

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN KONSENTRASI SUBSTRAT
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEKATUL TERFERMENTASI
OLEH *Rizhopus oryzae***

SKRIPSI

**Oleh:
ZAKIYATUL FIKRIYAH
NIM. 13630053**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN KONSENTRASI SUBSTRAT
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEKATUL TERFERMENTASI
OLEH *Rizhopus oryzae***

SKRIPSI

**Oleh:
ZAKIYATUL FIKRIYAH
NIM. 13630053**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN KONSENTRASI SUBSTRAT
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEKATUL TERFERMENTASI
OLEH *Rizhopus oryzae***

SKRIPSI


Oleh:
ZAKIYATUL FIKRIYAH
NIM. 13630053

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 30 Juni 2018

Pembimbing I



Akyunul Jannah, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Pembimbing II


Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia




Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**PENGARUH LAMA FERMENTASI DAN KONSENTRASI SUBSTRAT
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BEKATUL TERFERMENTASI
OLEH *Rizhopus oryzae***

SKRIPSI

Oleh:
ZAKIYATUL FIKRIYAH
NIM. 13630053

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 30 Juni 2018

Penguji Utama : A. Ghanaim Fasya, M.Si (.....) NIP. 19820616 200604 1 002
Ketua Penguji : Anik Maunatin, M.P (.....) NIDT. 19760105 20180201 2 248
Sekretaris Penguji : Akyunul Jannah, M.P (.....) NIP. 19750410 200501 2 009
Anggota Penguji : Ahmad Hanapi, M.Sc (.....) NIDT. 19851225 20160801 1 069

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia



Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Zakiyatul Fikriyah
NIM : 13630053
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 05 Juli 2018
Yang membuat pernyataan,



Zakiyatul Fikriyah
NIM. 13630053

Kata Pengantar

Puji syukur penulis haturkan kepada Allah SWT. yang telah memberikan taufiq dan hidayahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan hasil penelitian yang berjudul “Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi oleh *Rhizopus oryzae*”. Sholawat serta salam, tidak lupa penulis ucapkan kepada Nabi besar Muhammad SAW. yang telah menunjukkan jalan kebenaran melalui ajaran agama Islam.

Laporan hasil penelitian ini disusun sebagai tahapan untuk menuju skripsi sebagai salah satu upaya mencapai gelar Strata 1 serta sebagai pengaplikasian ilmu yang telah didapat. Laporan hasil penelitian ini berisi tentang pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan. Semoga dari apa yang penyusun upayakan ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Ucapan terimakasih juga tidak lupa penulis sampaikan kepada:

1. Bapak dan Ibu tercinta sebagai orang tua serta saudara-saudara kami yang selalu memberi motivasi kepada kami.
2. Akyunul Jannah, S.Si, M.P selaku dosen pembimbing Fakultas, yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, mengarahkan dan memberika masukan dalam penyusunan skripsi ini.
3. Anik Maunatin, M.P selaku dosen konsultan yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, mengarahkan dan memberi masukan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen pembimbing agama pada penelitian ini yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasihat kepada penyusun

dalam menyelesaikan laporan hasil penelitian ini sehingga terdapat integrasi antara sains dan islam yang dilandaskan pada Alqur'an dan hadits.

5. Seluruh Dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
6. Teman-teman Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang khususnya angkatan 2012, yang telah memberi motivasi, informasi, dan masukannya pada penulis.

Teriring do'a dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan kepada penyusun, mendapatkan balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Aamiin. Dengan menyadari atas terbatasnya ilmu yang penyusun miliki, laporan hasil penelitian ini tentu jauh dari sempurna. Untuk itu penyusun dengan senang hati mengharap kan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan, semoga laporan hasil penelitian ini dapat kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Malang, April 2018

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Hipotesis	8
1.5 Batasan Masalah	8
1.6 Manfaat Penelitian.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Bekatul.....	9
2.2 Selulosa.....	11
2.3 Enzim Selulase	13
2.4 Antioksidan.....	15
2.4.1 Asam Ferulat.....	17
2.4.2 Asam p-Kumarat	18
2.4.3 Asam Galat	19
2.5 Fermentasi	20
2.6 Jamur <i>Rizhopus oryzae</i>	24
2.7 Ekstraksi	28
2.8 Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil).....	29
2.9 Manfaat Tumbuhan di dalam Al-Qur'an.....	32
BAB III METODE PENELITIAN	35
3.1 Pelaksanaan Penelitian	35
3.2 Alat dan Bahan	35
3.2.1 Alat	35
3.2.2 Bahan.....	35
3.3 Rancangan Penelitian	36
3.4 Tahapan Penelitian	37
3.5 Prosedur Penelitian.....	37
3.5.1 Sterilisasi Alat.....	37
3.5.2 Preparasi Sampel.....	37
3.5.3 Pembuatan Media.....	38
3.5.3.1 Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA) ..	38
3.5.3.2 Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB)..	38

3.5.3.3 Pembuatan Aquades Steril	38
3.5.4 Regenerasi Jamur <i>Rizhopus oryzae</i>	39
3.5.5 Pembuatan Inokulum Jamur.....	39
3.5.6 Fermentasi Bekatul.	39
3.5.7 Ekstraksi Senyawa Antioksidan Bekatul Terfermentasi	40
3.5.8 Uji Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi	40
3.5.8.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH	40
3.5.8.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel	40
3.6 Analisis Data	41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1 Preparasi Sampel	42
4.2 Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Agar</i>	43
4.3 Regenerasi Jamur <i>Rizhopus oryzae</i>	44
4.4 Kurva Perumbuhan	44
4.5 Pembuatan Inokulum Jamur	46
4.6 Fermentasi Bekatul dengan Variasi Lama Fermentasi dan Konsentrasi Substrat Terhadap Peningkatan Aktivitas Antioksidan oleh <i>Rizhopus oryzae</i>	46
4.6.1 Ekstraksi Senyawa Antioksidan Bekatul Terfermentasi	49
4.6.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil).....	54
4.7 Pemanfaatan Bekatul dalam Prespektif Agama Islam.....	61
BAB V PENUTUP.....	64
5.1 Kesimpulan.....	64
5.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN.....	72

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Zat Gizi Bekatul.....	10
Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Substrat dan Lama Fermentasi	36
Tabel 4.1 Rendemen Ekstrak Bekatul Terfermentasi oleh <i>Rizhopus oryzae</i>	50
Tabel 4.2 Data SPSS Rendemen Ekstrak Bekatul Terfermentasi	52
Tabel 4.3 Uji Lanjut Tukey Lama Fermentasi	53
Tabel 4.4 Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi oleh <i>Rizhopus oryzae</i> .	56
Tabel 4.5 Data SPSS aktivitas antioksidan bekatul terfermentasi	60



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Beras Putih	9
Gambar 2.2 Struktur Rantai Selulosa.....	13
Gambar 2.3 Struktur Asam Ferulat	18
Gambar 2.4 Struktur Asam Kumarat	19
Gambar 2.5 Struktur Asam Galat.....	19
Gambar 2.6 Dugaan Reaksi Pembukaan Serat.....	25
Gambar 2.7 Kurva Pertumbuhan Jamur <i>Rizhopus oryzae</i>	26
Gambar 2.8 Reaksi DPPH dan Antioksidan	30
Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Jamur <i>Rizhopus oryzae</i>	45
Gambar 4.2 Reaksi DPPH dan Antioksidan	55



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	72
Lampiran 2 Diagram Alir	73
Lampiran 3 Perhitungan dan Pembuatan Larutan	77
Lampiran 4 Perhitungan Rendemen dan Aktivitas Antioksidan	78
Lampiran 5 Nilai Standar Deviasi Aktivitas Antioksidan Bekatul	84
Lampiran 6 Data Analisis SPSS	85
Lampiran 7 Panjang Gelombang Maksimum DPPH	95
Lampiran 8 Data Absorbansi Antioksidan	96
Lampiran 9 Dokumentasi Penelitian	103



ABSTRAK

Fikriyah, Zakiyatul. 2017. **Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*.**

Pembimbing I: Akyunul Jannah, S.Si, M.P; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M.Sc; Konsultan : Anik Maunatin, S.T, M.P.

