dengan yang dikatakan oleh Priska, dkk (2018) bahwa antosianin merupakan senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antioksidan alami dan mampu menghancurkan radikal bebas di dalam tubuh manusia, dengan kandungan pigmen antosianin yang meningkat pula, maka terjadi peningkatan pada

gugus hidroksil fenolik yang ada sehingga kemampuan dalam menangkal radikal bebas atau kemampuan aktivitas antioksidan yang dimiliki terjadi peningkatan.

Radikal bebas didalam tubuh manusia disebabkan karena adanya ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang merupakan oksidan dan bersifat tidak stabil dan juga karena disebabkan atom yang tidak berpasangan. Hal tersebut membuat tubuh memiliki pertahanan yaitu antioksidan baik dari dalam maupun dari luar tubuh. Antioksidan bisa didapatkan dari buah dan sayur, sumber alami antioksidan dapat diperoleh dari golongan flavonoid. *Reactive Oxygen Species* jika dibiarkan akan menjadi munculnya sumber penyakit pada manusia seperti kanker, asma, hepatitis, serta stroke, oleh sebab itu penting bagi kita untuk mengkonsumsi sumber pangan yang memiliki kandungan antioksidan yang tinggi, karena dengan adanya antioksidan, maka proses oksidasi di dalam tubuh dapat dihambat sehingga resiko timbulnya penyakit akan mengecil (Suranto, 2011).

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapat berdasarkan hasil penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Kandungan pigmen yang ada pada daun padi Black Madras terdiri dari pigmen klorofil, karoten, antosianin, fikosianin, allofikosianin, serta fikoeritrin.
2. Kandungan pigmen pada padi Black Madras selama fase vegetatif terjadi peningkatan sejak umur 15 HST sampai dengan umur 60 HST dan terjadi penurunan ketika memasuki umur 75 HST, namun untuk pigmen antosianin dan allofikosianin dengan bertambahnya umur kandungan pigmennya semakin meningkat.
3. Berdasarkan uji polinomial juga ditemukan bahwa kandungan pigmen daun padi *Black Madras* akan memiliki kandungan optimal pada umur 50 Hari Setelah Tanam.

### 5.2 Saran

Berdasarkan informasi dari penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menambahkan variabel yaitu sintesis atau proses pembentukan dari pigmen pada daun padi *Black Madras* serta perlu dilakukan pula pengamatan dengan jarak pengamatan yang lebih dipersempit lagi untuk mengetahui bagaimana pola perubahan pigmen yang terjadi.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Ai. N. S. 2012. Evolusi Fotosintesis pada Tumbuhan. *Ilmiah Sains*, 12 (1) : 28-34.
- Astawan. M, dan Andreas. L. K. 2008. *Khasiat Warna-Warni Makanan*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Baker L. A, and Habershon S. 2017. Photosynthetic pigment-protein complexes as highly connected networks: implications for robust energy transport. *Proc. R. Soc. A*, 473:20170112
- Bennett, A. and L. Bogorad. 1973. Complementary Chromatic Adaptation in a Filamentous Blue-Green Alga. *J. Cell. Biol.* 58: 419-435.
- Bhat, F. M. and Riar. C. S. 2017. Characterizing the Traditional Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars on the Basis of Seed Morphology and Protein Characteristic. *Indian Journal of Plant Sciences*, 6(1) : 39-47.
- Bradford M. M. 1976. A Rapid and Sensitive Method For The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Chatha, S. A. S., F. Anwar, M. Manzoor and J. R. Bajwa. 2006. Evaluation of the Antioxidant Activity of Rice Bran Extracts Using Different Antioxidant Assays. *Grasas Y Aceites*, 57(3): 328-335.
- Costa. J. F. D., Ferry. F. K, dan Leenawaty. L. Efek Beta Karoten dan Agregasi Klorofil pada Fotostabilitas Klorofil *a* dalam Pelarut Aseton. *Natur Indonesia*, 11(2) : 115-123.
- Danniswari. D., Nizar. N, dan Bambang. S. 2019. Fenologi Perubahan Warna Daun Pada *Terminalia catappa*, *Ficus glauca*, dan *Casia fistula*. *Lanskap Indonesia*, 11(1) : 17-25.
- Davies. K. 2004. *Plant Pigments and their Manipulation*. Oxford : Blackwell Publishing Ltd.
- Djunaedi. A., Sunaryo, Chrisna. A. S, dan Adi. S. 2017. Kandungan Pigmen Fikobiliprotein dan Biomassa Mikroalga *Chlorella vulgaris* pada Media Salinitas Berbeda. *Kelautan Tropis*, 20(2) : 112-116.
- Faizal. R., Raden. S, dan Sigit. S. 2017. Karakter Fisiologis dan Produksi Padi Raton yang di Aplikasi *Synechococcus* sp. dan Pupuk Organik. *AGRITOP*, 15(2) : 162-180.

