

## TINJAUAN LITERATUR: AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BIJI KEDELAI HITAM

### LITERATURE REVIEW: ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BLACK SOYA BEANS

Ulya Rosa Hana<sup>1</sup>, Tanti Azizah Sujono<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Sukoharjo, Indonesia

\*E-mail correspondence : [tanti.sujono@ums.ac.id](mailto:tanti.sujono@ums.ac.id)

Dikirim : 23 November 2024, Disetujui : 29 November 2024, Diterbitkan : 30 November 2024

#### Abstrak

Kedelai hitam (*Glycine max*) merupakan sumber antioksidan alami yang kaya akan senyawa bioaktif. Literatur review ini mengkaji aktivitas antioksidan, senyawa kimia, dan metode analisis antioksidan kedelai hitam. Artikel dipilih berdasarkan beberapa kriteria inklusi yang sudah ditetapkan, di antaranya artikel yang akan dikaji dibatasi dalam rentang tahun 2014 sampai 2024 dengan menggunakan kata kunci “antioksidan kedelai hitam”, “aktivitas antioksidan kedelai hitam”, “antioksidan dan kedelai hitam”, “*antioxidant activity of black soybean*”, dan “*antioxidant and black soybean*”, artikel harus menggunakan Bahasa Indonesia atau Bahasa Inggris, artikel diakses secara *full text*, dan artikel harus merupakan *research article*. Hasil kajian literatur menunjukkan bahwa biji kedelai berkulit hitam memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan biji kedelai dengan warna kulit lain. Kedelai hitam mengandung antosianin, flavan-3-ol, dan senyawa aktif lainnya yang berkontribusi pada aktivitas antioksidan. Berdasarkan pengkajian literatur, metode analisis aktivitas antioksidan kedelai hitam meliputi ABTS, DPPH, FRAP, H-ORAC, dan ORAC.

**Kata Kunci:** aktivitas antioksidan, kedelai hitam, antosianin, flavan-3-ol

#### Abstract

*Black soybean (Glycine max) is a natural source of antioxidants that is rich in bioactive compounds. This literature review examines the antioxidant activity, chemical compounds, and antioxidant analysis methods of black soybean. Articles were selected based on several predetermined inclusion criteria, including the articles to be reviewed were limited to the range of 2014 to 2024 using the keywords “black soybean antioxidants”, “black soybean antioxidant activity”, “antioxidants and black soybean”, “antioxidant activity of black soybean”, and “antioxidants and black soybean”, articles must use Indonesian or English, articles are accessed in full text, and articles must be research articles. The results of the literature review show that black skinned soybean seeds have higher antioxidant activity than soybean seeds with other skin colors. Black soybeans contain anthocyanins, flavan-3-ol, and other active compounds that contribute to antioxidant activity. Based on the literature review, the antioxidant activity analysis methods of black soybean include ABTS, DPPH, FRAP, H-ORAC, and ORAC.*

**Keywords:** antioxidant activity, black soybean, anthocyanins, flavan-3-ol

#### PENDAHULUAN

Pola hidup modern yang kurang sehat dapat memicu berbagai penyakit degeneratif. Penyakit ini muncul akibat kemunduran fungsi sel pada organ tubuh, salah satunya disebabkan

oleh radikal bebas. Radikal bebas adalah atom atau molekul tidak stabil yang dapat merusak sel dan memicu berbagai penyakit seperti neurodegeneratif, diabetes, penyakit kardiovaskular, penuaan dini, dan kanker (Maharani *et al.*, 2021). Radikal bebas yang berlebihan dapat menyebabkan ketidakseimbangan sel, sehingga menyebabkan timbulnya stres oksidatif. Hal ini menyebabkan peradangan dan mengganggu regulasi sinyal sel. Otak sangat rentan terhadap stres oksidatif karena komposisi lipid yang tinggi, konsumsi oksigen, dan aktivitas antioksidan yang rendah (Zaa *et al.*, 2023). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menangkap dan menurunkan stres oksidatif (Anggraini, 2020). Sumber antioksidan dapat ditemukan pada berbagai macam tanaman di Indonesia, salah satunya adalah kedelai hitam.

Keunggulan kedelai hitam dibandingkan kedelai jenis lain terletak pada kandungan antioksidan yang lebih tinggi, yaitu antosianin. Antosianin dideteksi dengan metode pH diferensial, isoflavon yang dideteksi dengan HPLC (Nurrahman, 2015), flavonoid yang dideteksi dengan Folin-Ciocalteu, dan fenolik yang dideteksi dengan kolorimetrik reagen aluminium klorida ( $AlCl_3$ ) (Chalid *et al.*, 2023). Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan pada kedelai hitam adalah metode DPPH (Chalid *et al.*, 2023). Kedelai hitam mengandung karbohidrat 33%, protein 40%, dan lemak 19% (Rahayu & Sulistiawati, 2018). Kedelai hitam juga mengandung serat pangan (21,77-30,31%) dan mineral (3,93-6,15%) yang meliputi fosfor, zat besi, kalium, natrium, seng, tembaga, dan mangan (Chauhan *et al.*, 2022). Indonesia membudidayakan kedelai hitam, yang selanjutnya dimanfaatkan sebagai bahan baku pangan industri. Pemanfaatan utama kedelai hitam adalah dalam pembuatan kecap manis yang umum ditemukan pada masakan Indonesia. Selain itu, kedelai hitam juga diolah menjadi tempe dan tahu sebagai variasi bahan pangan dan bahkan diyakini sebagai pengobatan alternatif untuk penyakit tertentu (Diastini *et al.*, 2020). Konsumsi olahan kedelai hitam dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT pada responden (Zakaria *et al.*, 2016) dan dapat menurunkan kadar kolesterol total pada lansia (Pratiwi *et al.*, 2024).

