

**PENGARUH KONSENTRASI ELISITOR DAN WAKTU ELISITASI
TERHADAP TOTAL ANTOSIANIN, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN,
DAN GABA BERAS HITAM (*Oryza sativa* L.)**

**Nur Azizah
G031 18 1312**



**PROGRAM STUDI ILMU DAN TEKNOLOGI PANGAN
DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**PENGARUH KONSENTRASI ELISITOR DAN WAKTU ELISITASI
TERHADAP TOTAL ANTOSIANIN, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN,
DAN GABA BERAS HITAM (*Oryza sativa* L.)**

**Nur Azizah
G031 18 1312**



Skripsi
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Teknologi Pertanian
pada
Departemen Ilmu dan Teknologi Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin
Makassar

**DEPARTEMEN TEKNOLOGI PERTANIAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

HALAMAN PERSETUJUAN

Judul : Pengaruh Konsentrasi Elisitor Dan Waktu Elisitasi Terhadap Total Antosianin,
Aktivitas Antioksidan, dan GABA Beras Hitam (*Oryza sativa* L.)

Nama : Nur Azizah

NIM : G031 18 1312

Menyetujui,



Prof. Dr. Ir. Meta Mehendradatta
Pembimbing I



Dr. Ir. Andi Hasizah, M.Si
Pembimbing II

Mengetahui,



Dr. Abdulhadi Bastian, S.TP., M.Si
Ketua Program Studi

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nur Azizah
NIM : G031 18 1312
Program Studi : Ilmu Dan Teknologi Pangan
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

**“PENGARUH KONSENTRASI ELISITOR DAN WAKTU ELISITASI TERHADAP
TOTAL ANTOSIANIN, AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, DAN GABA BERAS HITAM
(*Oryza sativa* L.)”**

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi saya tulis ini benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Februari 2023



Nur Azizah
G031181312

ABSTRAK

NUR AZIZAH (NIM. G031181312). Pengaruh Konsentrasi Elisitor dan Waktu Elisitasi Terhadap Total Antosianin, Aktivitas Antioksidan, dan GABA Beras Hitam (*Oryza sativa L.*). Dibimbing oleh META MAHENDRADATTA dan ANDI HASIZAH.

Latar belakang: Peningkatan akumulasi radikal bebas di alam menjadi ancaman munculnya penyakit-penyakit degeneratif pada manusia, sehingga diperlukan antioksidan untuk menangkalnya. Salah satu metode yang dapat meningkatkan senyawa metabolit sekunder yang kaya antioksidan pada tanaman adalah elisitasi. Beberapa faktor yang mempengaruhi elisitasi adalah konsentrasi elisitor yang digunakan serta waktu elisitasi. **Tujuan:** Untuk mengetahui konsentrasi elisitor dan waktu elisitasi terbaik untuk meningkatkan aktivitas antioksidan, total antosianin, dan kadar GABA. **Metode:** Proses elisitasi dan perkecambahan dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor berupa konsentrasi elisitor kontrol, 100 ppm, 200 ppm, dan 300 ppm yang dielisitasi selama 12, 18, dan 24 jam. **Hasil:** Penelitian pada perlakuan konsentrasi elisitor 200 ppm mencapai hasil aktivitas antioksidan dan total antosianin terbaik, yaitu masing-masing sebesar 328 ppm dan 34,13 mg/100 g. Adapun kadar GABA tertinggi diperoleh pada konsentrasi elisitor 300 ppm sebesar 130,54 mg/kg, namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi elisitor 200 ppm, yaitu sebesar 129,50 mg/kg. Adapun beras hitam yang dielisitasi pada waktu 18 jam memberikan nilai aktivitas antioksidan dan total antosianin terbaik, yaitu masing-masing sebesar 359 ppm dan 33,25 mg/100 g. **Kesimpulan:** Perlakuan konsentrasi elisitor terbaik dalam menghasilkan produk beras hitam terbaik yaitu pada perlakuan 200 ppm, adapun pada perlakuan waktu elisitasi diperoleh hasil terbaik pada perlakuan 18 jam.

Kata kunci: Antioksidan, antosianin, beras hitam, elisitasi, GABA.

ABSTRACT

NUR AZIZAH (NIM. G031181312). Effect of Elisitor Concentration and Elicitation Time on Total Anthocyanin, Antioxidant Activity, and GABA of Black Rice (*Oryza sativa* L.). Supervised by META MAHENDRADATTA and ANDI HASIZAH.

Background: The increased accumulation of free radicals in nature is a threat to the emergence of degenerative diseases in humans, so antioxidants are needed to counteract them. One method that can increase antioxidant-rich secondary metabolites in plants is elicitation. Several factors that affect elicitation are the concentration of the elicitor used and the elicitation time. **Aim:** To determine the best elicitor concentration and elicitation time to increase antioxidant activity, total anthocyanins, and GABA levels. **Method:** The elicitation and germination processes were carried out using a two-factor Completely Randomized Design (CRD) consisting of control elicitor concentrations of 100 ppm, 200 ppm and 300 ppm which were elicited for 12, 18 and 24 hours.. **Results:** Research on the treatment of 200 ppm elicitor concentration achieved the best results of antioxidant activity and total anthosainin, which were 328 ppm and 34.13 mg/100 g respectively. The highest GABA content was obtained at 300 ppm elicitor concentration of 130.54 mg/kg, but not significantly different from the 200 ppm elicitor concentration treatment, which was 129.50 mg/kg. The black rice which was elicited at 18 hours gave the best value of antioxidant activity and total anthocyanins, which were 359 ppm and 33.25 mg/100 g respectively. **Conclusion:** The best elicitor concentration treatment in producing the best black rice product was in the 200 ppm treatment, while in the elicitation time treatment the best results were obtained in the 18 hour treatment.

Keywords: Antioxidant, anthocyanin, black rice, elicitation, GABA.

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
PERSANTUNAN.....	Error! Bookmark not defined.
RIWAYAT HIDUP.....	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Beras Hitam (Oryza sativa L.).....	3
2.2 Kitosan.....	3
2.3 Radikal Bebas	4
2.4 Antioksidan.....	5
2.5 Antosianin.....	7
2.6 GABA.....	9
2.7 Germinasi (Perkecambahan).....	9
2.8 Elisitasi	10
2.8.1 Elisitor	11
2.8.2 Kitosan Sebagai Elisitor	13
3. METODE PENELITIAN	15
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
3.2 Alat dan Bahan	15
3.3 Prosedur Penelitian	15
3.3.1 Elisitasi dan Perkecambahan (Maligan, 2017)	15
3.3.2 Pembuatan Tepung Beras Hitam Berkecambah	15
3.4 Desain Penelitian	15