Kata Kunci : Aktivitas Antioksidan, *Rizhopus oryzae*, Bekatul, DPPH, Fermentasi, Konsentrasi Substrat, Lama Fermentasi

Bekatul merupakan lapisan luar dari beras yang terpisah dengan biji beras saat proses penggilingan. Kandungan senyawa aktif bekatul berupa senyawa fenolik berpotensi sebagai senyawa antioksidan. Firman Allah SWT dalam al-Quran surah As-Syu'araa ayat 7 menyebutkan, bahwa setiap tumbuhan yang diciptakan oleh-Nya adalah tumbuhan yang baik dan penuh hikmah didalamnya. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan pengaruh lama fermentasi 3, 4, 5 hari dan konsentrasi substrat (1:1), (1:2), dan (1:3) terhadap peningkatan aktivitas antioksidan ekstrak bekatul. Fermentasi dilakukan dengan mengkombinasi variasi lama fermentasi dengan variasi konsentrasi substrat menjadi, 3 hari (1:1); 4 hari (1:1); 5 hari (1:1); 3 hari, (1:2); 4 hari (1:2); 5 hari (1:2); 3 hari, (1:3); 4 hari (1:3); dan 5 hari (1:3). Ekstrak bekatul diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol p.a. Langkah akhir dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai peningkatan aktivitas antioksidan terbaik pada perlakuan lama fermentasi 5 hari dengan konsentrasi substrat (1:1) sebesar 13,37 %, dari hasil pengurangan aktivitas antioksidan dengan kultur jamur 84,43 % dengan aktivitas antioksidan tanpa kultur jamur sebesar 70,7 %.

ABSTRACT

Fikriyah, Zakiyatul. 2017. **Effect of Fermentation Time and Substrate Concentration on Antioxidant Activity Fermented Rice Bran by *Rizhopus oryzae*.**

Advisor I: Akyunul Jannah, S.Si, M.P; Advisor II: Ahmad Hanapi, M.Sc; Consultant : Anik Maunatin, S.T, M.P.

Kata Kunci : Antioxidant Activity, *Rizhopus oryzae*, Rice Bran, DPPH, Fermentation, Substrate Concentration, Fermentation time

Rice Bran is an outer layer of rice separated from rice seeds during the milling process. Active compound content of bran in the form of phenolic compounds has potential as antioxidant compound. Allah's SWT Word in Quran surah As-Syu'araa verse 7, said that every plant created by Him is a good plant and full of wisdom in it. This research was conducted to determine the influence of fermentation time of 3, 4, 5 days and substrate concentration (1: 1), (1: 2), and (1: 3) to increase the antioxidant activity of bran extract. Fermentation was done by combining variations of fermentation time with variation of substrate concentration to, 3 days (1: 1); 4 days (1: 1); 5 days (1: 1); 3 days, (1: 2); 4 days (1: 2); 5 days (1: 2); 3 days, (1: 3); 4 days (1: 3); and 5 days (1: 3). After being fermented, it was extracted using ethanol p.a to obtain phenolic compounds in rice bran extract. The final step was done by the measurement of antioxidant activity using DPPH method with UV-Vis spectrophotometer. The results was showed that the best value of antioxidant activity on 5 days treatment of fermentation with substrate concentration (1: 1) was 13.37%, from reduction of antioxidant activity on treatment with fungal culture 84,43% and antioxidant activity without fungal culture equal to 70,7%.

ملخص البحث

فكرية ، زكية. 2017. تأثير طول التخمر وتركيز الركيزة على النشاط المضاد للأكسدة النخالة المخمرة بالفطر الرزية (*Rhizopus oryzae*). البحث الجامعي. قسم الكيمياء. كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامعة الاسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة الاولى: أعين الجنة، الماجستير، المشرف الثاني: احمد حنفى، الماجستير، والمستشارة: أنيك مونة، الماجستير

الكلمات الرئيسية: نشاط مضادات الأكسدة ، بالفطر الرزية ، النخالة ، DPPH ، التخمر ، تركيز الركيزة ، طول التخمر

النخالة هي طبقة خارجية من الأرز التي تفصل عن بذور الأرز عند عملية الطحن. محتوى المركبات النشطة لنموذج النخالة من مركبات الفينول هو كمركبات مضادة للأكسدة. استناداً إلى كلمة الله سبحانه وتعالى في القرآن الكريم سورة الشعراء الآية 7 قال أن كل النباتات التي أنشأتها هو نبات جيد ومليئة بالحكمة فيها. يهدف هذا البحث لتحديد تأثير طول التخمر 3,4, و 5 وتركيز الركيزة (1:1), (2:1), و (3:1). على زيادة نشاط مضادات الأكسدة في استخراج النخالة. قد جعل التخمر يجمع بين اختلاف طول التخمر مع اختلاف تركيز الركيزة يكون (1:1). ثلاثة ايام, (1:1) اربعة ايام, (1:1) خمسة ايام, (2:1) ثلاثة ايام, (2:1) اربعة ايام, (2:1) خمسة ايام, (3:1) ثلاثة ايام, (3:1) اربعة ايام و (3:1) خمسة ايام. حصل استخراج النخالة عليه بطريقة التذرية باستخدام مذيب الإيثانول p.a . الخطوة الأخيرة هي قياس نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة DPPH باستخدام مقياس الطيف الضوئي البصري (UV-Vis). دلت النتائج البحث أن أفضل قيمة من نشاط مضادات الأكسدة في معالجة التخمر أي 5 أيام مع تركيز الركيزة (1 : 1) هي 13.37%.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bekatul (*Bran*) didefinisikan sebagai lapisan luar dari beras, atau biasa diperoleh dari hasil samping penggilingan beras pada penyosohan kedua (Ayu, 2010). Negara Indonesia merupakan salah satu Negara dengan penghasil beras yang cukup besar. Menurut Badan Pusat Statistik (2014) produksi gabah kering di Indonesia sebanyak 70,83 juta ton, sehingga dapat diperkirakan produksi bekatul pada tahun 2014 sekitar 6,2-7,4 juta ton per tahun. Bekatul memiliki kandungan senyawa bioaktif yang berguna sebagai pencegah penyakit degeneratif. Kandungan senyawa bioaktif yang banyak ditemukan dalam bekatul adalah antioksidan fenolik. Bekatul juga kaya akan vitamin B, diantaranya B1, B2, B3, B5, dan B6 serta tokoferol dan tokotrienol. Berbagai macam komponen bioaktif bekatul sangat berguna bagi kesehatan, misalnya dapat menurunkan kandungan kolesterol dan sebagai sumber antioksidan (Zhang et al. 2010).

Senyawa antioksidan alami biasanya merupakan senyawa turunan fenolik atau polifenolik seperti golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, dan tokoferol. Bekatul juga mengandung 11-13% protein, 11% serat dan 20% minyak, yang mana didalam matriks serat terdapat kandungan senyawa aktif seperti senyawa fenolik (Oliveira, *et al.*, 2011). Namun bekatul yang terbiasa digunakan sebagai bahan pakan ternak bisa juga dimanfaatkan dengan meningkatkan kualitas ekonominya. Misalnya pemanfaatan bekatul sebagai antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa segala sesuatu yang tercipta memiliki manfaat tersendiri dan

itu semua merupakan salah satu tanda-tanda kekuasaan Allah SWT. Sebagaimana pada firman Allah dalam surat Adz-Dzariyaat (51) ayat 20-21:

وَفِي الْأَرْضِ آيَاتٌ لِّلْمُوقِنِينَ ﴿٢٠﴾ وَفِي أَنفُسِكُمْ أَفَلَا تُبْصِرُونَ ﴿٢١﴾

“Dan di bumi itu terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang yakin (20). Dan (juga) pada dirimu sendiri. Maka Apakah kamu tidak memperhatikan?(21)”

Ayat tersebut menjelaskan bahwa setiap sesuatu yang ditumbuhkan dipermukaan bumi memiliki manfaat tersendiri. Oleh karena itu manusia sebagai makhluk Allah yang paling sempurna perlu mempelajari, meneliti dan mengetahui lebih dalam manfaat tumbuhan sekitar. Sehingga dapat diketahui bahwa segala sesuatu di bumi ini tidak ada yang sia-sia. Seperti firman Allah dalam surat Ali-imran (3) ayat 190-191 yang berbunyi :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal(190). (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka (191)”

Ayat tersebut dapat digunakan landasan untuk penelitian ini, yakni bahwa bekatul yang merupakan hasil samping atau limbah juga dapat ditingkatkan

manfaatnya sebagai bahan lain yang lebih bermanfaat dan memiliki nilai ekonomis di kalangan masyarakat.

Senyawa antioksidan merupakan suatu substansi yang dapat menetralkan radikal bebas melalui mekanisme penambahan gugus elektron kepada elektron radikal bebas yang tidak berpasangan hingga menjadi stabil. Antioksidan dalam kadar tertentu dapat menghambat atau memperlambat kerusakan akibat proses oksidasi (Mindasari, 2010). Keberadaan radikal bebas dapat menjadi penyebab utama timbulnya penyakit seperti; kanker, diabetes mellitus, jantung koroner dan sebagainya. Antioksidan yang akan menetralkan keberadaan radikal bebas tersebut.