Kajian literatur ini bertujuan untuk mendalami sifat antioksidan dan potensi kedelai hitam sebagai sumber antioksidan alami. Penelitian ini akan mengkaji aktivitas antioksidan biji kedelai hitam, senyawa yang berkontribusi, dan metode pengujiannya. Kajian literatur akan berfokus pada penelitian 10 tahun terakhir untuk mengidentifikasi penelitian terbaru. Diharapkan kajian literatur ini dapat memberikan dasar ilmiah untuk pemanfaatan kedelai hitam sebagai sumber antioksidan yang potensial.

## **METODE PENELITIAN**

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah kajian literatur atau *literature review*. Penelusuran artikel ilmiah dilakukan pada tahun 2014 sampai 2024 dengan menggunakan kata kunci “antioksidan kedelai hitam”, “aktivitas antioksidan kedelai hitam”, “antioksidan dan kedelai hitam”, “*antioxidant activity of black soybean*”, dan “*antioxidant and black soybean*”. Database yang digunakan untuk mencari artikel yang akan dikaji adalah *Google Scholar*, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*, *Pubmed*, dan *Science Direct*. Artikel dipilih berdasarkan beberapa kriteria inklusi yang sudah ditetapkan, di antaranya artikel yang akan dikaji dibatasi dalam rentang tahun 2014 sampai 2024, artikel harus menggunakan Bahasa

Indonesia atau Bahasa Inggris, artikel harus bisa diakses secara *full text*, dan harus merupakan *research article*.

Pencarian literatur dilakukan dengan memilih artikel dari empat *database*. Tahap awal menghasilkan jumlah artikel sebanyak 5.130 artikel dari *Google Scholar*, 33 dari MDPI, 68 dari *PubMed*, dan 10.059 dari *Science Direct*. Setelah dilakukan pemilihan lebih lanjut dengan membatasi pada artikel penelitian (*research article*) yang dapat diakses secara penuh (*full-text*) dan berbahasa Indonesia atau Inggris, ditemukan sebanyak 20 artikel dari *Google Scholar*, 15 dari MDPI, 26 dari *PubMed*, dan 16 dari *Science Direct*. Tahap akhir adalah membaca penuh artikel yang terpilih dan diperoleh 4 artikel relevan dari *Google Scholar*, 6 dari MDPI, 7 dari *PubMed*, dan 2 dari *Science Direct* yang secara spesifik membahas mengenai antioksidan pada kedelai hitam.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian kajian pustaka ini berfokus untuk mengetahui aktivitas antioksidan biji kedelai hitam dan senyawa yang berperan penting dalam mekanisme aktivitas antioksidan. Dalam proses pengkajian artikel, ditemukan bahwa penelitian terdahulu melakukan pengujian antioksidan biji kedelai hitam dengan berbagai macam metode dan formulasi baik yang berupa ekstrak, maupun yang sudah diolah menjadi makanan.

### Aktivitas antioksidan pada biji kedelai hitam

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kedelai berkulit hitam memiliki potensi antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai dengan kulit berwarna lain. Nurrahman (2015) melakukan penelitian membandingkan komposisi gizi pada kedelai kuning varietas Grobogan, kedelai kuning impor, dan kedelai hitam varietas Mallika. Komposisi gizi yang dibandingkan beberapa diantaranya termasuk membandingkan senyawa antioksidan yang terdiri dari asam lemak, antosianin, dan isoflavon. Kedelai hitam varietas Mallika memiliki kandungan daidzein, asam oleat, dan asam linoleat paling tinggi dibandingkan kedelai varietas lain. Kedelai hitam juga mengandung antosianin sebesar  $222,49 \pm 22,62$  mg/100 g yang terletak pada kulit kedelai yang berwarna hitam. Kandungan antosianin pada kedelai kuning Grobogan dan impor tidak terdeteksi.

Chu *et al.* (2021) meneliti hubungan antara perbedaan warna kulit kedelai dengan aktivitas antioksidannya. Kedelai yang diteliti adalah kulit kedelai berwarna kuning, kulit kedelai berwarna hijau, dan kulit kedelai berwarna hitam. Metode pengujian yang digunakan adalah metode DPPH dan metode ABTS. Diperoleh aktivitas antioksidan tertinggi pada biji kedelai dengan kulit berwarna hitam di semua metode uji, dengan metode DPPH diperoleh hasil 4,79 mg asam askorbat (AA) eq/g dan dengan metode ABTS diperoleh hasil 2,05 mg AA eq/g. Diperkuat dengan penelitian Lim *et al.* (2021) tentang kandungan antioksidan pada kulit biji, biji, dan kotiledon kedelai hitam. Senyawa antioksidan yang berperan aktif pada biji kedelai hitam adalah antosianin dan flavan-3-ol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biji kedelai dengan kulit hitam seragam memiliki aktivitas antioksidan di semua metode (Tabel 1 dan 2).