3.5 Rancangan Penelitian	16
3.6 Paramater Pengamatan	16
3.6.1 Uji Aktivitas Antioksidan (IC ₅₀) (Dimodifikasi dari Sadeli, 2016).....	16
3.6.2 Total Antosianin (Dimodifikasi dari Giusti dan Wrolstad, 2001).....	17
3.6.3 Uji GABA (Rohman et al., 2007).....	17
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Aktivitas Antioksidan	20
4.2 Total Antosianin	21
4.2 Kadar GABA	23
5. PENUTUP.....	25
5.1 Kesimpulan.....	25
5.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	26
LAMPIRAN	31

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kandungan Gizi Kelapa Tua.....	3
Tabel 2. Jenis-Jenis Antosianin.....	8
Tabel 3. Penelitian Terkait Elisitasi pada Tanaman.....	10
Tabel 4. Pemetaan kelompok elisitor.....	12
Tabel 5. Matriks Perlakuan Penelitian.....	16

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Kesehatan Manusia. Sumber :.....	5
Gambar 2. Mekanisme antioksidan endogen. Sumber : Pandey dan Rizvi, (2010).....	7
Gambar 3. Struktur dasar antosianin. Sumber: Delgado-Vargas et al., (2000).....	8
Gambar 4. Mekanisme Kerja Elisitor. Sumber : Ramirez-Estrada et al., (2016).....	13
Gambar 5. Diagram Alir Elisitasi dan Perkecambahan Beras Hitam dengan Perlakuan Konsentrasi Elisitor dan Lama Elisitasi	19
Gambar 6. Pengaruh Konsentrasi Elisitor Terhadap Aktivitas Antioksidan.....	20
Gambar 7. Pengaruh Waktu Elisitasi Terhadap Aktivitas Antioksidan.....	21
Gambar 8. Pengaruh Konsentrasi Elisitor Terhadap Total Antosianin	22
Gambar 9. Pengaruh Waktu Elisitasi Terhadap Total Antosianin	23
Gambar 10. Pengaruh Konsentrasi Elisitor Terhadap Kadar GABA.....	23

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1a. Tabel Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan (ppm)	31
Lampiran 1b. Rataan Antarperlakuan Konsentrasi Elisitor dan Waktu Elisitasi terhadap Aktivitas Antioksidan (ppm)	31
Lampiran 1c. Hasil Analisis ANOVA Konsentrasi Elisitor dan Waktu Elisitasi terhadap Aktivitas Antioksidan	31
Lampiran 1d. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Elisitor terhadap Aktivitas Antioksidan	32
Lampiran 1e. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Waktu Elisitasi terhadap Aktivitas Antioksidan	32
Lampiran 2a. Tabel Hasil Pengujian Total Antosianin (mg/100 g).....	32
Lampiran 2b. Rataan Antarperlakuan Konsentrasi Elisitor dan Waktu Elisitasi terhadap Total Antosianin (mg/100 g)	33
Lampiran 2c. Hasil Analisis ANOVA Konsentrasi Elisitor dan Waktu Elisitasi terhadap Total Antosianin (mg/100 g)	33
Lampiran 2d. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Elisitor terhadap Total Antosianin (mg/100 g)	33
Lampiran 2e. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Waktu Elisitasi terhadap Total Antosianin (mg/100 g)	34
Lampiran 3a. Tabel Pengamatan Pengaruh Konsentrasi Elisitor Terhadap Kadar GABA (mg/kg)	34
Lampiran 3b. Hasil Analisis ANOVA Pengaruh Konsentrasi Elisitor Terhadap Kadar GABA (mg/kg).....	34
Lampiran 3c. Hasil Uji Lanjut Pengaruh Konsentrasi Elisitor Terhadap Kadar GABA (mg/kg)	34

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas diartikan sebagai molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga bersifat tidak stabil atau reaktif. Untuk mencapai kestabilannya, molekul ini akan bereaksi dengan molekul lain untuk memperoleh pasangan elektron dan akhirnya menciptakan reaksi berantai berbahaya yang merusak membran sel normal dan menyebabkan munculnya berbagai penyakit degeneratif pada manusia (Khaira, 2010). Keberadaan radikal bebas pada tubuh dapat disebabkan oleh faktor internal dan eksternal. Faktor internal berupa hasil samping proses oksidasi dan pembakaran sel ketika berlangsungnya pernapasan, metabolisme sel, olahraga atau adanya aktivitas fisik berlebih, dan peradangan. Adapun faktor eksternal berupa paparan polusi di luar tubuh seperti asap kendaraan, asap rokok, logam berat, makanan, industri, dan radiasi matahari (Vasudevan, 2004). Pada dasarnya, tubuh memproduksi antioksidan yang secara alami dapat melawan radikal bebas, namun peningkatan paparan radikal bebas dari luar tubuh menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan, atau yang dikenal dengan istilah stres oksidatif (Santos-Sánchez et al., 2019). Kondisi ini menyebabkan tubuh membutuhkan asupan antioksidan yang mampu menetralkan radikal bebas berlebih.

Antioksidan memainkan peran penting dalam kesehatan manusia karena senyawa ini dapat menetralkan radikal bebas pada tubuh melalui mekanisme donor elektron (Santos-Sánchez et al., 2019). Antioksidan dapat diperoleh baik secara alami maupun sintetis, namun penggunaan antioksidan sintesis dalam waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya peradangan, kerusakan hati, hingga meningkatkan risiko karsinogenesis (Amarowicz et al., 2000). Oleh sebab itu, diperlukan antioksidan alami untuk menetralkan radikal bebas tanpa menimbulkan efek samping. Antioksidan alami sangat luas penyebarannya di alam, salah satunya adalah antosianin.

Antosianin merupakan metabolit sekunder yang bertanggung jawab dalam memberi warna merah oranye, merah, biru, ungu hingga kehitaman pada tanaman tingkat tinggi. Antosianin selain berperan pada tanaman, juga diketahui mampu menangkal radikal bebas atau bertindak sebagai antioksidan alami (Chaiyasut et al., 2016). Antosianin dapat dengan mudah ditemukan pada tanaman yang memiliki warna ungu hingga kehitaman, misalnya pada beras hitam. Beras hitam merupakan varietas yang memiliki kadar pigmen paling baik dibandingkan dengan varietas beras lainnya. Saat ini, beras hitam mulai banyak dimanfaatkan sebagai pangan fungsional, baik dikonsumsi sebagai nasi hitam maupun dibuat menjadi produk turunannya. Penelitian menunjukkan beras hitam memiliki aktivitas antioksidan sebesar 66,27% (Azis et al., 2015).