- Febriyanto. Y, dan Kiki. S. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Selada Merah (*Lactuca sativa* var. *acephala*) dengan Mengguakan 1,1-Difenyl-2-Picrylhyrazyl (DPPH). *Famasi & Sains Indonesia*, 2(2) : 36-41.
- Filho. J. M. B., Adriana. A. A, Xirley. P. N, Anna. C, D. A. T, Jose. G, Sena. F, Petronio. F, Athayde. F, Marcelos. S. S, Maria. F. V. D. S, and Emidio. V. L. D. C. 2008. Sources of alpha-, beta-, gamma-, delta- and epsilon-carotenes: A twentieth century review. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18(1) : 135-154.
- Firdaus. M. 2019. *Pigmen Rumput Laut dan Manfaat Kesehatannya*, Malang : UB Press.
- Giusti. M. M, dan Wrosltad. R. E. 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1(1): 1-13.
- Guntarti. A., dan Ruliyanti A. Penetapan Flavonoid Total dan Aktivitas Antioksidan Bayam (*Amaranthus tricolor* L.) Varietas GITI MERAH dan GITI HIJAU. *Farmasi Sains dan Praktis*, 6(1) : 51-59.
- Harmoko dan Sepriyaningsih. 2019. *Monograf Bioindikator Sungai dengan Mikroalga (Studi Kasus di Sungai Kelingi Kota Lubuklinggau)*. Deepublish: Yogyakarta.
- Hendriyani. I. S, Yulia. N, dan Nintya. S. 2018. Kandungan Klorofil dan Karetonoid Kacang Tunggak (*Vigna unguiculata*(L) Walp.) pada Umur Tanam yang Berbeda. *Biologi Tropika*, 1(2) : 38-43.
- Herlina. D. N., T.R.T. Nesha, F. Noor, A. Okki, D. Ebigail, dan A. Darmawati. 2017. Pengaruh Pemberian Beras Merah Terhadap Kadar Gula Darah Tikus Wistar. *Media Medika Muda*, 2(2): 83-88.
- Hidayati. N., Triadiati, and Anas. I. 2016. Photosynthesis and Transpiration Rates of Rice Cultivated Under the System of Rice Intensification and the Effects on Growth and Yield. *HAYATI Journal of Bioscience*, 23(1) : 67-72.
- Ilham. M. dan, Sumarni. 2020. Ekstraksi Antosianin dari Kulit Bawang Merah Sebagai Pewarna Alami Makanan. *Inovasi Proses*, 5(1) : 27-32.
- Jamilah., Ahmad. R, dan Ernita. M. 2020. Penggunaan Pupul Cair *Chromolaena odorata* dan Kalium Dalam Menekan Kehampaan dan Meningkatkan Hasil Padi Ungu Black Madras. *Agronida*, 6(1) : 55-63.
- Johnson. C. B. 1981. *Physiological Processes Limiting Plant Productivity*. London : The Camelot Southampton Press.