**Tabel 1. Hasil penelitian Lim *et al.* (2021) terkait aktivitas antioksidan dengan beberapa metode**

Metode	Aktivitas antioksidan (mg vitamin C ekuivalen·g <sup>-1</sup> berat kering)	
	Biji kedelai hitam	Kulit biji kedelai hitam
ABTS	1,07	25,23
DPPH	4,43	36,54
FRAP	2,01	24,76

**Tabel 2. Hasil penelitian Lim *et al.* (2021) terkait senyawa aktif yang terdapat pada kedelai hitam**

Senyawa aktif	Kadar (mg ·100 g <sup>-1</sup> berat kering)		
	Biji kedelai hitam	Kulit biji kedelai hitam	Kotiledon kedelai hitam
Antosianin	17,06 ± 2,02	33,71 ± 0,80	Tidak terdeteksi
Flavan-3-ol	10,66 ± 0,03	76,96 ± 6,01	6,91 ± 0,55

Dhungana *et al.* (2021) dalam penelitiannya terhadap 29 varietas kedelai menemukan bahwa kedelai hitam varietas Socheong2 memiliki potensi antioksidan tertinggi. Varietas ini menunjukkan nilai ABTS 818,8 mg trolox/100 g, DPPH 579,7 mg trolox/100 g, total polifenol 385,8 mg asam galat/100 g, dan total flavonoid 208,5 mg katekin/100 g, jauh lebih tinggi dibandingkan varietas lain. Kandungan antosianin pada kedelai hitam juga bervariasi, dengan sianidin-3-galaktosida sebagai komponen utama. Penelitian ini menyimpulkan bahwa variasi fitokimia yang tinggi pada genotipe kedelai, terutama pada kedelai hitam, berkontribusi pada peningkatan aktivitas antioksidan.

Diketahui bahwa antosianin kedelai hitam memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan cara menurunkan tingkat *Reactive Oxygen Species* (ROS). Penelitian Kim *et al.* (2017) berfokus pada senyawa antosianin yang diduga berperan penting dalam aktivitas antioksidan pada biji kedelai hitam dengan cara mempengaruhi tingkat ROS. ROS diukur berdasarkan intensitas fluoresensi *2,7-dichlorofluorescein* pada sel RAW 264,7 yang dirangsang oleh lipopolisakarida. Stimulasi dengan lipopolisakarida menghasilkan peningkatan intensitas fluoresensi *2,7-dichlorofluorescein* yang nyata dan antosianin kedelai hitam mampu mengurangi peningkatan intensitas fluoresensi. Tingkat ROS menurun berturut-turut sebesar 34,1% dan 60,5% dengan pemberian 25 dan 100 µg/mL antosianin kedelai hitam.

Pada penelitian lainnya, isolat protein kedelai hitam-C3G menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat dengan menurunkan nilai oksidasi lipid dan memblokir radikal bebas. Cui *et al.* (2022) menguji aktivitas antioksidan biji kedelai hitam dengan mengukur nilai malondialdehid (MDA) dan nilai oksidasi lipid. Dengan penurunan kadar MDA dari 4,5 mmol/L menjadi 1,2 mmol/L dan penurunan nilai oksidasi lipid dari 15,1 mmol/L menjadi 7,9 mmol/L, menunjukkan stabilitas oksidasi yang baik. Partikel isolat protein kedelai hitam-C3G mampu memblokir lipid hidrogen peroksida dan memicu reaksi berantai radikal bebas dengan menghalangi interaksi antara lipid terhidrogenasi dan oksidan, sehingga berperan sebagai penghalang oksidasi lipid.

Terdapat penelitian mengenai biji kedelai hitam yang dapat meningkatkan kapasitas antioksidan hati tikus dan melindungi dari kerusakan hati akibat alkohol dengan meningkatkan kadar enzim antioksidan (GSH, superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT)) dan menurunkan kadar MDA. Ren *et al.* (2021) menemukan bahwa peptida alkalin turunan kedelai

hitam dapat melindungi hati tikus dari kerusakan akibat alkohol dengan meningkatkan kadar enzim antioksidan dan menurunkan kadar MDA. Perlakuan dengan peptida dosis tinggi (800 mg/kgBB) secara signifikan meningkatkan kadar GSH dan CAT hingga mencapai nilai normal. Selain itu, dosis sedang dan tinggi (400-800 mg/kgBB) meningkatkan kadar SOD serum menjadi  $244,88 \pm 19,84$  dan  $280,39 \pm 9,39$  U/mg, yang tidak berbeda nyata dengan kontrol positif ( $280,75 \pm 24,80$  U/mg). Kadar MDA pada kelompok yang diberi perlakuan peptida turunan kedelai hitam alkalase, secara signifikan menurun sebesar 52,12% - 60,70% dibandingkan dengan kelompok model. Hasil ini menunjukkan bahwa peptida turunan kedelai hitam alkalase dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dan menghambat peroksidasi lipid.