Teknik elisitasi untuk menstimulasi pembentukan metabolit sekunder pada tanaman sedang dikembangkan sebagai metode yang lebih efektif dibandingkan dengan rekayasa genetika, hibridisasi, maupun seleksi kloning (Garcia dan Encarna, 2013). Elisitasi merupakan proses induksi pembentukan senyawa sekunder melalui penambahan senyawa tertentu yang disebut elisior (Maligan, 2017). Prinsip dari metode ini adalah mengaplikasikan stresor pada tanaman untuk memancing respon pertahanannya dan menghasilkan metabolit sekunder (Kranner et al., 2010). Metode ini umumnya dikombinasikan dengan proses germinasi atau perkecambahan. Perkecambahan dikenal sebagai proses tumbuhnya tanaman

baru yang menyebabkan terjadinya perubahan fisik dan kimia akibat dari aktivitas metabolisme di dalam sel (Munarko et al., 2019). Kombinasi kedua proses ini dapat meningkatkan kandungan fenolik pada tanaman, termasuk kandungan antosianinnya. Saat ini, peningkatan kandungan metabolit sekunder melalui proses elisitasi dan perkecambahan telah dilakukan pada beberapa tanaman, seperti beras cokelat (Maligan, 2017), anggur (Cai et al., 2012), koro pedang (Ardiantika, 2019), dan berbagai penelitian lainnya. Namun, belum ditemukan variasi jenis elisitor yang dikombinasikan dengan perkecambahan pada beras hitam. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi terbaik dari elisitor dan lama perkecambahan dalam meningkatkan total antosianin.

1.2 Rumusan Masalah

Beras hitam menjadi varietas yang mulai banyak dimanfaatkan karena kandungan antosianinnya yang berguna dalam menangkal radikal bebas. Ditemukan bahwa teknik elisitasi secara signifikan dapat menginduksi senyawa metabolit sekunder pada tanaman. Oleh sebab itu dilakukan kombinasi antara konsentrasi elisitor dan waktu elisitasi untuk melihat perubahan yang terjadi pada total antosianin, aktivitas antioksidan, dan GABA beras hitam.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini yaitu untuk menghasilkan beras hitam dengan kualitas yang lebih baik

Tujuan khusus penelitian ini yaitu sebagai berikut.

1. Untuk mengetahui konsentrasi elisitor terbaik berdasarkan aktivitas antioksidan, total antosianin, dan kadar GABA beras hitam.
2. Untuk mengetahui pengaruh waktu elisitasi terhadap aktivitas antioksidan dan total antosianin beras hitam.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi mengenai kombinasi konsentrasi elisitor dan waktu elisitasi terbaik untuk meningkatkan aktivitas total antosianin, aktivitas antioksidan, dan GABA beras hitam.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Beras Hitam (*Oryza sativa* L.)

Sesuai dengan namanya, beras hitam merupakan varietas beras yang berwarna hitam. Warna pada varietas beras hitam disebabkan oleh tingginya kandungan antosianin yang terletak pada bagian pericarp, aleuron, dan endosperm beras (Narwidina, 2009). Beras hitam mengandung senyawa bioaktif senyawa polifenol, flavonoid, asam fitat, dan γ -orizanol yang berperan sebagai komponen antioksidan. Dewasa ini, beras hitam mulai populer dikonsumsi oleh masyarakat sebagai pangan fungsional. Adanya aktivitas antioksidan pada beras hitam menjadikan varietas ini banyak dimanfaatkan untuk menangkan radikal bebas yang dapat memicu berbagai jenis penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, penuaan dini, katarak, dan lain sebagainya (Khaira, 2010). Ketika dimasak, nasi hitam menghasilkan aroma dan rasa yang menggugah selera. Beras hitam umumnya oleh masyarakat asia dimasak bersama dengan beras putih untuk meningkatkan nilai visual dan gizi dari nasi yang dihasilkan. Selain kandungan gizi tersebut, beras hitam juga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi yaitu sebesar 66,27% (Azis et al., 2015) dengan total antosianin mencapai 244,45 mg/100 g (Kristantini et al., 2017). Selain dikonsumsi dalam bentuk nasi, beras hitam juga banyak dikonsumsi dalam bentuk produk olahannya.

Tabel 1. Kandungan Gizi Kelapa Tua

Zat Gizi	Kadar
Karbohidrat (%)	85
Lemak (%)	1,9
Protein (%)	1,04
Air (%)	10,5
Serat (%)	0,8
Abu (%)	0,4
Kalsium (Ca) (mg/ml)	0,368
Magnesium (Mg) (mg/ml)	1,95
Kalium (K) (mg/ml)	0,886
Besi (Fe) (mg/ml)	0,391
Zinc (Zn) (mg/ml)	0,021
Vitamin C (mg/ml)	0,6
Vitamin E (mg/ml)	31,6

Sumber: Mangiri et al., (2016)

2.2 Kitosan

Kitosan merupakan biopolimer yang diperoleh dari hasil deasetilasi senyawa kitin melalui reaksi dengan basa kuat dan pekat pada suhu yang tinggi dan waktu yang relatif lama (Pratiwi, 2014). Kitosan juga secara alami dapat ditemukan pada dinding sel beberapa spesies jamur yang termasuk ke dalam kelas Zygomycetes dan juga pada beberapa spesies khamir

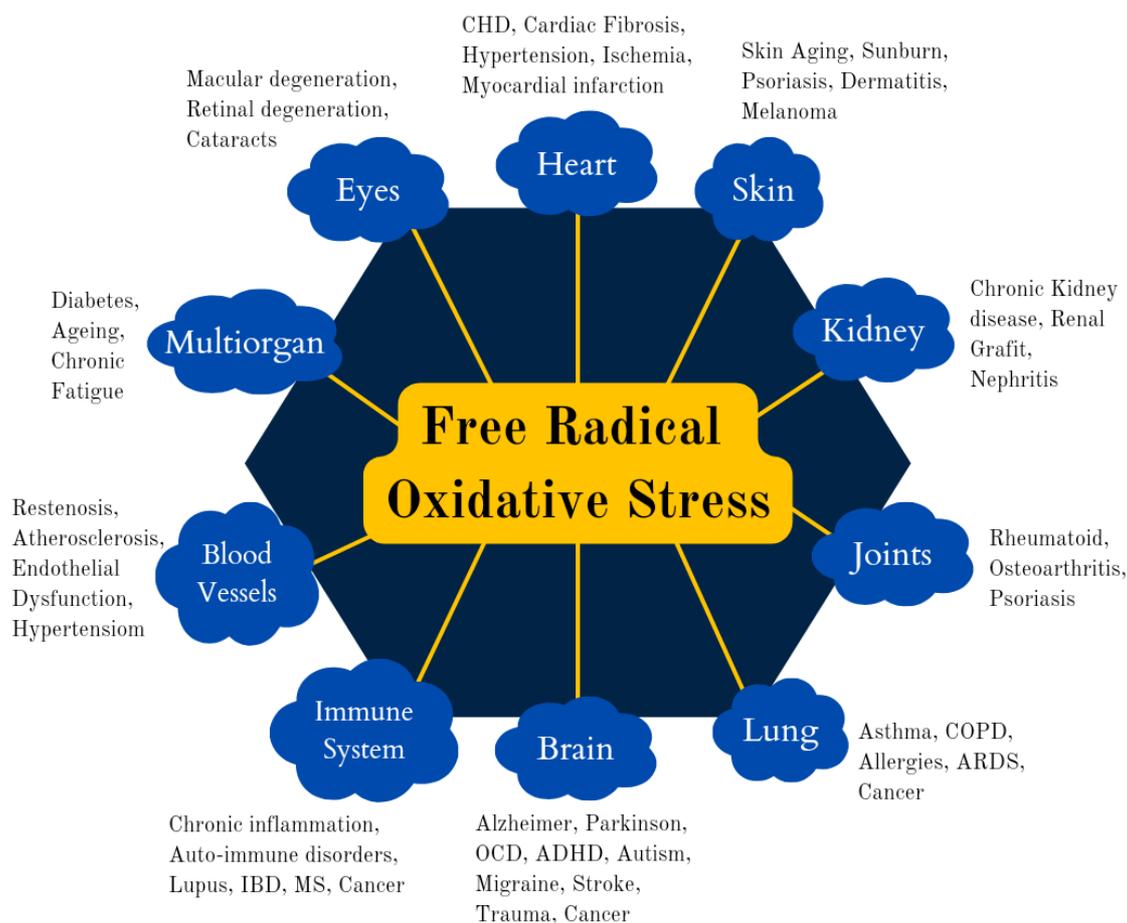
Rhizopus oryzae (Pochanavanich dan Suntornsuk, 2002). Kitosan bersifat tidak larut pada air tapi larut pada asam, biodegradable, tidak beracun, non-imunogenik, memiliki biokompatibilitas yang tinggi, memiliki sifat antimikroba, serta murah dan mudah didapatkan sehingga banyak dimanfaatkan pada bidang pangan, kedokteran dan farmasi, tekstil, kosmetik, hingga pertanian (Pratiwi, 2014). Kitosan yang saat ini banyak digunakan diperoleh dari kulit udang karena kulit udang memiliki kandungan kitin yang tinggi serta dapat dengan mudah diperoleh (Setha et al., 2019).