Salah satu cara untuk memaksimalkan penggunaan bekatul yang sangat bermanfaat bagi tubuh ini, digunakan cara yang lebih modern yakni dengan metode bioteknologi fermentasi oleh jamur. Metode fermentasi adalah suatu metode yang memanfaatkan proses pemecahan senyawa organik menjadi senyawa sederhana yang melibatkan mikroorganisme (Pujaningsih, 2005). Proses fermentasi bertujuan menurunkan kadar serat pada bekatul. Karena selama proses fermentasi senyawa bioaktif seperti fenolik yang terikat pada serat-serat kasar tersebut akan terlepas. Semakin banyak senyawa bioaktif yang terlepas, maka akan semakin meningkat aktivitas antioksidannya. Hal tersebut dikarenakan pada saat fermentasi akan menghasilkan enzim yang dapat melepaskan senyawa bioaktif yang terikat pada serat tidak larut (Zubaidah *et al.*, 2012).

Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan dalam proses fermentasi adalah jamur. Mikroorganisme jamur merupakan spesies yang paling baik kemampuan hidup dan daya saingnya dibandingkan mikroorganisme lainnya. Hal

ini disebabkan karena jamur mempunyai laju pertumbuhan dan efisiensi tingkat metabolik dalam menghasilkan enzim yang tinggi. Salah satunya adalah jamur *Rizhopus oryzae*, jamur tersebut mampu menghasilkan enzim selulase dengan ketiga turunannya yakni β -glukosidase, *exo*-1,4- β -D-glucanase, dan *endo*-1,4- β -D-glucanase (Ikram., *et al* 2005). Enzim ini berfungsi menghidrolisis atau merenggangkan selulosa dengan memecah ikatan β -1,4-D-glikosida untuk menghasilkan glukosa atau oligosakarida tertentu pada dedak atau bekatul, sehingga ikatan senyawa bioaktif dalam serat akan melemah dan mudah terputus pada saat proses ekstraksi. Dengan demikian penurunan kadar serat pada bekatul akan semakin tinggi (Aruben, 2016).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Yosmar. *et al.*, 2013) menyatakan bahwa jamur *Rizhopus oryzae sp* mampu menghasilkan enzim selulase. Hal tersebut ditunjukkan oleh hasil penelitannya dengan mengamati terbentuknya zona bening pada media CMCA (Carboxy Methyl Cellulosa Agar). Zona bening yang terbentuk pada isolat *Rizhopus oryzae sp* sebesar 2,4 cm, sehingga dapat disimpulkan bahwa adanya enzim selulase dari isolate *Rizhopus oryzae sp* dengan adanya zona bening yang berupa gula sederhana hasil hidrolisis enzim selulase terhadap rantai selulosa pada media CMCA.

Penggunaan jamur dengan genus *Rizhopus* merupakan suatu hal yang menjajikan dalam proses fermentasi. Jamur dari genus ini diindikasikan untuk tidak memproduksi zat beracun (Oliveira *et al.* 2010). Mikroorganisme jamur atau khamir merupakan mikroorganisme yang dapat tumbuh dalam keadaan rendah air dibandingkan dengan jenis mikroorganisme bakteri yang mana dapat

menimbulkan masalah jika digunakan sebagai bahan pangan dan obat (Sushna, 2005).

Beberapa faktor yang mempengaruhi fermentasi diantaranya adalah jumlah mikroba, lama fermentasi, pH (keasaman), substrat (medium), suhu, alkohol, oksigen, garam dan air. Pada penelitian ini fermentasi akan dilakukan dengan menggunakan variasi lama fermentasi dan konsentrasi substrat. Pertumbuhan mikroorganisme jamur mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Rentang pertumbuhannya yang signifikan dapat dilihat dari hari pertama fermentasi hingga hari ke-4 fermentasi. Akan tetapi setelah hari ke-4, kegiatan mikroorganisme jamur mulai menurun, sehingga kemampuan jamur untuk mendegradasi bahan lignoselulosa juga menurun. Hal ini akan mempengaruhi sistem kerja jamur dalam proses fermentasi. Pengaruh tersebut ditunjukkan dengan hasil total fenolik tertinggi pada variasi lama fermentasi hari ke-4 dengan jumlah 5,01 mg/g dan aktivitas antioksidan meningkat hingga 17,984% dari sampel tanpa fermentasi (Aruben, 2016). Selain itu berdasarkan penelitian dari Oliveira. *et al.*, (2012) yang melakukan penelitian aktivitas antioksidan bekatul terfermentasi oleh *Rhizopus oryzae* menunjukkan aktivitas antioksidan terbesar yakni 50% pada lama fermentasi 96 jam.

Begitu juga dengan konsentrasi substrat sangat berpengaruh untuk fase pertumbuhan jamur dan aktivitas kerja jamur dalam proses fermentasi. Wang (1974) menyebutkan dalam hasil penelitiannya, fermentasi menggunakan konsentrasi substrat 50% oleh jamur *Rizhopus oligosporus* mendapatkan kondisi yang optimal dan tumbuh dengan baik untuk memproduksi enzim yang berfungsi dalam proses fermentasi secara *Solid State Fermentation*. Irfan (2012)

menyebutkan dalam hasil penelitiannya menggunakan media (1:1) (Gandum:Aquades) untuk proses *Solid State Fermentation* oleh jamur *Rizhopus oligosporus* mampu memproduksi enzim amilase secara optimal, sehingga didapatkan hasil fermentasi yang terbaik.

Schmidt, *et al.*, (2014) telah melakukan penelitian mengenai peningkatan kandungan senyawa fenolik pada bekatul dengan metode fermentasi oleh mikroorganisme berupa jamur *Rizhopus oryzae*. Konsentrasi senyawa fenolik setelah dilakukan fermentasi meningkat hingga 2 kali lipat dengan nilai 765 mg/g. Oleh sebab itu, fermentasi sering digunakan untuk meningkatkan kandungan senyawa fenolik pada suatu bahan alam dalam peningkatan aktivitas antioksidan. Menurut Razak *et al* (2015) bahwa kandungan fenolik tersebut akan memberikan korelasi terhadap aktivitas antioksidan. Dey., (2014) menyatakan bahwa gandum yang difermentasi oleh *Rizhopus oryzae* RKC2012 memiliki randemen kadar fenolik maksimum 6,78 mg/g. Sehingga aktivitas antioksidan yang dihasilkan aktivitas antioksidan terbesar 91% dari 0,5 ml ekstrak fenolik dalam 0,1 mM DPPH. Hasil penelitian Razak., *et al* (2016) menyatakan bahwa bekatul yang difermentasi oleh campuran jamur *Aspergillus oryzae* dan *Rizhopus oryzae* dapat meningkatkan kadar total fenolik, terutama asam ferulat hingga 43,19 mg/ml. Akan tetapi aktivitas antioksidan tertinggi ditemukan pada bekatul yang difermentasi oleh *Rhizopus oryzae* dengan daya hambat radikal sebesar 93,41% dari konsentrasi ekstrak bektul terfermentasi sebesar 5,26 % (v/v). Begitu juga dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Massarolo., *et al* (2016) menyatakan bahwa bekatul yang difermentasi oleh *Rhizopus oryzae* dapat meningkatkan aktivitas antioksida hingga 59,0% pada variasi waktu fermentasi 72 jam pada

konsentrasi ekstrak bekatul terfermentasi sebesar 10 µg/mL. Sehingga dapat diketahui bahwa dengan fermentasi dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dari bekatul. Sedangkan fermentasi menggunakan mikroorganisme bakteri selulolitik *Bacillus brevis* seperti yang dilakukan oleh Amalia (2016), hanya mampu meningkatkan aktivitas antioksidan tertinggi sebesar 7,08 % pada konsentrasi ekstrak bekatul sebesar 1 % dalam DPPH 0,2 mM (b/v).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum jamur *Rizhopus oryzae* dalam mendegradasi serat bekatul agar tidak terjadi degradasi sempurna yang menyebabkan senyawa fenolik terlepas dan larut dalam air. Oleh sebab itu proses fermentasi dengan variasi lama fermentasi dan konsentrasi substrat perlu di kotrol dengan baik. Sehingga hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi industri pangan dan farmasi.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi substrat terhadap peningkatan aktivitas antioksidan bekatul secara fermentasi menggunakan jamur *Rizhopus oryzae*?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh interaksi antara lama fermentasi dan konsentrasi substrat pada peningkatan aktivitas antioksidan bekatul secara fermentasi menggunakan jamur *Rizhopus oryzae*.

1.4 Hipoteses

H_0 = interaksi lama fermentasi dan konsntrasi substrat tidak berpengaruh nyata terhadap peningkatan aktivitas antioksidan bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*.

H_1 = interaksi lama fermentasi dan konsntrasi substrat berpengaruh nyata terhadap peningkatan aktivitas antioksidan bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*.

1.5 Batasan Masalah

1. Bekatul yang digunakan adalah bekatul sisa penggilingan di daerah pasar Singosari-Malang
2. Sumber jamur *Rizhopus oryzae* yang digunakan adalah merupakan jamur yang dibeli dari laboratorium mikrobiologi Universitas Brawijaya.
3. Lama fermentasi yang digunakan yaitu 3, 4, dan 5 hari sedangkan konsentrasi substrat sebesar (1:1), (1:2) (1:3) (b/v).
4. Analisis aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH.