Beberapa penelitian, termasuk Yoshioka *et al.* (2017), Yamashita *et al.* (2020), Li *et al.* (2020), dan Li *et al.* (2022), menunjukkan bahwa ekstrak kedelai hitam memiliki sifat antioksidan yang kuat. Yoshioka *et al.* (2017) menemukan bahwa ekstrak kedelai hitam secara signifikan menghambat pembentukan 8-OHdG (biomarker kerusakan DNA oksidatif) dalam sel HepG2, menurunkannya sebesar 25,3%. Yamashita *et al.* (2020) melaporkan bahwa konsumsi biskuit berbahan dasar kedelai hitam selama 12 minggu secara signifikan menurunkan kadar 8-OHdG dalam plasma dan urin tikus, masing-masing sebesar 20,7% dan 18,4%. Li *et al.* (2020) mengamati bahwa ekstrak kulit biji kedelai hitam dan peptida dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan SOD dan CAT, masing-masing sebesar 35,2% dan 28,7%, serta mengurangi kadar MDA sebesar 42,1% ketika sel *Drosophila melanogaster* terpapar timbal. Li *et al.* (2022) menemukan potensi peptida kedelai hitam dalam melindungi sel dari kerusakan akibat stres oksidatif. Sel PC12 diinduksi stres oksidatif dengan timbal (Pb). Hasil pada Tabel 3 menunjukkan bahwa paparan Pb menyebabkan penurunan aktivitas enzim antioksidan seperti SOD dan CAT, serta peningkatan kadar MDA yang merupakan penanda kerusakan sel akibat oksidasi. Pemberian peptida kedelai hitam pada sel yang terpapar Pb mampu meningkatkan aktivitas SOD dan CAT secara signifikan, serta menurunkan kadar MDA. Efek protektif ini bahkan lebih baik dibandingkan dengan asam askorbat yang umumnya dikenal sebagai antioksidan. Peptida kedelai hitam memiliki potensi sebagai antioksidan yang efektif dalam melawan radikal bebas dan melindungi sel dari kerusakan. Penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa turunan kedelai hitam dapat melindungi sel dari kerusakan oksidatif dan mengurangi stres oksidatif.

**Tabel 3. Hasil penelitian Li *et al.* (2022) terkait pemberian peptida kedelai hitam pada sel PC12 yang diinduksi Pb**

Parameter Uji	Hasil Pengujian
Enzim CAT	3 kelompok peptida kedelai hitam mengalami peningkatan enzim CAT sebesar 19, 15, dan 14%
Enzim SOD	2 kelompok peptida kedelai hitam mengalami peningkatan enzim 23 dan 26%
MDA	3 kelompok peptida kedelai hitam mengalami penurunan MDA sebesar 23, 24, dan 12%
Aktivitas ROS	3 kelompok peptida kedelai hitam mengalami penurunan ROS sebesar 79%, 101%, dan 98%

Penelitian yang dilakukan oleh Ryu *et al.* (2021) mengungkapkan bahwa antosianin pada kedelai hitam, dengan kadar mencapai 400  $\mu\text{mol TE/L}$ . Penelitian ini menunjukkan bahwa

struktur kimia antosianin, terutama gugus gulanya, secara signifikan memengaruhi penyerapan dan aktivitas antioksidan dalam sel. Hasil uji ORAC pada sel INT-407 yang diinkubasi dengan ekstrak kedelai hitam menunjukkan bahwa kandungan total antosianin dalam sel lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol positif berupa anggur. Selain itu, penelitian ini juga menemukan bahwa antosianin yang terasilasi dengan asam p-kumarat dapat diserap dan didegradasi menjadi asam p-kumarat di dalam sel, di mana keduanya memiliki kemampuan untuk menetralkan radikal bebas. Tidak semua jenis antosianin dapat dengan mudah melewati membran sel. Antosianin dengan tiga gugus gula cenderung lebih sulit diserap. Bioavailabilitas dan aktivitas antioksidan antosianin sangat dipengaruhi oleh struktur kimianya, sehingga kedelai hitam memiliki potensi besar sebagai sumber antioksidan alami.

Beberapa penelitian menguji aktivitas antioksidan kedelai hitam dengan mengolah kedelai hitam. Beberapa produk pengolahan kedelai hitam yang ditemukan yaitu berupa film chitosan, kedelai hitam sangrai, kedelai hitam kukus, dan bahan pangan fungsional seperti tahu kedelai hitam. Gao *et al.* (2021) menemukan bahwa film chitosan yang diinfus dengan ekstrak etanol kulit biji kedelai hitam memiliki kemampuan penangkapan radikal ABTS dan DPPH yang lebih kuat, yaitu 66,58% untuk ABTS dan 33,55% untuk DPPH. Kemampuan penangkapan ini berkorelasi positif dengan jumlah ekstrak yang ditambahkan, dan antosianin dalam ekstrak diduga berperan dalam menangkap radikal bebas.

Pengolahan kedelai hitam dengan penyangraian terbukti efektif meningkatkan aktivitas antioksidan. Penelitian Rahayu & Sulistiawati (2018) dan Koriyama *et al.* (2023) secara konsisten menunjukkan bahwa proses pemanasan, seperti penyangraian dan pemanggangan, dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada kedelai hitam. Penelitian Rahayu & Sulistiawati (2018) menunjukkan bahwa penyangraian kedelai hitam pada suhu 200°C selama 30 menit dapat meningkatkan aktivitas antioksidan hingga 82,5% dibandingkan dengan kedelai mentah. Didukung dengan penelitian Koriyama *et al.* (2023), memanggang kedelai hitam, kuning, dan biru pada suhu di atas 190°C meningkatkan aktivitas antioksidan (Tabel 4). Sebelum dipanggang, aktivitas antioksidan tertinggi ada pada kedelai hitam, kemungkinan karena pigmen pada kulit biji yang mengandung antosianin. Peningkatan aktivitas antioksidan setelah dipanggang kemungkinan karena produk reaksi Maillard. Memanggang kedelai hitam direkomendasikan untuk meningkatkan aktivitas antioksidan, terutama untuk kedelai yang sudah tua.