2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas dapat diartikan sebagai molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada kulit terluarnya hingga menyebabkan molekul ini menjadi tidak stabil. Molekul ini akan mencari titik kestabilannya dengan cara menarik elektron dari atom-atom lain yang berdekatan. Hal ini akan terus berlangsung hingga menghasilkan reaksi berantai yang mengakibatkan meningkatnya radikal bebas di dalam tubuh dan terjadi proses perusakan pada molekul makro pembentuk protein, karbohidrat, lemak, dan DNA (Khaira, 2010). Radikal bebas memiliki jenis yang cukup banyak, namun yang keberadaannya paling banyak ditemukan dalam sistem biologis tubuh adalah jenis Reactive Oxygen Species (ROS) dan jenis Reactive Nitrogen Species (RNS). Radikal bebas golongan ROS misalnya superoksida (*O_2), hidroksil (*OH), peroksil (ROO^*), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (1O_2), oksida nitrit (NO^*), peroksinitrit ($ONOO^*$), dan asam hipoklorit ($HOCl$) adapun golongan RNS seperti nitrit oksida (NO^*), nitrogen dioksida (NO_2^*), peroksinitrit ($ONOO^-$), nitrosoperoxy carbonate ($ONOOOCO_2^-$), nitronium ion (NO^{-2+}), asam peroksinitrat ($ONOOH$) dan dinitrogen trioksida (N_2O_3) (Santos-Sánchez et al., 2019).

Radikal bebas merupakan molekul yang keberadaannya kerap kali dipandang merugikan, namun sebenarnya radikal bebas memainkan peran ganda dalam kehidupan. Keberadaan radikal bebas pada tubuh dalam jumlah yang kecil atau sedang dapat membantu dalam ekspresi gen, pertumbuhan sel, pertahanan terhadap infeksi, dapat bertindak sebagai perangsang proses biokimia dalam sel, berperan dalam biosintesis molekul, hingga dapat digunakan dalam sistem imun untuk membunuh bakteri yang menginfeksi sel (Shinde et al., 2012). Molekul ini akan berbahaya ketika jumlahnya berlebih.

Keberadaan radikal bebas pada tubuh dapat terbentuk secara internal (endogen) dan eksternal (eksogen). Faktor internal berupa hasil samping proses oksidasi dan pembakaran sel ketika berlangsungnya pernafasan, metabolisme sel, olahraga atau adanya aktivitas fisik berlebih, dan peradangan. Adapun faktor eksternal berupa paparan polusi di luar tubuh seperti asap kendaraan, asap rokok, logam berat, makanan, industri, dan radiasi matahari (Vasudevan, 2004). Tubuh pada dasarnya mampu memproduksi antioksidan yang secara alami dapat menetralkan radikal bebas. Namun pada jumlah radikal bebas yang berlebih, akan terjadi stress oksidatif atau ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan yang memicu suatu peradangan, kerusakan sel, dan munculnya penyakit-penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, dan lain sebagainya (Akhlaghi dan Brian, 2009). Gambaran pengaruh radikal bebas terhadap kesehatan manusia dapat dilihat pada gambar 01.



Gambar 1. Pengaruh Radikal Bebas Terhadap Kesehatan Manusia. Sumber :

2.4 Antioksidan

Antioksidan diartikan sebagai senyawa yang mampu menetralkan radikal bebas sehingga dapat mencegah penyakit-penyakit degeneratif yang dipicu oleh radikal bebas seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, dan penyakit lainnya. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang memungkinkan elektronnya diberikan kepada molekul radikal bebas tanpa membuat dirinya menjadi reaktif (Akhlaghi dan Brian, 2009). Mekanisme tersebut terjadi karena antioksidan bersifat sangat mudah teroksidasi sehingga sangat mudah bereaksi dengan radikal bebas (Khaira, 2010). Aktivitas antioksidan dari suatu bahan dapat diukur, baik secara in vivo maupun in vitro. Pengujian secara in vivo dilakukan dengan uji hewan, tes SOD, mengukur indeks peroksidasi lipid, dan pengujian total kapasitas antioksidan, adapun secara in vitro dapat dilakukan menggunakan metode radikal hidrosil, radikal superoksid, radikal oksigen singlet, radikal nitrit oksida, radikal ABTS, dan DPPH (Haerani et al., 2018). Berdasarkan fungsinya di dalam tubuh, radikal bebas dapat digolongkan menjadi 3 bagian, yaitu : (Tandon et al., 2005)

1. Antioksidan primer, mencegah terbentuknya radikal bebas baru dengan cara menetralkan radikal bebas yang telah ada. Antioksidan jenis ini bekerja mengganggu proses inisiasi ataupun proses propagasi pada proses pembentukan radikal bebas. Contoh antioksidan primer yaitu enzim SOD (Superoxide Dismutase), BHA, dan BHI.
2. Antioksidan sekunder, berfungsi menangkap dan menghentikan pembentukan rantai radikal bebas. Antioksidan golongan ini terdiri dari dua jenis antioksidan yang saling berinteraksi sehingga meningkatkan efektifitasnya. Antioksidan jenis ini terdiri dari