1.6 Manfaat Penelitian

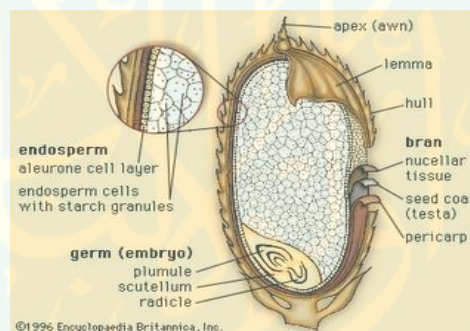
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi substrat fermentasi pada peningkatan aktivitas antioksidan dalsam bekatul.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bekatul

Bekatul atau *rice bran* merupakan hasil samping proses penggilingan padi berasal dari lapisan kulit paling luar dari beras yaitu bagian antara butir beras dan kulit padi. Warna bekatul padi bervariasi dari coklat muda hingga coklat tua. Bekatul yang dihasilkan dari penggilingan padi dapat mencapai 8-12% dari jumlah total padi. Hasil samping lainnya adalah 15-20% sekam yang merupakan kulit luar dan 3% menir (BB Pascapanen, 2007), yaitu bagian yang hancur.



Gambar 2.1 Struktur Beras Putih (Liem, 2013)

Departemen Pertanian (2015) menginfokan bahwa konsumsi beras masyarakat Indonesia masih tergolong tinggi mencapai 114 kg per kapita per tahun atau 312 g per hari. Peningkatan produksi dan konsumsi padi ini juga akan mengakibatkan meningkatkan produk samping dari penggilingan padi seperti bekatul. Persentase bekatul dari gabah kering giling di Indonesia sekitar 10%. Tahun 2015 produksi gabah Indonesia mencapai 62,5 ton GKG (Gabah Kering Giling), sehingga bekatul yang dihasilkan pun mencapai 62,5 ton. Jumlah ini merupakan jumlah yang cukup besar jika hanya dijadikan ampas yang tidak

dimanfaatkan. Sehingga diharapkan ampas dengan jumlah besar ini dapat digunakan dalam dunia industri. Hal ini dikarenakan bekatul memiliki kandungan nutrisi yang banyak dan bermanfaat bagi tubuh.

Bekatul mengandung berbagai zat gizi, antara lain adalah :

Tabel 2.1 Kandungan Zat Gizi Bekatul (Mazza, 1998).

No	Zat gizi	Kadar
1	Protein	11,5-17,2 %
2	Lipid	10-23 %
3	Karbohidrat	51,1-55 %
4	Serat	6,2-31,5 %
5	Abu	8-17,1 %
6	Mineral dan vitamin	

Menurut Astawan (2009) menyatakan bahwa bekatul merupakan sumber serat pangan (*dietary fiber*) yang sangat baik. Serat pangan mempunyai peranan yang sangat penting dalam mengosongkan perut dari sisa makanan yang tidak tercerna. Serat makanan adalah polisakarida yang tidak dapat dicerna oleh enzim yang ada di usus, selain itu juga tidak menghasilkan energy (Tirtawinata, 2006). Lestiani (2009) menyebutkan bahwa yang termasuk serat pangan diantaranya adalah gum, pectin, hemiselulosa dan selulosa. Selulosa merupakan serat-serat panjang dan membentuk struktur jaringan yang memperkuat dinding sel tanaman pada proses diferensiasi (Amalia, 2016). Braig, *et al.*, (2007) menyatakan bahwa serat di dalam bekatul mengandung 27 % selulosa, 37 % hemiselulosa, dan 5 % lignin. Sementara itu, berdasarkan Komara (2007) serat bekatul umumnya mengandung selulosa 8,7-11,4% dan hemiselulosa 9,6-12,8%.

Irawadi (1990) menyatakan bahwa limbah pertanian seperti bekatul dan tongkol jagung, mengandung selulosa (40-60%), hemiselulosa (20-30%) dan

lignin (15-30%). Berbagai hasil penelitian telah menunjukkan bahwa bekatul mempunyai nilai gizi tinggi, mengandung senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai antioksidan yang bermanfaat dalam berbagai pencegahan penyakit termasuk penuaan dini.

Bekatul padi juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku industri farmasi dan makanan manusia, dikarenakan mempunyai kandungan nutrisi yang baik. Widarta, *et al.* (2012) telah membuktikan dalam penelitiannya bahwa ekstrak bekatul mempunyai aktivitas antioksidan. Sedangkan untuk makanan manusia bekatul dapat dimanfaatkan sebagai bahan campuran dalam pembuatan kue, biskuit, dan minuman fungsional (Janathan, 2007). Sedangkan komponen bioaktif yang berperan sebagai antioksidan diantaranya adalah senyawa fenolik, flavonoid, gamma oryzanol, tokoferol, tokotrienol, dan β -sitosterol (Elizabeth (2011) dalam Rashid, *et al.*, 2015).

2.2 Selulosa.

Selulosa merupakan unsur pokok pada tanaman dan biopolymer linier dari molekul anhidroglukopiranosida pada ikatan β -1,4 glukosidik yang berlimpah di alam (Dashtban *et al.*, 2009). Struktur linier ini menyebabkan selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut. Selulosa tidak mudah didegradasi secara kimia maupun mekanis. Di alam, biasanya selulosa berasosiasi dengan polisakarida lain seperti hemiselulosa atau lignin membentuk kerangka utama dinding sel tumbuhan (Holtzaple, 1993). Menurut Gayakor dan Eriksen (1980) Selulosa tidak pernah ditemukan dalam keadaan murni di alam, tetapi selalu berasosiasi dengan polisakarida lain seperti lignin, pectin, hemiselulosa dan xilan.

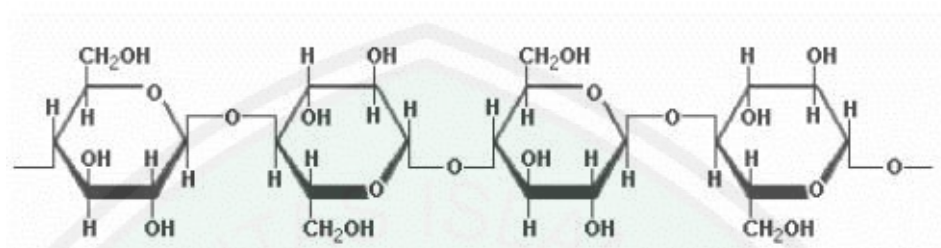
Selulosa ditemukan sebagai dinding sel tumbuhan, tidak larut dalam air, ditemukan banyak pada batang, dahan, tangkai, daun, dan hampir semua jaringan tumbuhan. Kayu, katun, bamboo dan serat tumbuhan mengandung selulosa sebesar (98-99%) (Hawah, 2004). Sedangkan menurut Tjokrokoesoemo (1986) selulosa adalah bahan penyusun utama dari serat dan dinding sel tanaman. Bahan ini terdiri dari sejumlah besar molekul yang saling berikatan melalui gugus β -glukosida dari molekul yang satu dengan gugus hidroksil C-4 dari molekul glukosa yang lain.

Pada tanaman, selulosa dilapisi oleh polimer yang sebagian besar terdiri dari xilan dan lignin. Xilan dapat didegradasi oleh xilanase, akan tetapi lignin sangat sulit terdegradasi. Jika xilan dan lignin dihilangkan, maka selulosa dapat didegradasi oleh selulase dari bakteri atau kapang selulolitik untuk menghasilkan selobiosa dan glukosa (Bayer, *et al.*, 1994).

Ada tiga jenis selulosa yaitu α , β , dan γ selulosa adalah bagian yang tidak larut dalam alkali, β selulosa adalah bagian yang larut dalam alkali, dan kemudian dapat mengendap jika ditambahkan asam, sedangkan γ selulosa bagian yang larut dalam alkali dan tetap larut jika ditambahkan asam (Vengel dan Wegner, 1995).

Rantai molekul selulosa tersusun sejajar dan dipengaruhi oleh ikatan hydrogen antara gugus-gugus OH yang bersebelahan. Dengan adanya ikatan hydrogen dari gugus-gugus hidroksil antar rantai akan terjadi orientasi paralel yang memanjang. Apabila susunannya teratur maka, akan terjadi daerah yang disebut daerah kristalin, disamping susunan yang teratur ini terdapat pula bagian yang kurang teratur, yang disebut amor. Selulosa mempunyai kemampuan untuk mengikat air yang terabsorpsi pada gugus hidroksil oleh karena terbentuknya

ikatan hydrogen (Wirahadikusumah dan Rahwono, 1990). Struktur selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 Struktur Rantai Selulosa

2.3 Enzim selulase

Enzim merupakan protein khusus yang bergabung dengan suatu substrat spesifik untuk mengkatalisis reaksi biokimia dari substrat tersebut (Maier *d.*, 2000), menurut Lehninger (1997), enzim adalah biokatalisator yang mampu meningkatkan kecepatan reaksi spesifik tanpa ikut bereaksi dan tidak menghasilkan produk samping, bersifat jauh lebih efisien dibandingkan dengan katalis lain, disebabkan molekul enzim memiliki spesifitas yang tinggi terhadap substratnya.