**Tabel 4. Hasil penelitian Koriyama *et al.* (2023) terkait nilai antioksidan pada suhu berbeda**

Suhu	Nilai antioksidan
190°C	5 µmol TE/g
210°C	9,0 - 9,9 µmol TE/g
230°C	20 - 22 µmol TE/g

Penelitian Hsieh *et al.* (2021) menunjukkan bahwa produk liofilisasi cair dari kedelai hitam kukus memiliki potensi antioksidan yang sangat tinggi (Tabel 5), melebihi kulit kedelai kuning. Kemampuannya dalam menangkap radikal bebas DPPH dan ABTS, serta daya reduksi yang kuat, diduga karena kandungan antosianin yang melimpah pada kulit biji kedelai hitam. Hasil ini menggarisbawahi potensi kulit biji kedelai hitam sebagai sumber antioksidan alami yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai produk pangan dan kesehatan.

**Tabel 5. Hasil penelitian Hsieh *et al.* (2021) terkait nilai antioksidan pada produk liofilisasi cair dari kedelai hitam kukus dengan berbagai metode**

Konsentrasi produk liofilisasi cair dari kedelai hitam kukus	Metode ABTS	Metode DPPH
0,5 mg/ mL	7,8 ± 2,3%	42,5 ± 8,7%
1 mg/ mL	20,5 ± 6,3%	54,4 ± 0,4%
2 mg/ mL	50,2 ± 8,3%	79,6 ± 0,2%

Penelitian Triandita *et al.* (2016) dan Zakaria *et al.* (2016) menunjukkan bahwa konsumsi tahu kedelai hitam dapat meningkatkan kadar antioksidan pada pasien diabetes mellitus (DM). Triandita *et al.* (2016) melaporkan peningkatan kadar antioksidan plasma sebesar  $4,77 \pm 9,49\%$  setelah 30 hari konsumsi tahu kedelai hitam, dari  $22,68 \pm 6,47\%$  menjadi  $27,45 \pm 10,38\%$ . Selain itu, kadar MDA (sebuah penanda kerusakan oksidatif) juga menurun secara signifikan sebesar  $2,11 \pm 1,73$  nmol/mL. Hasil serupa juga ditemukan oleh Zakaria *et al.* (2016) yang melaporkan peningkatan kadar antioksidan plasma rata-rata sebesar 7,26% setelah intervensi tahu kedelai hitam. Temuan-temuan ini mengindikasikan bahwa tahu kedelai hitam memiliki potensi sebagai pangan fungsional yang dapat membantu meningkatkan status antioksidan dan mengurangi kerusakan oksidatif pada pasien DM.

### Senyawa dan mekanisme kerja antioksidan pada biji kedelai hitam

Berdasarkan artikel yang sudah dikaji, didapatkan ada dua senyawa yang mempengaruhi aktivitas antioksidan pada biji kedelai hitam, yaitu antosianin dan flavan-3-ol.

#### Antosianin

Antosianin merupakan pigmen tanaman yang beragam dengan struktur kimia yang kompleks dan fungsi biologis yang penting. Struktur dasar antosianin terdiri dari aglikon antosianidin yang terikat pada gula. Variasi pada struktur antosianidin, terutama pada posisi hidroksilasi dan metoksilasi, serta jenis gula yang terikat, menghasilkan beragam warna dan sifat kimia fisik (Wallace & Giusti, 2019). Antosianin memiliki potensi sebagai senyawa neuroprotektif melalui mekanisme pengurangan stres oksidatif dan aktivasi jalur Nrf2/ARE (Zaa *et al.*, 2023). Yamashita *et al.* (2020) menemukan kandungan antosianin berjenis sianidin-3-O-glukosida pada biskuit kedelai hitam. Hsieh *et al.* (2021) menemukan beberapa jenis antosianin antara lain sianidin-3-glukosida, petunidin-3-glukosida, dan peonidin-3-glukosida. Lim *et al.* (2021) mengidentifikasi beberapa jenis antosianin dalam kedelai hitam, termasuk sianidin-3-O-glukosida, delphinidin 3-O-glukosida, sianidin 3-O-galaktosida, sianidin 3-O-glukosida, petunidin 3-O-glukosida, dan peonidin 3-O-glukosida.

#### Flavan-3-ol

Flavan-3-ol merupakan kelompok senyawa bioaktif yang beragam dengan struktur kompleks dan beragam fungsi biologis. Penelitian sebelumnya (Kuhnle, 2018) telah menunjukkan peran penting flavan-3-ol dalam kesehatan manusia. Berdasarkan struktur kimianya, flavan-3-ol dapat diklasifikasikan menjadi flavan-3-ol sederhana, alkaloid, dan oligomer (Luo *et al.*, 2022). Flavan-3-ol sederhana merupakan bentuk dasar yang banyak ditemukan dalam makanan, sementara flavan-3-ol alkaloid memiliki struktur yang lebih kompleks dengan adanya gugus alkaloid. Flavan-3-ol oligomer terbentuk dari kondensasi beberapa unit flavan-3-ol sederhana. Beberapa penelitian telah mengidentifikasi keberadaan

berbagai jenis flavan-3-ol dalam produk olahan kedelai hitam, seperti (–)-Epicatechin, Procyanidin B2, Procyanidin C1, Cinnamtannin A2, catechin, dan epicatechin (Yamashita *et al.*, 2020; Lim *et al.*, 2021).

### Metode uji aktivitas antioksidan pada biji kedelai hitam

Berdasarkan artikel yang sudah dikaji, didapatkan beberapa metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada biji kedelai hitam, yaitu metode ABTS, metode DPPH, metode FRAP, metode H-ORAC, dan metode ORAC. Daftar artikel yang mencantumkan metode dalam pengujian aktivitas antioksidan terdapat pada tabel 6, 7, 8, 9 dan 10. Prinsip kerja terkait masing-masing metode terdapat pada Tabel 11.