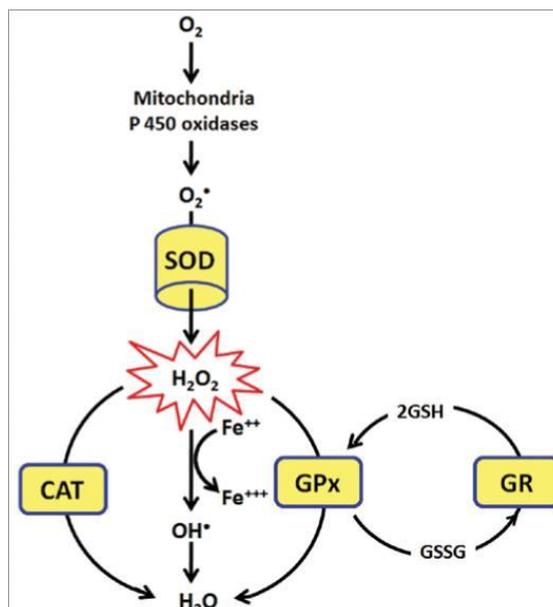
(SOD), Glutathion Peroxidase (GPx) dan katalase.

3. Antioksidan tersier, berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak akibat radikal bebas. Antioksidan dalam jenis ini terdiri dari metionin sulfosida reduktase, DNA repair enzyme, protease, transfarase, dan lipase.

Adapun berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat digolongkan menjadi 3 bagian, yaitu : (Khaira, 2010; Amarowicz et al., 2000)

1. Antioksidan endogen atau yang juga dikenal sebagai enzim antioksidan, yaitu antioksidan yang secara alami diproduksi oleh tubuh, diantaranya adalah Superoxide Dismutase (SOD), Glutathion Peroxidase (GPx) dan katalase yang banyak ditemukan pada organ hati, ginjal, paru-paru, dan sel darah merah, serta pada sitosol dan mitokondria.
2. Antioksidan sintesis, yaitu jenis antioksidan yang terbuat dari bahan sintesis dan banyak digunakan pada produk-produk pangan, seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluena (BHT), propil galat, dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ). Namun, telah ditemukan bahwa penggunaan antioksidan sintetik dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan efek samping berupa peradangan, kerusakan hati, hingga meningkatkan resiko kanker.
3. Antioksidan alami, yaitu antioksidan yang dapat diperoleh dari alam seperti pada bagian kayu, kulit, akar, daun, bunga, biji, dan bagian lain dari tanaman. Antioksidan jenis ini sangat banyak variannya, seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E, asam folat, karotenoid, antosianin, polifenol, dan senyawa-senyawa dalam golongan flavonoid. Antioksidan alami dapat dengan mudah ditemukan pada bahan pangan segar.

Pada dasarnya, antioksidan diproduksi oleh tubuh untuk menangkal radikal bebas yang terbentuk, namun pada akumulasi radikal bebas yang berlebih dimana produksi antioksidan oleh tubuh tidak mencukupi, maka dibutuhkan asupan antioksidan dari luar. Antioksidan alami memainkan peranan penting bagi kesehatan manusia, utamanya dengan semakin meningkatkan paparan radikal bebas eksogen akibat polusi. Antioksidan yang berasal dari alam dapat menetralkan radikal bebas di dalam tubuh tanpa memberikan efek samping (Khaira, 2010). Peran antioksidan alami dalam menangkal radikal bebas dapat dengan cara menetralkan senyawa ROS dan RNS melalui transfer kation hidrogen, memblokir reaksi inisiasi dan propagasi pada pembentukan radikal bebas, dan merangsang terbentuknya antioksidan endogen di dalam tubuh (Santos-Sánchez et al., 2019). Secara rinci, mekanisme *radical scavenging* oleh antioksidan endogen dapat digambarkan sebagai berikut :



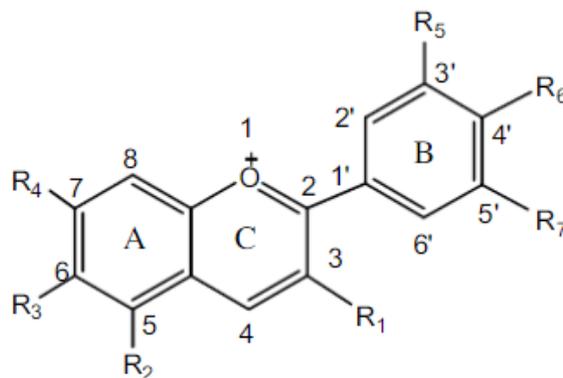
Gambar 2. Mekanisme antioksidan endogen. Sumber : Pandey dan Rizvi, (2010).

Mekanisme antioksidan tersebut dijabarkan sebagai berikut : (Pandey dan Rizvi, 2010; Werdhasari 2014; Wijaya dan Junaidi, 2011)

1. Pertama-tama, radikal superoksida (O_2^*) yang terbentuk dari lingkungan dan proses metabolisme akan diubah oleh enzim superoksida dismutase (SOD) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang masih reaktif. Hidrogen peroksida yang terbentuk akan segera dikalisis oleh enzim katalase (CAT) dan enzim glutathion peroksidase (GPx).
2. Enzim katalase bekerja dengan cara menggunakan 2 molekul H_2O_2 , satu molekul sebagai substrat donor elektron dan molekul lain sebagai substrat elektron akseptor, sehingga dihasilkan $2H_2O$ dan O_2 dengan mekanisme reaksi : $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$
3. Enzim glutathion peroksidase bekerja menetralkan H_2O_2 dengan cara mengambil hidrogen dari dua molekul Glutathion tereduksi (GSH) hingga menghasilkan dua H_2O dan satu molekul glutathion teroksidasi (GSSG). Adapun mekanisme reaksinya, yaitu: $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow 2H_2O + GSSG$. Enzim glutathion reduktase (GR) akan meregenasi molekul GSSG menjadi GSH dengan menggunakan NADPH sebagai sumber hidrogen sehingga molekul GSH kembali digunakan untuk membantu kerja enzim GPx.

2.5 Antosianin

Kata antosianin diambil dari bahasa Yunani, yaitu *anthos* (bunga) dan *kyanos* (biru). Antosianin merupakan pigmen dari kelompok flavonoid yang bertanggung jawab dalam memberikan warna merah, biru, ungu, dan hitam pada tanaman. Lebih dari 600 jenis antosianin telah ditemukan di alam yang tersebar lebih dari 27 famili, 73 genus, dan jumlah spesies yang tidak terhitung pada tanaman tingkat tinggi (Martin et al., 2017). Meskipun jarang ditemukan pada tanaman tingkat rendah, namun dikabarkan antosianin telah terdeteksi pada lumut dan pakis (Delgado-Vargas et al., 2000). Antosianin merupakan metabolit sekunder berupa pigmen larut air yang bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dalam kondisi asam maupun basa. Pigmen ini akan membentuk warna merah pada media asam, sedangkan pada media basa akan berwarna biru dan ungu (deMan, 1997).