Menurut palmer (1985), reaksi antara enzim dengan substrat dapat terjadi menurut dua hipotesis berikut :

a. Hipotesis *Loc and Key*

Spesifitas enzim termasuk adanya struktur komplementer antara enzim dengan substrat terjadi karena substrat mempunyai kesesuaian bentuk ruang dengan enzim pada struktur sisi aktif enzim.

b. Hipotesis *Induce-Fit*

Substrat mempunyai kesesuaian ruang dengan sisi aktif pada kompleks enzim-substrat, tetapi dalam proses pengikatan substrat enzim mengalami perubahan konformasi sehingga strukturnya sesuai dengan substrat. Proses ini disebut sebagai proses induksi.

Enzim umumnya dihasilkan di dalam sel, beberapa diekstrak melalui dinding sel dan dapat berfungsi di luar sel. Jadi dikenal dua tipe enzim yaitu enzim ekstraseluler (berfungsi di luar sel) dan enzim intraseluler (berfungsi di dalam sel). Fungsi utama enzim ekstraseluler adalah mengubah nutrisi di sekitarnya sedemikian rupa sehingga nutrisi tersebut masuk ke dalam sel. Sedangkan enzim intraseluler mensintesis bahan seluler atau menguraikan nutrisi untuk menyediakan energi yang dibutuhkan sel. Untuk memisahkan protein enzim tertentu dari ekstrak kasar yang mengandung banyak unsur lain maka dilakukan isolasi atau pemurnian enzim (Aulanni'am, 2005).

Enzim selulase merupakan enzim yang memegang peranan penting dalam proses biokonversi limbah-limbah organik berselulosa menjadi glukosa (Chalal, 1983). Pembentukan glukosa secara enzimatik sesuai dengan reaksi katalitik berikut :



Keterangan :

E : enzim
 S : substrat
 ES : enzim-substrat
 P : produk

Reaksi diatas menunjukkan bahwa terjadi reaksi sementara antara enzim dengan substrat. Ikatan ini sifatnya labil dan hanya terjadi dalam waktu yang singkat. Kemudian ikatan ini putus kembali menjadi enzim dan produk, dalam hal

ini berupa glukosa. Pembentukan glukosa ini terjadi karena adanya degradasi selulosa dalam substrat *CMC* oleh enzim selulase.

Kerja enzim selulase dihambat dengan adanya glukanolakton dan logam-logan berat seperti tembaga dan merkuri, tetapi penghambatan dengan logam ini dapat dinetralisir dengan penambahan sistein, sehingga aktivitas enzim akan kembali normal. Penghambatan oleh glukanolaktan lebih banyak terjadi pada substrat selobiosa dan oligosakarida lain yang lebih sederhana dan lebih kecil pengaruhnya pada substrat selulosa (Kulp, 1975).

2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme oksidatif yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi dalam tubuh (Goldberg, 2003). Senyawa antioksidan dapat berfungsi sebagai penangkap radikal bebas, pembentuk kompleks dengan logam-logam prooksidan dan berfungsi sebagai senyawa pereduksi (Andlauer *et al.*, 1998). Menurut Miller *et al.* (2000), antioksidan dapat menangkap radikal bebas sehingga menghambat mekanisme oksidatif yang merupakan penyebab penyakit-penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, kanker, katarak, disfungsi otak dan artritis.

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih atom yang tidak berpasangan. Meskipun suatu radikal tidak bermuatan positif atau negatif, spesi semacam ini sangat reaktif karena adanya electron yang tidak berpasangan. Dalam mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan

bereaksi dengan molekul disekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan terus-menerus berlangsung dalam tubuh, dan apabila tidak segera dihentikan akan menyebabkan timbulnya berbagai penyakit, seperti kanker, katarak, dan berbagai penyakit degeneratif lainnya.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsi, 2007). Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintetis (Madhavi, *et al.*, 1996). Salah satu antioksidan alami adalah vitamin C (L-asam askorbat). Vitamin C secara efektif menangkap radikal-radikal dan juga berperan dalam regenerasi vitamin E. Vitamin C dapat melindungi membrane biologis dan LD dari kerusakan prooksidatif dengan cara mengikat radikal peroksil dalam fase berair dari plasma atau sitosol. Antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh hasil sintesis). Beberapa contoh antioksidan sintetis yang diizinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu BHT, TBHQ dan tokoferol.

Antioksidan dapat juga digolongkan menjadi antioksidan primer (*Chainbreaking antioxidant*) dan antioksidan sekunder (*preventive antioxidant*) (Gordon, 1990). Antioksidan primer dapat bereaksi dengan radikal lipid dan mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil. Sebuah senyawa dapat disebut sebagai antioksidan primer apabila senyawa tersebut dapat mendonorkan atom hidrogennya dengan cepat ke radikal lipid dan radikal antioksidan yang dihasilkan

lebih stabil dari radikal lipid atau dapat diubah menjadi produk lain yang lebih stabil (Gordon, 1990). Senyawa yang termasuk dalam kelompok antioksidan primer (*Chain-breaking antioxidant*) adalah vitamin E (tokoferol), vitamin C (asam askorbat), β -karoten, glutathion dan sistein (Taher, 2003).

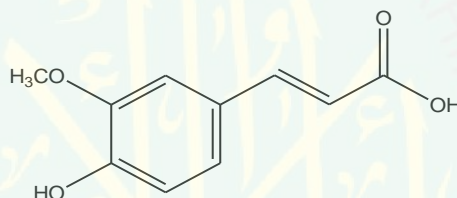
Antioksidan sekunder berfungsi sebagai antioksidan pencegah yaitu menurunkan kecepatan inisiasi dengan berbagai mekanisme, seperti melalui pengikatan ion-ion logam, penangkapan oksigen dan penguraian hidroperoksida menjadi produk-produk nonradikal (Gordon, 1990). Pada dasarnya tujuan antioksidan sekunder (*preventive antioxidant*) adalah mencegah terjadinya radikal yang paling berbahaya yaitu radikal hidroksil (Taher, 2003). Contoh antioksidan sekunder antara lain turunan-turunan asam fosfat, asam askorbat, senyawa karoten, sterol, fosfolipid dan produk-produk reaksi maillard (Gordon, 1990).

Bekatul mengandung antioksidan dalam jumlah besar dari golongan senyawa fenolik seperti asam galat, *protocatechuic*, *chlorogenic*, *p-hydroxybenzoic*, *caffeic*, *syringic*, vanilin, *p-coumaric* dan asam ferulat (Schmidt, *et al.*, 2014). Senyawa fenolik pada sereal sebagian besar dalam bentuk terikat melalui ikatan ester dengan rantai arabinoxylan atau melalui obligasi eter untuk lignin (Hole, *et al.*, 2012).

2.4.1 Asam Ferulat

Asam ferulat merupakan salah satu asam fenolik yang paling melimpah pada tanaman dan dapat ditemukan dalam konsentrasi tinggi yang terdapat pada makanan seperti dedak jagung, dedak gandum, terong dan buah bit (Rosazza, *et al.*, 1995; Kroon, *et al.*, 1997; Rechner, *et al.*, 2001; D'archivio, *v.*, 2007). Asam

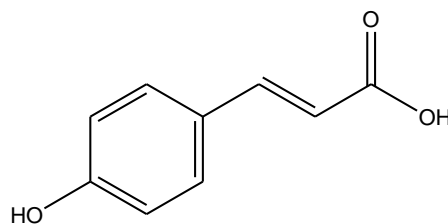
ferulat ditemukan bebas, atau dalam bentuk dimer dan juga diesterifikasi dengan polisakarida dan protein pada dinding sel (Fazary dan Ju, 2007). Dedak mengandung jumlah asam ferulat yang signifikan. Asam ferulat merupakan antioksidan potensial dan berikatan ester dengan polimer dinding sel dan ditemukan dalam berbagai bentuk. Asam ferulat biasanya ditemukan dalam bentuk fraksi yang tidak larut. Ikatan ester asam ferulat pada dinding sel membutuhkan hidrolisis asam atau basa untuk melepaskan ikatan senyawa tersebut dari matriks dinding sel (Gani, *et al.*, 2012).