**Tabel 6. Daftar artikel dengan metode ABTS**

No	Nama penulis	Tahun artikel	Judul artikel
1	Chu, H. N., Lee, S. J., Wang, X., Lee, S. H., Yoon, H. M., Hwang, Y. J., Jung, E. S., Kwon, Y., Wee, C. Do, Jang, K. A., & Kim, H. R.	2021	<i>A correlation study on in vitro physiological activities of soybean cultivars, 19 individual isoflavone derivatives, and genetic characteristics.</i>
2	Dhungana, S. K., Seo, J. H., Kang, B. K., Park, J. H., Kim, J. H., Sung, J. S., Baek, I. Y., Shin, S. O., & Jung, C. S.	2021	<i>Protein, amino acid, oil, fatty acid, sugar, anthocyanin, isoflavone, lutein, and antioxidant variations in colored seed-coated soybeans.</i>
3	Gao, Z., Wang, C., & Li, Z.	2021	<i>Effect of ethanol extract of black soybean coat on physicochemical properties and biological activities of chitosan packaging film.</i>
4	Hsieh, S. L., Shih, Y. W., Chiu, Y. M., Tseng, S. F., Li, C. C., & Wu, C. C.	2021	<i>By-products of the black soybean sauce manufacturing process as potential antioxidant and anti-inflammatory materials for use as functional foods.</i>
5	Lim, Y. J., Kwon, S. J., Qu, S., Kim, D. G., & Eom, S. H.	2021	<i>Antioxidant contributors in seed, seed coat, and cotyledon of <math>\gamma</math>-ray-induced soybean mutant lines with different seed coat colors.</i>

**Tabel 7. Daftar artikel dengan metode DPPH**

No	Nama penulis	Tahun artikel	Judul artikel
1	Triandita, N., R. Zakaria, F., Prangdimurti, E., & Eska Putri, N.	2016	Perbaikan status antioksidan penderita diabetes tipe 2 dengan tahu kedelai hitam kaya serat.
2	Zakaria, F. R., Firdaus, D. P. R., & Yuliana, N. D.	2016	Konsumsi tahu kedelai hitam untuk memperbaiki nilai SGOT/SGPT dan aktivitas antioksidan plasma penderita diabetes tipe 2.
3	Rahayu, W. M., & Sulistiawati, E.	2018	Evaluasi komposisi gizi dan sifat antioksidatif kedelai hitam mallika ( <i>Glycine max</i> ) akibat penyanganraian.
4	Chu, H. N., Lee, S. J., Wang, X., Lee, S. H., Yoon,	2021	<i>A correlation study on in vitro physiological activities of soybean cultivars, 19 individual</i>

No	Nama penulis	Tahun artikel	Judul artikel
	H. M., Hwang, Y. J., Jung, E. S., Kwon, Y., Wee, C. Do, Jang, K. A., & Kim, H. R.		<i>isoflavone derivatives, and genetic characteristics.</i>
5	Dhungana, S. K., Seo, J. H., Kang, B. K., Park, J. H., Kim, J. H., Sung, J. S., Baek, I. Y., Shin, S. O., & Jung, C. S.	2021	<i>Protein, amino acid, oil, fatty acid, sugar, anthocyanin, isoflavone, lutein, and antioxidant variations in colored seed-coated soybeans.</i>
6	Gao, Z., Wang, C., & Li, Z.	2021	<i>Effect of ethanol extract of black soybean coat on physicochemical properties and biological activities of chitosan packaging film.</i>
7	Hsieh, S. L., Shih, Y. W., Chiu, Y. M., Tseng, S. F., Li, C. C., & Wu, C. C.	2021	<i>By-products of the black soybean sauce manufacturing process as potential antioxidant and anti-inflammatory materials for use as functional foods.</i>
8	Koriyama, T., Teranaka, K., Tsuchida, M., & Kasai, M.	2023	<i>Effects of Storage and Roasting Condition on the Antioxidant Activity of Soybeans with Different Colors of Seed Coat.</i>
9	Lim, Y. J., Kwon, S. J., Qu, S., Kim, D. G., & Eom, S. H.	2021	<i>Antioxidant contributors in seed, seed coat, and cotyledon of <math>\gamma</math>-ray-induced soybean mutant lines with different seed coat colors.</i>

**Tabel 8. Daftar artikel dengan metode FRAP**

No	Nama penulis	Tahun artikel	Judul artikel
1	Lim, Y. J., Kwon, S. J., Qu, S., Kim, D. G., & Eom, S. H.	2021	<i>Antioxidant contributors in seed, seed coat, and cotyledon of <math>\gamma</math>-ray-induced soybean mutant lines with different seed coat colors.</i>

**Tabel 9. Daftar artikel dengan metode H-ORAC**

No	Nama penulis	Tahun artikel	Judul artikel
1	Yoshioka, Y., Li, X., Zhang, T., Mitani, T., Yasuda, M., Nanba, F., Toda, T., Yamashita, Y., & Ashida, H.	2017	<i>Black soybean seed coat polyphenols prevent AAPH-induced oxidative DNA-damage in HepG2 cells.</i>

**Tabel 10. Daftar artikel dengan metode ORAC**

No	Nama penulis	Tahun artikel	Judul artikel
1	Ryu, D., Sung, Y., Hong, J., & Koh, E.	2021	<i>Cellular uptake of anthocyanins extracted from black soybean, grape, and purple sweet potato using INT-407 cells.</i>
2	Yoshioka, Y., Li, X., Zhang, T., Mitani, T., Yasuda, M., Nanba, F., Toda, T.,	2017	<i>Black soybean seed coat polyphenols prevent AAPH-induced oxidative DNA-damage in HepG2 cells.</i>

No	Nama penulis	Tahun artikel	Judul artikel
	Yamashita, Y., & Ashida, H.		