- Josie. E. H. 2019. *Membuat Tabulampot Rajin Berbuah*. Tangerang : PT. AgroMedia Pustaka.
- Kannaujiya V.K., Singh P.R., Kumar D., Sinha R.P. (2020) Phycobiliproteins in Microalgae: Occurrence, Distribution, and Biosynthesis. In: Jacob-Lopes E., Queiroz M., Zepka L. (eds) *Pigments from Microalgae Handbook*. Springer
- Kim. C. K., Young. S, Younhee. S, Hye. M. L, Gang. S. L, Aram. K, Tae. H. L, Jae. H. L, Dong. S. P, Seungil. Y, Yong. H. K, dan Yong. K. K. 2015. Whole-Genome Resequencing and Transcriptomic Analysis to Identify Genes Involved in Leaf-Color Diversity in Ornamental Rice Plants. *PLoSone*, 10(14): 1-17.
- Kumar, G. P., K. Navyaa, E. M. Ramya, M, Venkatarama, 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 Antioxidant*, 3(2013) : 35-39.
- Lee. R. E. 2008. *Phycology*. New York : Cambridge University Press
- Lichtenthaler, H. K. (1987). *Chlorophylls and Carotenoid : Pigments of Photosynthetic Biomembranes*. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
- Lingga. L. 2010. *Cerdas Memilih Sayuran*. Jakarta Selatan : PT Agromedia Pustaka.
- Masyitoh., Dewanti. I. D. A. R, dan Dyah. S. 2016. Analisis Profil Protein Ekstrak Aquades dan Etanol Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss) dengan Metode SDS-PAGE. *Pustaka Kesehatan*, 4(3) : 533-539.
- Mlodzinska. E. 2009. Survey of Plant Pigment : Molecular and Environmental Determinants of Plant Colors. *Acta Biologica Cracoviensia*, 51(1) : 7-16.
- Mulyani. S. 2019. *Anatomi Tumbuhan*. Sleman : PT. Kanisius.
- Muntana, N and S. Prasong. 2010. Study on Total Phenolic Contents and Their Antioxidant Activities of Thai White, Red and Black Rice Bran Extracts. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(4):170-174.
- Mustikarini. E. D., Tri. L, dan Gigih. I. B. 2019. *Plasma Nutfah Tanaman Potensial di Bangka Belitung*. Ponorogo : Uwais Inspirasi Indonesia.
- Nielsen, S.S.2010.*Food AnalysisFourth Edition*. London : Springer.

- Niu. J. F., Guang. C. W, dan Chen. K. T. 2006. Method for large-scale isolation and purification of R-phycoerythrin from red alga *Polysiphonia urceolata* Grev. *ELSEVIER*, 49(1): 23-31.
- Nur. M. M. A. 2014. Potensi Mikroalga sebagai Sumber Pangan Fungsional di Indonesia. *Eksergi*, 11(2): 1-6.
- Palawe. J. F. P, dan Sri. B. T. 2018. Analisis Kandungan Karotenoid Sebagai Anti Oksidan dari Rumput Laut (*euccema cottoni*). *Jurnal Ilmiah Tandalung*, 4(1) : 6-9.
- Palobo. F., Tirajoh. S, dan Thamrin. M. 2019. Pengembangan Padi Sawah Melalui Pendekatan Pengelolaan Ramah Lingkungan di Kabupaten Merauke. *Budidaya Pertanian*, 15(1) : 44-50.
- Pandey. V. D., Anita. P, dan Vibhu. S. 2013. Biotechnological Applications of Cyanobacterial Phycobiliproteins. *Current Microbiology Applied Sciences*, 2(9): 89-97.
- Porra. R. J, Thompson. W. A, dan, Kriedemann. P. E. 1989. Determination of Accurate Extinction Coefficients and Simultaneous Equations for Assaying Chlorophylls a and b, Extracted with Four Different Solvent : Verification of the Concentration of Chlorophyll Standards by Atomic Absorption Spectroscopy. *Elsevier*, 975(1) : 384-394
- Priska. M., Natalia. P, Ludovicus. C, dan Yulius. D. N. 2018. Review : Antosianin dan Pemanfaatannya. *Cakra Kimia*, 6(2): 79-97.
- Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal Kementerian Pertanian. 2019. *Buletin Konsumsi Pangan*, 10 (1): 1-96.
- 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
- Rembang. J. H. W., Abdul. W. F, dan Joula. O. M. S. 2018. Karakter Morfologi Padi Sawah Lokal di Lahan Petani Sulawesi Utara (Morphological Character of Local Irrigated Rice on Farmer Field in North Sulawesi). *Bul Plasma Nuftah*, 24(1): 1-8.
- Richa., Vinod. K. K, Minu. K, Garvita. S, dan Rajeshwar. P. S. 2011. Biotechnological Potentials of Phycobiliprotein. *Pharma and Bio Sciences*, 2(4) : 446-454.