Gambar 3. Struktur dasar antosianin. Sumber: Delgado-Vargas et al., (2000)

Struktur dasar antosianin (gambar 03) adalah gugus antosainidin yang terdiri dari dua cincin aromatik (A dan B) yang dihubungkan oleh cincin heterosiklik yang mengandung oksigen (C). Ketika antosainidin berikatan dengan gula pada gugus substitusinya maka disebut sebagai antosianin yang dapat dibedakan berdasarkan jumlah dan posisi gugus hidroksil, sifat dan jumlah gula yang terikat, serta gugus alifatik dan gugus aromatik yang terikat pada gula (Castaneda-Ovando et al., 2009). Gugus substitusi (R) pada struktur antosainidin dapat berupa O, OH, OCH₃ bergantung pada jenis antosianin yang terbentuk, dimana gugus OH yang lebih banyak akan menghasilkan warna kebiruan sedangkan gugus OCH₃ yang lebih banyak akan mengarah ke warna merah (Delgado-Vargas et al., 2000). Terdapat 6 jenis antosianin yang paling banyak ditemukan di alam, yaitu sianidin (Cy), delphinidin (Dp), malvidin (Mv), pelargonidin (Pg), peonidin (Pn), dan petunidin (Pt). Pola gugus substitusi dari 6 jenis antosianin tersebut dapat dilihat pada tabel ...

Tabel 2. Jenis-Jenis Antosianin

Nama	Singkatan	Gugus Substitusi							Warna
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	
Cyanidin	Cy	OH	OH	H	OH	OH	OH	H	Jingga-merah
Delphinidin	Dp	OH	OH	H	OH	OH	OH	OH	Biru-merah
Malvidin	Mv	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OCH ₃	Biru-merah
Pelargonidin	Pg	OH	OH	H	OH	H	OH	H	
Peonidin	Pn	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	H	Jingga-merah
Petunidin	Pt	OH	OH	H	OH	OCH ₃	OH	OH	Biru-merah

Sumber : (Castaneda-Ovando et al., 2009)

Kestabilan antosianin dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu pH, suhu, cahaya, dan oksigen. Selain mempengaruhi warna antosianin, pH juga mempengaruhi kestabilannya, dimana antosianin akan lebih stabil pada pH yang sangat asam. Selain itu, suhu yang rendah, keadaan bebas cahaya, keberadaan ion logam, kopigmen, oksigen, dan tekanan dapat mempengaruhi stabilitas antosianin (Pedro et al., 2016). Ketika senyawa ini tidak stabil, akan terjadi hidrolisis yang menyebabkan strukturnya menjadi terbuka dan membentuk senyawa yang tidak berwarna (Marszalek et al., 2017).

Antosianin memberikan peranan penting pada keberadaannya di dalam tanaman, yaitu menambah daya tarik serangga yang dapat membantu proses penyerbukan, mempertahankan tanaman dari serangan infeksi dan jamur, melindungi dari suhu dingin dengan cara menyerap energi dan mengalirkannya ke daun, melindungi daun dari kerusakan yang disebabkan oleh intensitas cahaya tinggi dan radiasi (Campanella et al., 2014; Rosyida et al., 2017). Selain pada tanaman, antosianin juga memberi peranan penting pada manusia. Antosianin banyak digunakan sebagai pewarna alami pada makanan (Ekawati et al., 2015). Antosianin juga tercatat memiliki aktivitas antibakteri, antiinflamasi, serta antioksidan yang dapat menetralkan keberadaan radikal bebas yang berlebih pada tubuh sehingga mencegah munculnya penyakit-penyakit degeneratif seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, dan penyakit lainnya (Martin et al., 2017).

2.6 GABA

Neurotransmitter merupakan mediator kimia yang berperan dalam menghantarkan impuls antar sel, mediator ini ada yang bekerja sebagai eksitatorik/perangsang (*excitatory neurotransmitter*) dan ada juga yang bekerja sebagai penghambat (*inhibitory neurotransmitter*) (Paz et al., 2021). Aktivitas neurotransmitter eksitatorik yang berlebih dalam otak akan menimbulkan perasaan kegelisahan, mudah marah, susah tidur, kejang, dan gangguan gerak sehingga perlu diimbangi dengan keberadaan neurotransmitter penghambat yang berperan sebagai rem di otak. *Gamma-Aminobutyric Acid* (GABA) merupakan asam amino non-protein yang berperan sebagai neurotransmitter penghambat utama dalam sistem saraf pusat (Ghit et al., 2021). GABA dihasilkan melalui proses dekarboksilasi asam glutamat

2.7 Germinasi (Perkecambahan)

Perkecambahan dapat diartikan sebagai rangkaian proses-proses biologis yang terjadi pada biji dan sereal melibatkan enzim-enzim yang terdapat di dalam sel dan memicu tumbuhnya bakal tunas (Munarko et al., 2019). Selama proses perkecambahan, terdapat 3 fase yang terjadi, yaitu fase I (imbibisi), fase II (pembentukan bakal tunas), dan fase III (pemanjangan tunas). Fase imbibisi merupakan proses masuknya air ke dalam biji secara cepat untuk mempersiapkan fisik biji yang diperlukan untuk perkecambahan. Fase pembentukan bakal tunas merupakan fase dimana berbagai jenis senyawa mengalami berbagai macam reaksi biologis untuk mendukung pertumbuhan tunas. Sedangkan pada fase pemanjangan tunas ditandai dengan memanjangnya bakal tunas (Cho dan Lim, 2016). Terdapat 2 faktor yang mempengaruhi proses perkecambahan, yaitu faktor internal yang terdiri dari tingkat kematangan dan kualitas benih, kadar air, dan karbohidrat sebagai cadangan makanan selama proses perkecambahan, serta faktor eksternal yang meliputi suhu, pH, cahaya, oksigen, kelembaban, dan komposisi udara (Mudiana, 2007).