**Tabel 11. Tabel metode uji aktivitas antioksidan pada biji kedelai hitam**

No	Metode	Prinsip kerja
1	ABTS ( <i>2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)</i> )	Menetralkan radikal kation ABTS•+ (Munteanu & Apetrei, 2021)
2	DPPH ( <i>2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> )	Menangkap radikal hidrogen dari DPPH (Amin <i>et al.</i> , 2015)
3	FRAP ( <i>Ferric Reducing-Antioxidant Power</i> )	Mengukur kapasitas reduksi feri (Munteanu & Apetrei, 2021)
4	ORAC ( <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> )	Mengukur kemampuan meredam radikal bebas (Aryanti <i>et al.</i> , 2021)
5	H-ORAC ( <i>Hydrophilic Oxygen Radical Absorbance Capacity</i> )	Mengukur kemampuan melindungi terhadap radikal hidroksil (Munteanu & Apetrei, 2021)

## PENUTUP

Kajian literatur ini mengkaji senyawa aktif dan metode analisis yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan pada kedelai hitam. Hasil kajian menunjukkan bahwa kedelai hitam mengandung senyawa antioksidan, terutama antosianin dan flavan-3-ol. Berbagai metode seperti ABTS, DPPH, FRAP, H-ORAC, dan ORAC telah diterapkan untuk menguji aktivitas antioksidan ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amin, A., Wunas, J., & Anin, Y.M. (2015). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol klika faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) dengan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 2(2), 111–114. <https://doi.org/10.33096/jffi.v2i2>
- Anggraini, A. (2020). Manfaat antioksidan daun salam terhadap kadar glukosa darah dan penurunan apoptosis neuron di hippocampus otak tikus yang mengalami diabetes. *Jurnal Medika Hutama*, 2(01), 349–355.
- Aryanti, R., Perdana, F., & Syamsudin, R.A.M.R. (2021). Telaah metode pengujian aktivitas antioksidan pada teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 15–24. <https://doi.org/10.33084/jsm.v7i1.2024>
- Chalid, S.Y., Muawanah, A., Radiastuti, N., Putri, S.A., Hartiningsih, F., & Rudiana, T. (2023). Tempe kedelai hitam (*Glycine soja*) dan kacang buncis putih (*Phaseolus vulgaris* L.) sebagai pangan fungsional antioksidan. *Chimica et Natura Acta*. 11(3), 106–114. <https://doi.org/10.24198/cna.v11.n3.47039>
- Chauhan, D., Kumar, K., Ahmed, N., Thakur, P., Rizvi, Q.U.E.H., Jan, S., & Yadav, A.N. (2022). Impact of soaking, germination, fermentation, and roasting treatments on nutritional, anti-nutritional, and bioactive composition of black soybean (*Glycine max* L.). *Journal of Applied Biology and Biotechnology*, 10(5), 186–192. <https://doi.org/10.7324/JABB.2022.100523>
- Chu, H.N., Lee, S.J., Wang, X., Lee, S.H., Yoon, H.M., Hwang, Y.J., Jung, E.S., Kwon, Y., Wee, C.D., Jang, K.A., & Kim, H.R. (2021). A correlation study on in vitro physiological activities of soybean cultivars, 19 individual isoflavone derivatives, and genetic characteristics. *Antioxidants*, 10(12), 2027. <https://doi.org/10.3390/antiox10122027>