- Romay. C., Gonzalez. R, Ledon. N, Remirez. D, dan Rimbau. V. 2003. C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. *Current Protein and Peptide Science*, 4(3): 207-216.
- Saati. E. A., Mochammad. W, Mohammad. N, Sri. W, Muhammad. L. A. Rohman. 2019. *Pigmen Sebagai Zat Pewarna dan Antioksidan Alami (identifikasi pigmen bunga, pembuatan produknya serta penggunaannya)*. Malang : ummpress.
- Sa'diyah. M., Alfianto. E, Mohammad. N. H, dan Dycka. A. 2018. Potensi Rumput Laut *Gracilariasp* Sebagai Bahan Alternatif Dye Sensitized Solar Cell (DSSC). *Teknologi Maritim*, 1(1): 25-30.
- Setiari. N., dan Yulita. N. 2009. Eksplorasi Kandungan Klorofil pada beberapa Sayuran Hijau sebagai Alternatif Bahan Dasar Makanan Tambahan. *BIOMA*, 11(1): 6-10.
- Stadnichuk. I. N and, Tropin. I. V. 2016. Phycobiliproteins : Structure, Functions and Biotechnological Applications. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 53(1) : 1-10
- Supriyadi, A., Arum. L. S, Nugraha, A. S, Ratnadewi, A. A. I., & Siswoyo, T. A. 2019. Revealing Antioxidant and Antidiabetic Potency of Melinjo (*Gnetum gnemon*) Seed Protein Hydrolysate at Different Stages of Seed Maturation. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 7(2) : 479-487.
- Suranto. A. 2011. *Terbukti Pome Tumpas Penyakit*. Depok : Puspa Swara.
- Suryanto. A. 2019. *Teknologi Produksi Tanaman Budidaya*. Malang: UB. Press
- Syah. M. J. A., dan Sukartini. 2009. Potensi Kandungan Antosianin pada Daun Muda Tanaman Mangga sebagai Kriteria Seleksi Dini Zuriat Mangga. *J. Hort*, 19(1) : 23-27.
- Ubaidillah, M., dan T. A. Siswoyo. 2018. *Buku Deskripsi Plasma Nutfah Padi Indonesia*. Yogyakarta: CV Budi Utama
- Usman. Z., Usman. M, dan Adrianton. 2014. Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Padi (*Oryza sativa* L.) pada Berbagai Umur Semai dengan Teknik Budidaya SRI (System Of Rice Intemsification). *Agrotekbis*, 2(1) : 32-37.
- Utama. M. Z. H. 2015. *Budidaya Padi pada Lahan Marjinal : kiat meningkatkan produksi padi*. Yogyakarta: CV. ANDI OFFSET.

- Utama. M. Z. H. 2019. *BUDI DAYA PADI HITAM DAN MERAH –Pada Lahan Marginal dengan Sistem SBSSU*. Yogyakarta: CV. ANDI OFFSET.
- Vinod. K. K., Prashant. R. S, Deepak. K dan, Rajeshwar. P. S. 2020. Phycobiliproteins in Microalgae: Occurrence, Distribution, and Biosynthesis. *Pigment from Microalgae Handbook*. Gewerbestrasse: Springer Nature Switzerland.
- Wang L., Dezhuo. P, Meng. L, Yakubu. S. A, Jian. L, Jingke. L. Shipin. C, and Wei. C. 2017. Regulation of Anthocyanin Biosynthesis in Purple Leaves of Zijuan Tea (*Camellia sinensis* var. *kitamura*). *Molecular Sciences*, 18(4) : 1-16.
- 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.
- Wijaya, H dan L. Junaidi. 2011. Antioksidan: Mekanisme Kerja dan Fungsinya dalam Tubuh Manusia. *Agro-Based Industry*. 28 (2): 44-55.
- Winarto. W. P. 2004. *Memfaatkan Tanaman Sayur untuk Mengatasi Aneka Penyakit*. Tangerang: PT AgroMedia Pustaka.
- Yang. H., Li. J, Yang. J, Wang. H, Zou. J, and He. J. 2014. Effects of Nitrogen Application Rate and Leaf Age on the Distribution Pattern of Leaf SPAD Readings in the Rice Canopy. *Plos One*, 9(2) : 1-11.



LAMPIRAN

Lampiran 1.1 Morfologi Tanaman Padi



Gambar : Morfologi tanaman padi *Black Madras* umur 15 sampai dengan 75 Hari Setelah Tanam.