Gambar 2.3. Struktur Asam Ferulat (Ou, S.Y, 2012)

2.4.2 Asam p-Kumarat

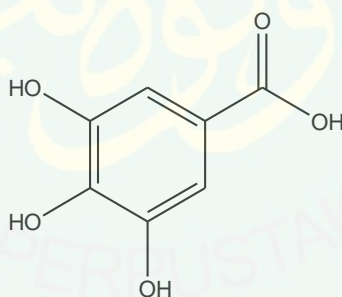
Asam p-kumarat merupakan asam hidroksi sinamat yang memiliki banyak aktivitas fisiologis termasuk sebagai antioksidan, antimikroba, antimutagenik dll. Asam p-kumarat terdapat dalam dua bentuk yaitu bentuk yang larut serta tidak larut. Asam p-kumarat yang tidak larut, terikat pada komponen besar dari lignoselulosa, utamanya berikatan secara ester dengan lignin pada beberapa bagian, yang jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan asam p-kumarat yang mudah larut (Ou, S.Y, dkk., 2012).



Gambar 2.4. Struktur Asam Kumarat (Yoon, *et al.*, 2014)

2.4.3 Asam Galat

Asam galat (asam 3, 4, 5-trihidroksibenzoat) dan turunannya merupakan bagian dari senyawa metabolit sekunder polifenol yang banyak terdapat pada tumbuhan. Beberapa ester dari asam galat di Amerika digunakan sebagai bahan aditif pada makanan untuk mencegah terjadinya oksidasi terhadap makanan tersebut. Asam galat dan turunannya juga telah banyak digunakan dalam aktivitas farmakologi termasuk dalam penyerangan anti radikal (Lu, 2005).



Gambar 2.5. Struktur Asam Galat (Lu, 2005).

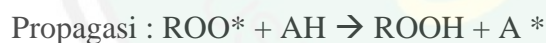
Antioksidan diperlukan untuk meredam aktivitas dari radikal bebas, di mana antioksidan adalah senyawa yang dapat mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas, sehingga menghentikan reaksi berantai, dan mengubah radikal bebas menjadi bentuk yang stabil. Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih atom tidak berpasangan. Meskipun suatu radikal tidak

bermuatan positif atau negatif, spesi semacam ini sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan. Suatu radikal bebas dijumpai sebagai zat yang tak dapat diisolasi usia pendek karena sangat reaktif dan berenergi tinggi (Fessenden dan Fessenden, 1997). Dalam mencapai kestabilan atom atau molekul, radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron. Reaksi ini akan berlangsung terus-menerus dalam tubuh dan apabila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit seperti kanker, jantung, katarak, serta penyakit degeneratif lainnya.

Dengan adanya antioksidan, maka antioksidan akan memberikan atom hydrogen atau elektron pada radikal bebas (R^* , ROO^*), mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil RH . Sementara turunan radikal antioksidan (A^*) memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal semula R^* . reaksi penghambatan antioksidan terhadap radikal lipid mengikuti persamaan reaksi sebagai berikut.



Radikal lipida



2.5 Fermentasi

Fermentasi mempunyai pengertian suatu proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme membutuhkan sumber energi untuk tumbuh yang diperoleh dari metabolisme bahan pangan di mana mikroorganisme berada di dalamnya. Bahan baku pangan yang paling banyak digunakan oleh

mikroorganisme adalah glukosa. Pertumbuhan mikroorganisme yang terjadi tanpa adanya oksigen sering dikenal sebagai fermentasi (Suprihatin, 2010).

Fermentasi adalah suatu proses di mana komponen-komponen kimiawi dihasilkan sebagai akibat adanya pertumbuhan maupun metabolisme mikroba. Fermentasi dapat meningkatkan nilai gizi bahan yang berkualitas rendah serta berfungsi dalam pengawetan bahan dan merupakan suatu cara untuk menghilangkan zat antinutrisi atau racun yang terkandung dalam suatu bahan makanan, (Wasito, 2005).

Fermentasi dengan menggunakan jamur dapat meningkatkan nilai nutrisi dari suatu bahan. Hal ini sesuai dengan penelitian Razak, *et al.*, (2015) yang melakukan fermentasi terhadap bekatul dengan menggunakan 2 jenis jamur salah satunya yakni *Rizhopus oryzae* yang merupakan salah satu jenis dari jamur selulolitik. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa bekatul yang telah difermentasikan dengan menggunakan jamur *Rizhopus oryzae* akan mengalami kenaikan kandungan total fenolik. Selain itu, masih berdasarkan penelitian yang sama, nilai aktivitas antioksidan dari bekatul yang difermentasi dengan jamur yang di mix antara *Rizhopus oryzae* dan *Aspergillus oryzae* mendapatkan hasil yang lebih besar dibandingkan bekatul yang difermentasi menggunakan jamur tunggal. Sehingga dapat diketahui bahwa dengan menggunakan jamur *Rizhopus oryzae* dapat meningkatkan kadar total fenolik dan aktivitas antioksidan. Begitu juga dengan hasil penelitian oleh Massarolo, *et al.*, (2014) menyatakan bahwa bekatul yang difermentasi oleh jamur *Rizhopus oryzae* mampu meningkatkan aktivitas antioksidan hingga 59% dibandingkan dengan bekatul yang tidak difermentasi. Sehingga dapat diketahui bahwa fermentasi dengan menggunakan

jamur *Rizhopus oryzae* dapat meningkatkan kadar total fenolik dan aktivitas antioksidan. Keberhasilan fermentasi ditentukan oleh beberapa faktor yaitu:

1. Lama fermentasi

Waktu yang dibutuhkan dalam proses fermentasi biasanya adalah 2-3 hari.

2. Konsentrasi inokulum

Konsentrasi inokulum yang terlibat dalam fermentasi sangat mempengaruhi efektifitas penghasil produk. Jika konsentrasi inokulum yang digunakan terlalu sedikit maka proses fermentasi berjalan dengan lambat, sedangkan konsentrasi inokulum yang terlalu banyak akan mempengaruhi persaingan pengambilan nutrisi, sehingga sangat berpengaruh pada pertumbuhan mikroorganismenya.

3. Substrat

Substrat sebagai sumber energi yang diperlukan oleh mikroba untuk proses fermentasi. Energi yang dibutuhkan berasal dari karbohidrat, protein, lemak, mineral dan zat gizi lainnya yang terdapat dalam substrat. Bahan energi yang banyak digunakan oleh mikroorganismenya adalah glukosa. Mikroba fermentasi harus mampu tumbuh pada substrat dan mudah beradaptasi dengan lingkungannya.

4. Suhu

Suhu selama proses fermentasi sangat menentukan jenis mikroorganismenya dominan yang akan tumbuh. Umumnya diperlukan suhu 30 °C untuk pertumbuhan mikroorganismenya. *S. cerevisiae* dapat melakukan aktivitasnya pada suhu 4 °C – 32 °C. *S. cerevisiae* dapat tumbuh optimum pada suhu 28 - 30 °C. Fermentasi dengan menggunakan variasi suhu, akan menunjukkan terjadinya tingkat fermentasi maksimum pada suhu tertentu/ hal ini bergantung

pada jenis mikrobiologi atau khamir yang digunakan pada saat fermentasi. Berdasarkan penelitian dari Torija, *et al.* (2001) menjelaskan bahwa fermentasi menggunakan *S. cerevisiae* pada fermentasi alkohol, menunjukkan bahwa proses fermentasi berhenti pada suhu 35 °C, yang menandakan bahwa pada suhu tersebut jumlah dari produksi ragi dalam fermentasi semakin sedikit sehingga akan menghentikan proses fermentasi.

5. Oksigen

Ketersediaan oksigen harus diatur selama proses fermentasi. Hal ini berhubungan dengan sifat mikroorganisme yang digunakan.

6. pH substrat

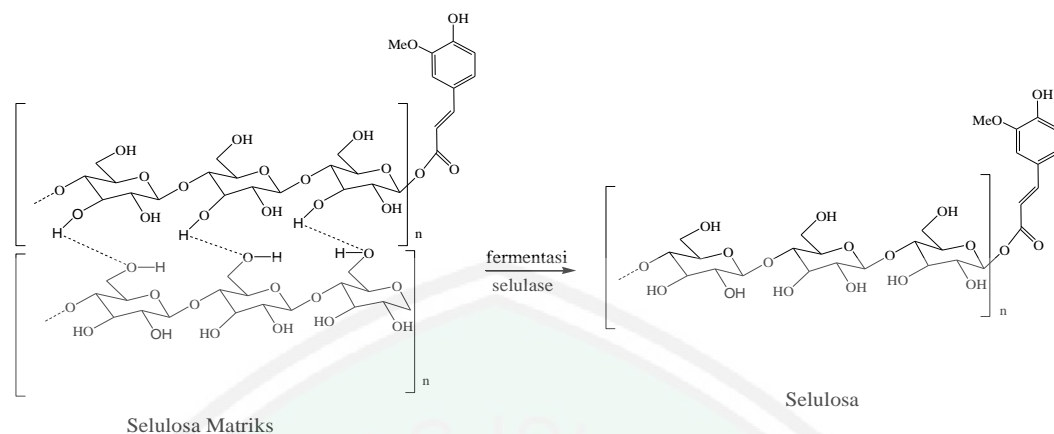
Kebanyakan mikroba dapat tumbuh pada kisaran pH 3,0 – 4,0. Kebanyakan bakteri mempunyai pH optimum berkisar 6,5 – 7,5. Di bawah 5,0 dan di atas 8,5 bakteri tidak dapat tumbuh dengan baik. Khamir menyukai pH 4,0 – 5,0 dan tumbuh pada kisaran pH 2,5 – 8,5. Oleh karena itu untuk menumbuhkan khamir dilakukan pada pH rendah untuk mencegah kontaminasi bakteri. Dalam fermentasi, kontrol pH penting sekali dilakukan karena pH yang optimum harus dipertahankan selama fermentasi. Fermentasi menggunakan bakteri selulolitik, didapatkan bahwa nilai pH optimumnya yakni pada tingkatan pH 5-6. Sedangkan jika menggunakan bakteri *A. terreus* berdasarkan penelitian Jain dan Pundir (2011) menyatakan bahwa pH optimum untuk fermentasinya yakni pada pH 6.