- Cui, X., Ma, M., Xie, Y., Yang, Y., Li, Q., Sun, S., & Ma, W. (2022). Formation, structure and stability of high internal phase pickering emulsions stabilized by BSPI-C3G covalent complexes. *Food Chemistry:X*, 16, 100455. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100455>
- Dhungana, S.K., Seo, J.H., Kang, B.K., Park, J.H., Kim, J.H., Sung, J.S., Baek, I.Y., Shin, S.O., & Jung, C.S. (2021). Protein, amino acid, oil, fatty acid, sugar, anthocyanin, isoflavone, lutein, and antioxidant variations in colored seed-coated soybeans. *Plants*, 10(9), 1765. <https://doi.org/10.3390/plants10091765>
- Diastini, G.A.K.W., Jaya, I.K.S., Widiada, I.G.N., & Darawati, M. (2020). Kajian pustaka tentang penambahan sari buah dan rempah terhadap sifat organoleptik, laktat, serta daya terima *black soyghurt* (yoghurt kedelai hitam). *Jurnal Gizi Prima*, 5(2), 112–118.
- Gao, Z., Wang, C., & Li, Z. (2021). Effect of ethanol extract of black soybean coat on physicochemical properties and biological activities of chitosan packaging film. *Food Science and Biotechnology*, 30(10), 1369–1381. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00968-y>
- Hsieh, S.L., Shih, Y.W., Chiu, Y.M., Tseng, S.F., Li, C.C., & Wu, C.C. (2021). By-products of the black soybean sauce manufacturing process as potential antioxidant and anti-inflammatory materials for use as functional foods. *Plants*, 10(12), 2579. <https://doi.org/10.3390/plants10122579>
- Kim, J.N., Han, S.N., Ha, T.J., & Kim, H.K. (2017). Black soybean anthocyanins attenuate inflammatory responses by suppressing reactive oxygen species production and mitogen activated protein kinases signaling in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Nutrition Research and Practice*, 11(5), 357–364. <https://doi.org/10.4162/nrp.2017.11.5.357>
- Koriyama, T., Teranaka, K., Tsuchida, M., & Kasai, M. (2023). Effects of storage and roasting condition on the antioxidant activity of soybeans with different colors of seed coat. *Foods*, 12(1), 92. <https://doi.org/10.3390/foods12010092>
- Kuhnle, G.G.C. (2018). Nutrition epidemiology of flavan-3-ols: The known unknowns. *Molecular Aspects of Medicine*, 61, 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2017.10.003>
- Li, F., Liu, Z.H., Tian, X., Liu, T., Wang, H.L., & Xiao, G. (2020). Black soybean seed coat extract protects *Drosophila melanogaster* against Pb toxicity by promoting iron absorption. *Journal of Functional Foods*, 75, 104201. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104201>
- Li, N., Wen, L., Li, T., Yang, H., Qiao, M., Wang, T., Song, L., Huang, X., Li, M., Bukyei, E., & Wang, F. (2022). Alleviating effects of black soybean peptide on oxidative stress injury induced by lead in PC12 cells via Keap1/Nrf2/TXNIP signaling pathway. *Nutrients*, 14(15), 3102. <https://doi.org/10.3390/nu14153102>
- Lim, Y.J., Kwon, S.J., Qu, S., Kim, D.G., & Eom, S.H. (2021). Antioxidant contributors in seed, seed coat, and cotyledon of  $\gamma$ -ray-induced soybean mutant lines with different seed coat colors. *Antioxidants*, 10(3), 353. <https://doi.org/10.3390/antiox10030353>
- Luo, Y., Jian, Y., Liu, Y., Jiang, S., Muhammad, D., & Wang, W. (2022). Flavanols from nature: A phytochemistry and biological activity review. *Molecules*, 27(3), 719. <https://doi.org/10.3390/molecules27030719>
- Maharani, A.I., Riskierdi, F., Febriani, I., Kurnia, K.A., Rahman, N.A., Ilahi, N.F., & Farma, S.A. (2021). Peran antioksidan alami berbahan dasar pangan lokal dalam mencegah efek radikal bebas. *Prosiding Seminar Nasional Bio*, 1(2), 390–399.
- Munteanu, I.G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Nurrahman. (2015). Evaluasi komposisi zat gizi dan senyawa antioksidan kedelai hitam dan kedelai kuning. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 04(03), 89–93. <https://doi.org/10.17728/jatp.2015.17>

- Pratiwi, D.E., Widiyanti, F.L., & Sari, P.M. (2024). Efikasi pemberian susu kacang kedelai hitam (*Glycine soja*) terhadap kadar kolesterol total lansia. *Journal of Nutrition College*, 13(1), 89-95. <https://doi.org/10.14710/jnc.v13i1.39767>
- Rahayu, W.M., & Sulistiawati, E. (2018). Evaluasi komposisi gizi dan sifat antioksidatif kedelai hitam mallika (*Glycine max*) akibat penyangraian. *Agroindustrial Technology Journal*, 2(1), 82-90. <https://doi.org/10.21111/atj.v2i1.2817>
- Ren, J., Li, S., Song, C., Sun, X., & Liu, X. (2021). Black soybean-derived peptides exerted protective effect against alcohol-induced liver injury in mice. *Journal of Functional Foods*, 87, 104828. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104828>
- Ryu, D., Sung, Y., Hong, J., & Koh, E. (2021). Cellular uptake of anthocyanins extracted from black soybean, grape, and purple sweet potato using INT-407 cells. *Food Science and Biotechnology*, 30(10), 1383–1391. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00976-y>
- Triandita, N., Zakaria, F.R., Prangdimurti, E., & Putri, N.E. (2016). Perbaikan status antioksidan penderita diabetes tipe 2 dengan tahu kedelai hitam kaya serat. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 27(2), 123–130. <https://doi.org/10.6066/jtip.2016.27.2.123>
- Wallace, T.C., & Giusti, M.M. (2019). Anthocyanins—nature’s bold, beautiful, and health-promoting colors. *Foods*, 8(11), 550. <https://doi.org/10.3390/foods8110550>
- Yamashita, Y., Nakamura, A., Nanba, F., Saito, S., Toda, T., Nakagawa, J., & Ashida, H. (2020). Black soybean improves vascular function and blood pressure: A randomized, placebo controlled, crossover trial in humans. *Nutrients*, 12(9), 2755. <https://doi.org/10.3390/nu12092755>
- Yoshioka, Y., Li, X., Zhang, T., Mitani, T., Yasuda, M., Nanba, F., Toda, T., Yamashita, Y., & Ashida, H. (2017). Black soybean seed coat polyphenols prevent AAPH-induced oxidative DNA-damage in HepG2 cells. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 60(2), 108–114. <https://doi.org/10.3164/jcfn.16-48>
- Zaa, C.A., Marcelo, Á. J., An, Z., Medina-Franco, J.L., & Velasco-Velázquez, M.A. (2023). Anthocyanins: molecular aspects on their neuroprotective activity. *Biomolecules*, 13(11), 1598. <https://doi.org/10.3390/biom13111598>
- Zakaria, F.R., Firdaus, D.P.R., & Yuliana, N.D. (2016). Konsumsi tahu kedelai hitam untuk memperbaiki nilai SGOT/SGPT dan aktivitas antioksidan plasma penderita diabetes tipe 2. *Pangan*, 25(2), 95–104.