Perkecambahan dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu perendaman penuh dan perendaman parsial. Perendaman penuh dilakukan dengan cara merendam biji di dalam air selama beberapa hari hingga muncul kecambah, adapun perendaman parsial dilakukan dengan cara merendam biji selama waktu tertentu lalu ditiriskan dan dikecambahkan pada kondisi atmosfer (Munarko et al., 2019). Perkecambahan seringkali dijadikan sebagai metode untuk meningkatkan kualitas gizi dari suatu bahan pangan, termasuk pada beras. Ekowati dan Purwestri (2016) melaporkan bahwa proses perkecambahan dapat meningkatkan kandungan GABA, total fenol, dan aktivitas antioksidan dari beras cokelat atau beras pecah kulit. Selama

proses perkecambahan, enzim-enzim yang berada pada biji mengubah molekul-molekul makro menjadi senyawa yang lebih sederhana, seperti pada pati, protein, dan lemak. Kadar pati cenderung menurun selama proses perkecambahan karena adanya enzim-enzim yang menghidrolisis pati menjadi molekul yang lebih sederhana, namun perkecambahan cenderung meningkatkan kadar serat pangan (Pinkawet et al., 2017; Dewi et al., 2018). Kandungan protein juga cenderung menurun akibat proses pemecahan molekul, namun kadar asam amino bebasnya akan meningkat jauh lebih tinggi dan meningkatkan daya cerna proteinnya (Dewi et al., 2018). Adapun kandungan jumlah asam lemak juga mengalami penurunan selama proses perkecambahan, utamanya pada jumlah asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh rantai tunggal, sedangkan asam lemak jenuh rantai ganda mengalami peningkatan (Indriarsih et al., 2017).

2.8 Elisitasi

Elisitasi merupakan metode yang dapat digunakan untuk menginduksi pembentukan metabolit sekunder melalui penambahan elisitor (Maligan, 2017). Elisitasi pada awalnya ditujukan untuk meningkatkan resistensi tanaman terhadap serangan mikroba patogen, namun selanjutnya ditemukan bahwa tidak hanya meningkatkan resistensi tetapi elisitasi juga dapat merangsang pembentukan metabolit sekunder pada tanaman (Indriani, 2015). Elisitasi dapat dilakukan dengan cara perendaman biji ke dalam larutan elisitor atau dilakukan penyemprotan pada daun (Baenas et al., 2014). Saat ini, penerapan elisitasi untuk meningkatkan metabolit sekunder menjadi topik yang menarik perhatian karena dinilai lebih efektif jika dibandingkan dengan rekayasa genetika, hibridisasi, maupun kloning (Garcia dan Encarna, 2013). Beberapa penelitian yang menerapkan teknik elisitasi untuk meningkatkan senyawa metabolit sekunder pada tanaman dapat dilihat pada tabel...

Tabel 3. Penelitian Terkait Elisitasi pada Tanaman

No	Elisitasi	Hasil	Sumber
1	Elisitasi kedelai hitam (<i>Glycine soja</i>) menggunakan elisitor polisakarida (kitosan, gum arab, maltodekstrin, dan gum xanthan) untuk meningkatkan aktivitas antioksidan.	Elisitor polisakarida jenis kitosan adalah yang paling efektif dalam meningkatkan aktivitas antioksidan kedelai hitam. Kitosan pada konsentrasi 650 ppm mampu meningkatkan aktivitas antioksidan kedelai hitam hingga 896,694mg AAE/gram sampel.	Indriani (2015)
2	Elisitasi kalus tanaman mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.) menggunakan Ragi <i>Sacharomyces cerevisiae</i> H dalam meningkatkan kandungan kuinon.	Kandungan kuinon pada kalus mengkudu yang telah dielisitasi pada konsentrasi elisitor 5% mengalami peningkatan dibandingkan kontrol	Purwianingsih dan Hamdiyati, (2007)
3	Elisitasi menggunakan kitosan untuk meningkatkan total antosianin dan	Kadar beberapa senyawa antosianin serta senyawa	Singh et al., (2020)

No	Elisitasi	Hasil	Sumber
	total fenolik pada buah anggur (<i>Vitis vinifera</i> L.)	fenol lainnya seperti kuersetin, rutin, dan katekin diamati meningkat pada buah anggur yang telah dielisitasi menggunakan elisitor kitosan.	
4	Elisitasi kultur suspensi sel sambiloto menggunakan elisitor asam jasmonik untuk meningkatkan sintesis senyawa bioaktif andrografolid	Penambahan elisitor asam jasmonik sebanyak 10 mikroliter pada kultur sel sambiloto dapat meningkatkan kandungan senyawa andrografolid hingga 1,8 kali lipat dibandingkan kontrol.	Habibah (2009)
5	Elisitasi menggunakan elisitor kitosan pada beras pecah kulit untuk meningkatkan aktivitas antioksidan	Adanya peningkatan aktivitas antioksidan pada beras pecah kulit yang telah dielisitasi menggunakan elisitor kitosan pada konsentrasi 100 ppm	Maligan (2017)

2.8.1 Elisitor

Elisitor merupakan senyawa yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan fisiologis pada tanaman sehingga dimanfaatkan dalam proses elisitasi. Elisitor biotik pertama kali diperkenalkan pada tahun 1970-an, dan sejak saat itu penelitian mengenai pemanfaatan senyawa turunan patogen untuk meningkatkan metabolit sekunder pada tanaman mulai banyak dikembangkan (Baenas *et al.*, 2014). Awalnya, istilah elisitor digunakan pada zat yang mampu menginduksi pembentukan senyawa fitoaleksin, namun saat ini umumnya mengacu pada zat yang dapat memicu berbagai respon pertahanan pada tanaman (Shams-Ardakani *et al.*, 2005; Ramirez-Estrada *et al.*, 2016).

Berdasarkan interaksinya, elisitor dikelompokkan menjadi elisitor spesifik dan elisitor non-spesifik. Elisitor spesifik seperti fungi, bakteri, virus, atau pangkal tanaman merupakan elisitor yang hanya dapat bekerja pada beberapa jenis tanaman untuk memicu respon pertahanan yang spesifik pula, adapun elisitor non-spesifik seperti karbohidrat, protein, dan sebagainya, menginduksi mekanisme pertahanan secara non-spesifik pada berbagai jenis tanaman (Baenas *et al.*, 2014).

Elisitor berdasarkan asalnya dapat digolongkan menjadi elisitor endogen dan elisitor eksogen. Elisitor endogen merupakan elisitor yang berasal dari dalam tanaman itu sendiri seperti dinding sel yang rusak akibat luka, adapun elisitor eksogen yaitu elisitor yang berasal dari luar sel seperti jamur, senyawa polisakarida, dan sebagainya (Namdeo, 2007). Berdasarkan sumber diperolehnya, elisitor terbagi menjadi dua kelompok, yaitu elisitor abiotik dan elisitor biotik. Elisitor abiotik umumnya diperoleh dari garam-garam anorganik atau sumber yang non-biologi, misalnya elisitor kimia (asam asetat, benzothiadiazole, silicon,

etanol, etena, tembaga sulfat (CuSO_4), dan elistor fisik (penambahan gas dengan komposisi tertentu, chilling, CO_2 , pengasaman, perlakuan suhu ekstrim, tekanan tinggi, osmolaritas yang tinggi atau sangat rendah, irradiasi UV). Adapun elisitor biotik merupakan elisitor yang diperoleh dari sumber biologi, misalnya pektin dan selulosa, kitosan, kitin dan glukukan, alginat, gum arab, gum guar, ekstrak yeast, galakturonida, guluronat, mannan, mannuronat, selulase, kriptogein, glikoprotein, oligandrin, pektoliase, hidrolisat protein ikan, laktoferrin, spora jamur, dinding sel miselia, dinding sel mikroba (Baenas et al., 2014). Pemetaan kelompok elisitor dapat dilihat pada tabel ...