2.6 Jamur *Rizhopus oryzae*

Jamur adalah salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan dalam proses fermentasi. Beberapa macam jenis jamur digunakan dalam proses fermentasi salah satunya adalah jamur *Rizhopus oryzae* yang merupakan anggota Zygomycetes. Jamur ini juga banyak digunakan dalam proses fermentasi beberapa jenis makanan. *Rizhopus oryzae* memiliki karakteristi, yaitu miselia berwarna putih, ketika dewasa maka miselia putih akan tertutup oleh sporangium yang berwarna abu-abu kecoklatan (Rahmi, 2008). Menurut Germain (2006), klasifikasi *Rizhopus oryzae* sebagai berikut :

Kingdom	: Fungi
Divisio	: Zygomycota
Class	: Zygomycotes
Ordo	: Mucorales
Familia	: Mucoraceae
Genus	: Rizhopus
Spesies	: <i>R. oryzae</i>

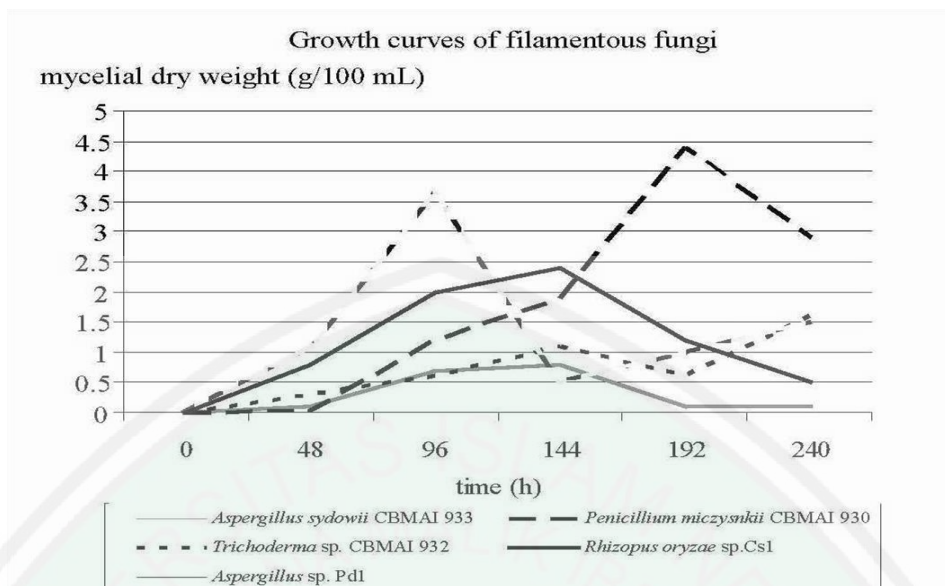
Jamur *Rizhopus oryzae* merupakan jamur yang biasa digunakan dalam pembuatan tempe. Jamur dengan genus ini merupakan jamur yang aman untuk dikonsumsi karena tidak menghasilkan toksin. Selain itu jamur dari genus *Rhizopus* mampu meningkatkan kadar total fenolik yang terikat dalam serat. Hal tersebut terjadi karena jamur ini mengandung enzim selulase yang mampu membuka atau menghidrolisis serat selulosa menjadi rantai oligosakarida yang lebih sederhana, sehingga ikatan senyawa bioaktif yang terikat diantara selulosa akan lemah dan mudah terlepas. Berikut merupakan dugaan reaksi yang terjadi pada saat pembukaan atau pemutusan matriks serat pada saat fermentasi dengan bantuan enzim selulase :



Gambar 2.6. Reaksi pembukaan matriks serat pada proses fermentasi (Amalia, 2016)

Kandungan enzim selulase dalam jamur lebih lengkap dengan ketiga turunannya yaitu β -glukosidase, exo-1,4- β -D-glucanase, dan endo-1,4- β -D-glucanase dibandingkan dengan kandungan enzim selulase yang berasal dari bakteri (Ikram., *et al* 2005). Berdasarkan penelitian terdahulu oleh Hsich dan Graham (2001) menyatakan bahwa enzim selulase yang terdapat dalam jamur bekerja dengan cara menghidrolisis atau merenggangkan ikatan selulosa dengan memecah β -1,4-D-glikosida untuk menghasilkan glukosa atau oligosakarida tertentu dan membebaskan senyawa fenolik pada bekatul atau dedak padi, sehingga penurunan kadar serat pada bekatul akan semakin tinggi.

Waktu pertumbuhan jamur lebih lama dibandingkan dengan bakteri, sehingga untuk mendapatkan enzim selulase dari jamur *Rizhopus oryzae* membutuhkan waktu sekitar $\pm 2-5$ hari. Waktu tersebut adalah waktu dimana jamur memasuki antara fase pertumbuhan dipercepat dan fase logaritmik. Berikut adalah gambaran kurva pertumbuhan jamur *Rizhopus oryzae* :



Gambar 2.7. Kurva Pertumbuhan Jamur *Rizhopus oryzae* (Melgar, *et al.*, 2013).

Strain *Rhizopus oryzae* sp. Cs1 menunjukkan fase log terpendek, dimana produksi miselium tertinggi terjadi dari 48 sampai 96 jam inkubasi. Setelah waktu ini, penurunan massa miselium diamati sampai 144 jam. Bila masa inkubasi jamur berkepanjangan dan laju pertumbuhan tetap diamati, maka penurunan misellium akan tetap terjadi hingga waktu 144 jam (Melgar, *et al.*, 2013). Sehingga dapat disimpulkan dari gambar kurva pertumbuhan jamur tersebut yaitu :

Fase lag (adaptasi)	: 0-48 jam
Fase log (Eksponensial)	: 48-96 jam
Fase stasioner	: 96-144 jam
Fase kematian dipercepat	: 144-192 jam
Fase kematian	: 192-240 jam

Aktivitas enzim dipengaruhi banyak faktor. Faktor-faktor tersebut menentukan efektivitas kerja enzim. Apabila faktor tersebut berada pada kondisi yang optimum, maka kerja enzim juga akan maksimal. Beberapa faktor yang mempengaruhi kerja enzim yaitu konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH (keasaman), suhu, waktu kontak dan produk akhir (Poedjiadi, 2012).

a. Konsentrasi enzim

Seperti pada katalis lain, kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim.

b. Konsentrasi substrat

Hasil eksperimen menunjukkan bahwa dengan konsentrasi enzim yang tetap, maka penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar. Keadaan ini telah diteangkan oleh Michaelis-Menten dengan hipotesis mereka tentang terjadinya kompleks enzim-substrat.

Diperlukan adanya kontak antara enzim dengan substrat agar dapat diperoleh kompleks enzim-substrat. Kontak ini terjadi pada sisi aktif enzim. Pada konsentrasi substrat rendah, sisi aktif enzim hanya akan menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang akan bergabung dengan enzim pada sisi aktif tersebut. Dengan demikian, konsentrasi kompleks enzim-substrat makin besar. hal ini menyebabkan makin besarnya kecepatan reaksi. Pada suatu batas konsentrasi substrat tertentu, semua sisi aktif enzim telah dipenuhi dengan substrat atau telah jenuh dengan substrat, di mana dalam keadaan ini bertambahnya konsentrasi substrat tidak menyebabkan besarnya konsentrasi kompleks enzim-substrat, sehingga jumlah hasil reaksinya pun tidak bertambah besar.

c. pH (Keasaman)

Seperti protein pada umumnya, struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungannya. Enzim dapat membentuk ion positif, ion negatif atau ion bermuatan ganda (*zwitter ion*). Dengan demikian perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektifitas sisi aktif enzim dalam membentuk enzim-substrat. pH rendah atau pH tinggi juga dapat mengakibatkan terjadinya denaturasi yang mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Oleh karena itu, enzim memiliki pH optimum yang berbeda-beda.

d. Suhu

Reaksi enzimatik juga dipengaruhi oleh suhu. Suhu optimum merupakan suhu yang paling tepat bagi suatu reaksi yang menggunakan enzim. Karena enzim merupakan suatu protein, maka kenaikan suhu juga dapat menyebabkan proses denaturasi yang menyebabkan sisi aktif enzim terganggu dan mengurangi kecepatan dari reaksi.