Lampiran 1.2 Pengukuran Kandungan Pigmen Klorofil

Tabel. Kandungan Klorofil A daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	Klorofil A (mg/g bb)				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	2,35	2,44	2,49	2,41	2,42	0,06
30	2,79	2,81	2,84	2,83	2,82	0,02
45	3,00	3,59	3,56	3,53	3,42	0,28
60	3,29	3,27	3,26	3,20	3,26	0,04
75	2,95	2,99	2,75	2,79	2,87	0,11

Polinomial Kuadratik

$$Y = -0,0007 + 0,0754x + 1,3935$$

$$R^2 = 0,8186$$

$$Y' = 1,3935 + 0,0754 (1) - (2)(0,0007)$$

$$Y' = 0,0754 - 0,0014$$

$$0,0014x = 0,0754$$

$$X = 0,0754/0,0014$$

$$X = 54,21$$

$$Y = 1,3935 + 0,0754x - 0,0007x^2$$

$$Y = 1,3935 + 0,0754(54,21) - (0,0007)(54,21)$$

$$Y = 1,3935 + 4,087 + 2,056$$

$$Y = 3,42$$

Tabel. Sidik ragam Kandungan Klorofil A daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	2,46	0,61	31,26	3,06	4,89	**
Error	15	0,29	0,02				
Total	19	2,75					
FK	174,91						
CV	0,00						

Tabel Uji Lanjut Polinomial Ortogonal Kandungan Klorofil A

	Qi	$\sum C_i^2$	$r\sum C_i^2$	JkQi	F-Hitung	F-Tabel
Linier	5,31	10	50	0,563922	28,7074966	3,06
Kuadratik	-9,29	14	70	1,232915714	62,76386393	3,06

Tabel. Kandungan Klorofil B daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	Klorofil B (mg/g bb)				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	0,80	1,09	0,77	0,88	0,89	0,15
30	0,94	0,93	0,96	0,99	0,94	0,03
45	4,48	2,38	2,04	2,21	2,97	1,15
60	4,27	4,15	4,44	4,64	4,29	0,21
75	1,14	1,22	1,05	1,19	1,14	0,07

Polinomial Kuadratik

$$Y = -0,0022x^2 + 0,221x + 2,564$$

$$R^2 = 0,472$$

$$Y' = 2,564(0) + 0,221(1) - (2)(0,0022)$$

$$Y' = 0,221 - 0,0044$$

$$0,0044x = 0,221$$

$$X = 0,221/0,0044$$

$$X = 50,22$$

$$Y = 2,564 + 0,221x - 0,00022x^2$$

$$Y = 2,564 + 0,221(50,22) - (0,0044)(54,22)$$

$$Y = 2,564 + 11,098 + 5.548$$

$$Y = 8,12$$

Tabel. Sidik ragam Kandungan Klorofil B daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	35,47	8,87	26,80	3,06	4,89	**
Error	15	4,96	0,33				
Total	19	40,44					
FK	85,62						
CV	0,00						

Tabel Uji Lanjut Polinomial Ortogonal Kandungan Klorofil B

	Qi	$\sum_{Ci}^2$	$r\sum_{Ci}^2$	JkQi	F-Hitung	F-Tabel
Linier	5,31	10	50	4,02	12,15	3,06
Kuadratik	-25,64	14	70	9,39	28,38	3,06

Tabel. Kandungan Total Klorofil daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	Total Klorofil (mg/g bb)				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	3,15	3,53	3,27	3,29	3,31	0,16
30	3,73	3,74	3,80	3,82	3,77	0,05
45	7,48	5,96	5,60	5,74	6,20	0,87
60	7,56	7,42	7,70	7,84	7,63	0,18
75	4,09	4,21	3,81	3,98	4,02	0,17

Polinomial Kuadratik Total Klorofil

$$Y = -0,0029x^2 + 0,296x + 1,185$$

$$R^2 = 0,6115$$

$$Y' = 1,1825(0) + 0,296(1) - (2)(0,0029)$$

$$Y' = 0,296 - 0,0058$$

$$0,0058x = 0,296$$

$$X = 0,296/0,0058$$

$$X = 51,03$$

$$Y = 1,1825 + 0,296x - 0,00029x^2$$

$$Y = 1,1825 + 0,296(51,03) - (0,0058)(51,03)$$

$$Y = 1,1825 + 11,098 + 5.548$$

$$Y = 1,1825 + 15,104 + 7.551$$

$$Y = 8,73$$

Tabel. Sidik ragam Kandungan Total Klorofil daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	54,71	13,68	81,01	3,06	4,89	**
Error	15	4,96	0,17				
Total	19	57,24					
FK	497,14						
CV	0,00						