Tabel 4. Pemetaan kelompok elisitor

Kelompok Elisitor Berdasarkan Asalnya		
Eksogen	Endogen	
Berasal dari luar sel, misalnya elisitor kelompok polisakarida, protein, dan sebagainya.	Berasal dari dalam tanaman - Dinding sel yang rusak akibat luka - Senyawa yang terbentuk melalui reaksi sekunder yang diinduksi oleh sinyal biotik atau abiotik di dalam sel	
Kelompok Elisitor Berdasarkan Sifatnya		
Elisitor	Kelompok	Contoh
Biotik	Protein	Glikoprotein, lektin, pektoliase, <i>cryptogein</i> , oligandrin, dll.
	Karbohidrat	Oligogalakturonida, pektin dan selulosa, kitosan, kitin dan glukukan, alginat, gum arab, gum guar, guluronat, mannan, mannuronat, dll
	Bakteri	<i>Pseudomonas putida</i> , <i>Azospirillum fluorescens</i> , <i>Allorhizobium</i> , <i>Rhizobium</i> , dll.
	Jamur	<i>Fusarium</i> , <i>Mucor</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Azotobacter</i> , <i>Azospirillum</i> , dll.
	Hormon pertumbuhan	Auxin, asam giberelin, asam salisilat, metil jasmonat, etilen, dll.
Abiotik	Logam berat (Kimia)	Zn, Cd, Pb, Cr, Fe, Mn, Cu, Ag, Co, Ni, dll.
	Pengasam (Kimia)	Benzothiadiazole, silicon, etanol, etena
	Sinar (Fisik)	Irradiasi kontinu, radiasi ultraviolet, dll.
	Suhu (Fisik)	Suhu ekstrim
	Pengeringan (Fisik)	Defisit air, osmotik, oksidatif, dll.

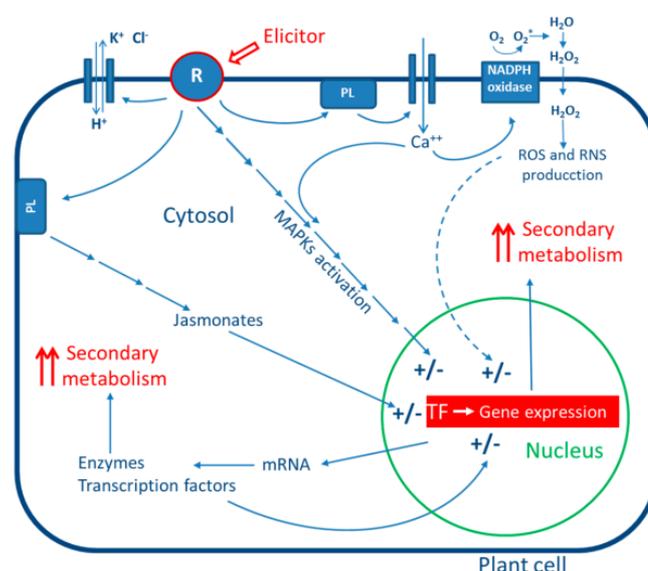
Sumber : (Namdeo, 2007; Thakur, 2018).

Respon tanaman terhadap elisitor berbeda-beda, bergantung pada karakteristik genetik dan kondisi fisiologisnya (Baenas et al., 2014). Namun, secara garis besar mekanisme elisitor dalam merangsang pembentukan metabolit sekunder adalah dengan menyerang dinding sel

tanaman dan tanaman akan memberi respon sebagai bentuk pertahanan diri dengan cara membentuk metabolit sekunder (Indriani, 2015). Secara rinci, mekanisme kerja elisitor dalam menginduksi pembentukan metabolit sekunder dijelaskan oleh Baenas et al., (2014); Ramirez-Estrada et al., (2016); Indriani, (2015); dan Sitinjak, (2010) dapat melalui beberapa tahapan, yaitu :

- Sel tanaman mengenali keberadaan elisitor. Terdapat dua mekanisme pengenalan elisitor, yaitu sinyal keberadaan elisitor ditangkap oleh reseptor yang terdapat pada membran sel, atau elisitor secara langsung berikatan pada DNA yang terdapat pada inti sel tumbuhan.
- Terjadi perubahan aliran ion yang melewati membran sel (influx/efflux) yang menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah ion Ca^{2+} di dalam sel. Melalui mekanisme fosforilasi protein, ion Ca^{2+} bersama dengan enzim calmodulin akan melakukan aktivasi enzim protein kinase.
- Keberadaan protein kinase memicu aktifnya NADPH oksidase yang mengubah ion O_2 menjadi oksigen reaktif (O_2^-) dan memproduksi sejumlah ROS dan RNS.
- Senyawa ROS terbentuk sebagai sistem pertahanan untuk melawan serangan elisitor yang dikenali sebagai mikroba patogen, namun akibat produksi ROS yang berlebih akan memicu terjadinya reaksi hipersensitif yang jika dibiarkan akan menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel.
- Hal ini menyebabkan terjadinya lignifikasi pada dinding sel untuk melindungi tumbuhan, gen yang bertanggungjawab pada sistem pertahanan juga akan memproduksi fitoaleksin untuk menangkal serangan, serta terjadi sintesis asam jasmonat dan asam salisilat yang secara langsung menginduksi ekspresi gen yang berhubungan dengan pertahanan untuk memproduksi metabolit sekunder.

Mekanisme kerja elisitor dapat dilihat pada gambar...



Gambar 4. Mekanisme Kerja Elisitor. Sumber : Ramirez-Estrada et al., (2016).

2.8.2 Kitosan Sebagai Elisitor

Saat ini, kitosan mulai banyak diteliti dalam pemanfaatannya sebagai elisitor karena dapat memunculkan mekanisme pertahanan tumbuhan secara alami dalam bentuk metabolit

sekunder (Ferri dan Tassoni, 2011). Indriani (2015) melaporkan bahwa elisitor kitosan memberikan peningkatan aktivitas antioksidan tertinggi pada kedelai hitam dibandingkan dengan penggunaan elisitor gum arab, gum xanthan, dan maltodekstrin. Penelitian yang dilakukan oleh Maligan (2017) menunjukkan terdapat peningkatan antioksidan pada beras yang telah diberi perlakuan elisitasi dan perkecambahan. Penggunaan kitosan sebagai elisitor juga dapat meningkatkan produksi antosianin pada buah beri (Singh et al., 2020) dan anggur (Cai et al., 2012). Pengaplikasian kitosan sebagai elisitor juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada pappermint (Salimgandomi dan Shabrangi, 2016), biji bunga matahari (Supapvanich et al., 2018), kacang merah (Limón et al., 2014), dan kedelai hitam (Indriani, 2015).