Tabel Uji Lanjut Polinomial Ortogonal Kandungan Total Klorofil

	Qi	$\sum_{ci}^2$	$r\sum_{ci}^2$	JkQi	F-Hitung	F-Tabel
Linier	5,31	10	50	8,92	52,84	3,06
Kuadratik	-36,53	14	70	19,06	112,92	3,06

Tabel. Kandungan Karoten daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	Karoten (mg/g bb)				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	0,95	1,05	0,99	0,97	0,99	0,04
30	1,08	1,08	1,09	1,10	1,09	0,01
45	1,24	1,33	1,32	1,30	1,30	0,04
60	1,25	1,24	1,25	1,22	1,24	0,01
75	1,11	1,14	1,01	1,03	1,07	0,06

Polinomial Kuadratik Total Karoten

$$Y = -0,0004x^2 + 0,0399x + 2,602$$

$$R^2 = 0,5006$$

$$Y' = 2,602(0) + 0,0399(1) - (2)(0,0004)$$

$$Y' = 0,0399 - 0,0008$$

$$0,0008x = 0,399$$

$$X = 0,399/0,0008$$

$$X = 49,87$$

$$Y = 2,602 + 0,0399x - 0,0004x^2$$

$$Y = 2,602 + 0,0399(49,87) - (0,0004)(49,87)$$

$$Y = 2,602 + 1,989 + 0,994$$

$$Y = 1,25$$

Tabel. Sidik ragam Kandungan Karoten daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	0,26	0,06	34,14	3,06	4,89	**
Error	15	0,03	0,00				
Total	19	0,29					
FK	25,95						
CV	2525,07						

Tabel Uji Lanjut Polinomial Ortogonal Kandungan Karoten

	Qi	$\sum_{Ci}^2$	$r\sum_{Ci}^2$	JkQi	F-Hitung	F-Tabel
Linier	5,31	10	50	0,03	16,47	3,06
Kuadratik	-3.170	14	70	0,14	75,92	3,06

Tabel. Kandungan Antosianin daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	Antosianin (mg/g bb)				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	0,25	0,19	0,21	0,28	0,23	0,04
30	0,25	0,21	0,28	0,34	0,27	0,05
45	0,69	0,58	0,46	0,45	0,54	0,11
60	1,00	1,35	1,32	1,37	1,26	0,17
75	2,55	3,61	3,90	3,67	3,43	0,60

Tabel. Sidik ragam Kandungan Antosianin daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	28,83	7,21	88,28	3,06	4,89	**
Error	15	1,22	0,08				
Total	19	30,05					
FK	26,33						
CV	58,68						

Tabel Uji Lanjut Polinomial Ortogonal Kandungan Antosianin

	Qi	$\sum_{Ci}^2$	$r\sum_{Ci}^2$	JkQi	F-Hitung	F-Tabel
Linier	5,31	10	50	17,48	214,13	3,06

Kuadratik	18,84	14	70	5,07	62,13	3,06
-----------	-------	----	----	------	-------	------

Tabel. Kandungan Fikosianin daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	Fikosiain (mg/g bb)				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	5,29	5,38	6,06	5,62	5,59	0,35
30	6,00	6,92	6,20	6,62	6,43	0,41
45	7,62	7,33	6,30	6,53	6,94	0,63
60	7,61	9,44	9,11	9,74	8,98	0,95
75	8,37	8,49	7,57	8,98	8,35	0,58

Tabel. Sidik ragam Kandungan Fikosianin daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	1172,45	293,11	431,41	3,06	4,89	**
Error	15	10,19	0,68				
Total	19	1182,64					
FK	8875,95						
CV	6,74						

Tabel Uji Lanjut Polinomial Ortogonal Kandungan Fikosianin

	Qi	$\sum_{ci}^2$	$r\sum_{ci}^2$	JkQi	F-Hitung	F-Tabel
Linier	5,31	10	50	20,84	30,67	3,06
Kuadratik	-5,68	14	70	0,46	0,68	3,06

Tabel. Kandungan Allofikosianin daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	Allofikosiain (mg/g bb)				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	7,47	7,69	7,53	7,59	7,57	0,09
30	8,24	8,28	8,13	8,05	8,17	0,11
45	8,52	8,66	8,21	9,56	8,73	0,58
60	9,58	9,54	10,06	9,42	9,65	0,28
75	9,54	9,00	10,68	9,82	9,76	0,70

Tabel. Sidik ragam Kandungan Alofikosianin daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	14,24	3,56	22,67	3,06	4,89	**
Error	15	2,36	0,16				
Total	19	16,59					
FK	8875,95						
CV	84,31						

Tabel Uji Lanjut Polinomial Ortogonal Kandungan Alofikosianin

	Qi	$\sum_{ci}^2$	$r\sum_{ci}^2$	JkQi	F-Hitung	F-Tabel
Linier	5,31	10	50	10,97	69,86	3,06
Kuadratik	-1,96	14	70	0,05	0,35	3,06

Tabel. Kandungan Fikoeritrin daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	Fikoeritrin (mg/g bb)				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	3,92	4,29	4,02	4,03	4,07	0,16
30	4,71	4,39	4,53	4,46	4,52	0,14
45	4,97	4,45	4,56	4,86	4,71	0,24
60	6,08	5,83	6,27	5,83	6,00	0,22
75	5,47	5,10	5,71	5,43	5,43	0,25

Tabel. Sidik ragam Kandungan Fikoeritrin daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	8,39	2,10	17,15	3,06	4,89	**
Error	15	1,83	0,12				
Total	19	10,22					
FK	8875,95						
CV	81,13						

Tabel Uji Lanjut Polinomial Ortogonal Kandungan Fikoeritrin

	Qi	$\sum_{ci}^2$	$r\sum_{ci}^2$	JkQi	F-Hitung	F-Tabel
Linier	5,31	10	50	5,58	45,67	3,06
Kuadratik	-4,35	14	70	0,27	2,21	3,06

Tabel. Kandungan Aktivitas Antioksidan Peredaman Radikal ABTS daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	IC-50 ABTS ( $\mu\text{g/mL}$ )				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	26,29	26,02	25,86	25,73	25,97	0,24
30	25,42	25,23	25,07	24,84	25,14	0,25
45	25,46	25,14	24,93	24,60	25,03	0,36
60	18,77	18,25	18,01	17,69	18,18	0,46
75	16,64	16,36	16,16	15,96	16,28	0,29

Tabel. Sidik ragam Kandungan Aktivitas Antioksidan Peredaman Radikal ABTS daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	328,27	82,07	757,38	3,06	4,89	**
Error	15	1,63	0,11				
Total	19	329,89					
FK	9787,01						
CV	194,12						

Tabel. Kandungan Aktivitas Antioksidan Peredaman Radikal Hidroksil daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	IC-50 Hidroksil ( $\mu\text{g/mL}$ )				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	28,80	28,11	26,65	27,59	27,78	0,91
30	26,89	26,67	25,64	26,25	26,36	0,55
45	27,07	26,83	25,39	25,92	26,30	0,78
60	23,77	23,43	22,31	22,67	23,05	0,67
75	23,70	23,27	21,89	22,41	22,81	0,82

Tabel. Sidik ragam Kandungan Aktivitas Antioksidan Peredaman Radikal Hidroksil daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	78,22	19,56	34,19	3,06	4,89	**

Error	15	8,58	0,57
Total	19	86,80	
FK	12763,09		
CV	39,30		

Tabel. Kandungan Aktivitas Antioksidan Peredaman Radikal Superoksida daun Padi *Black Madras*

Waktu Pengamatan (Hari Setelah Tanam)	IC-50 Superoksida ( $\mu\text{g/mL}$ )				rata	sd
	U1	U2	U3	U4		
15	10,79	11,30	10,64	10,78	10,88	0,29
30	10,50	11,30	10,70	11,24	10,93	0,40
45	10,51	11,96	10,53	10,70	10,93	0,69
60	11,66	9,98	10,49	11,13	10,82	0,73
75	10,21	8,17	8,93	10,17	9,37	1,00

Tabel. Sidik ragam Kandungan Aktivitas Antioksidan Peredaman Radikal Superoksida daun Padi *Black Madras*

SK	Db	JK	KT	F-Hitung	F-Tabel		NOTASI
					5%	1%	
Perlakuan	4	7,40	1,85	4,10	3,06	4,89	**
Error	15	6,77	0,45				
Total	19	14,18					
FK	2240,62						
CV	32,22						

Tabel Duncan	2	3	4	5
	3,014	3,16	3,25	3,312
DMRT	0,496065	0,520095	0,534907445	0,5451118