2.7 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan yang tidak saling larut. Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara perendaman sampel dan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan larut dalam pelarut organik. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah,

peristiwa tersebut dilakukan secara berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan di luar sel (Voight, 1995).

Kelebihan dari metode maserasi adalah sederhana, relatif murah, tidak memerlukan peralatan yang rumit, terjadi kontak antara sampel dan pelarut yang cukup lama dan dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas. Kekurangan dari metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Voight, 1995). Pemilihan pelarut organik yang akan digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting dan menentukan untuk mencapai tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut akan bersifat makin polar (Sudarmadji *et al.*, 2003).

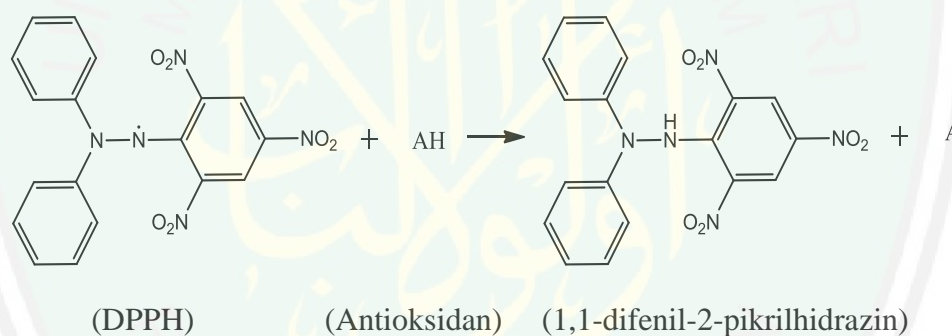
2.8 Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)

Beberapa metode pengukuran aktivitas antioksidan yang dapat digunakan antara lain metode DPPH dan metode uji aktivitas kemampuan mereduksi. Metode DPPH merupakan salah satu metode aktivitas antioksidan yang sederhana dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) sebagai senyawa pendeteksi (Miller *et al.*, 2000).

Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron atau hydrogen. Metode ini merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar. Beberapa metode lain

terbatas mengukur komponen yang larut dalam pelarut yang digunakan dalam analisis (Prakash, 2001).

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) adalah senyawa radikal bebas yang stabil yang dapat bereaksi dengan atom hidrogen yang berasal dari suatu antioksidan membentuk DPPH tereduksi (Simanjuntak *et al.*, 2004). Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.8. Pengukuran kapasitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm (Kubo *et al.*, 2002). Penurunan absorbansi menunjukkan adanya aktivitas *scavenging* (aktivitas antioksidan).



Gambar 2.8. Reaksi peredaman radikal bebas DPPH oleh antioksidan (Kubo, *et al.*, 2002)

Metode aktivitas kemampuan mereduksi digunakan untuk menentukan antioksidan total pada sampel (Kardono dan Dewi, 1998). Aktivitas antioksidan diukur sebagai kemampuan mereduksi Kalium Ferri Sianida. Pengukuran aktivitas kemampuan mereduksi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 700 nm. Absorbansi yang tinggi menunjukkan kemampuan mereduksi yang tinggi (Yang, *et al.*, 2000).

Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hydrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005). Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen yang mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konversi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji (Prakash, 2001).

Berkurangnya intensitas warna larutan DPPH tersebut dapat menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara atom hydrogen yang dilepas oleh bahan uji dengan molekul radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin yang berwarna kuning (Molyneux, 2004). Nilai 0% berarti sampel tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti pengujian aktivitas antioksidan perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila presentase aktivitas antioksidan lebih atau sama dengan 50% (Purwata *et al*, 2009). Absorbansi kontrol yang digunakan dalam prosedur DPPH ini adalah absorbansi DPPH sebelum ditambahkan sampel. Kontrol digunakan untuk mengkonfirmasi kestabilan sistem pengukuran dan juga berfungsi menjaga kekonstanan total konsentrasi DPPH dalam serangkaian pengukuran (Molyneux, 2004).

2.9 Manfaat Tumbuhan di dalam Al-Qur'an

Allah SWT menciptakan alam semesta beserta isinya tidaklah dengan sia-sia. Manusia sebagai makhluk paling sempurna diantara ciptaan Allah yang lain memiliki tugas untuk mengkaji dan meneliti setiap rahasia yang tersimpan dalam ciptaan Allah, sehingga dengan mengetahui sebagian rahasia Allah dapat diperoleh pengetahuan dan manfaat dari setiap ciptaannya, selain itu dapat membawa kemajuan bagi umat manusia. Bekatul adalah ampas atau hasil samping dari proses penggilingan padi, sehingga masih jarang adanya pemanfaatan bekatul dalam kehidupan manusia. Akan tetapi beberapa kandungan dalam bekatul yang telah diketahui, dimungkinkan sangat bermanfaat bagi kehidupan, sehingga dengan ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Al-Quran surah As-syu'araa' ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

Tafsir Ibnu Katsir menyebutkan bahwa pada ayat tersebut Allah SWT mengingatkan kebesaran kekuasaan-Nya dan keagungan kemampuan-Nya, serta keadaan para pembangkang yang menyelisihi rasul-Nya dan mendustakan kitab-Nya. Dia lah yang maha perkasa, maha agung lagi maha kuasa, yang telah menciptakan bumi dan menumbuhkan di dalamnya tumbuh-tumbuhan yang baik berupa tanaman, buah-buahan dan hewan. Sesungguhnya di dalam semua ciptaan Allah tersebut, terdapat kekuasaan-Nya yang perlu dikaji lebih dalam. Berdasarkan ayat tersebut dapat dijadikan bukti bahwa setiap ciptaan-Nya

tidaklah sia-sia. Sebagai makhluk sempurna yang dikaruniai akal dan fikiran, maka wajib bagi kita untuk mengkaji lebih dalam manfaat-manfaat dan rahasia dari semua ciptaan Allah, termasuk bekatul yang merupakan ampas atau hasil samping.

Menurut tafsir al-Maraghiy diantara bukti kekuasaan Allah yang pertama ialah penciptaan langit serta menjadikan gunung-gunung di atas permukaan bumi dan lautan yang menutupi sebagian besar permukaan bumi. Bukti yang kedua yaitu mengembangbiakkan berbagai jenis hewan yang tiada seorang pun dapat mengetahui jumlah, bentuk dan warnanya selain Allah. Kemudian yang ketiga yaitu menurunkan air dari langit, yakni air hujan yang dengan adanya air hujan tersebut tumbuhlah berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang banyak manfaatnya. Sebagaimana firman Allah dalam surah Al An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرَجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ



“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman.” (QS. Al An'am:99)

Menurut al-Qarni (2007), Allah Swt. telah menurunkan hujan dari awan, dan dari hujan tersebut ditumbuhkan setiap tumbuhan hijau. Kemudian

mengeluarkan biji yang bersusun dari tanaman itu, sebagiannya di atas sebagian yang lain. Setiap biji ditata sedemikian rupa, sehingga semua itu menunjukkan kebijaksanaan Allah yang telah merancanginya. Banyak dari ahli gizi menyatakan bahwa hanya ada sedikit buah-buahan yang keutamaannya mampu menandingi jenis buah-buahan yang disebutkan dalam ayat-ayat Al Qur'an di atas. Minyak zaitun dapat menghasilkan jumlah kalori yang sangat besar dan banyak dalam memberikan energi. Sedangkan buah kurma diketahui banyak mengandung kalsium yang merupakan faktor utama dalam memperkuat tulang. Selain itu, buah Tin yang mengandung senyawa flavonoid dan polifenol berfungsi sebagai zat antioksidan bagi tubuh.

Tanda-tanda kekuasaan Allah tersebut, merupakan bukti bahwa masih banyak ciptaan Allah yang belum diketahui manfaatnya oleh manusia, sehingga dengan begitu perlu dilakukan sesuatu untuk menggali lebih dalam manfaat dari setiap ciptaan-Nya. Padi adalah salah satu tumbuhan yang merupakan sumber makanan pokok orang Indonesia. Hasil samping penggilingan padi dikenal dengan nama bekatul, yang mana pemanfaatannya masih jarang dijumpai. Meskipun bekatul hanya berupa hasil samping dan seringkali diabaikan, namun bekatul akan lebih bermanfaat dan bernilai tinggi jika umat manusia masih memikirkan bagaimana cara untuk memanfaatkannya.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Agustus 2017-Februari 2018 di Laboratorium Riset Biokimia dan Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah ayakan 60 mesh, *beaker glass* 50 mL, *beaker glass* 100 mL, *beaker glass* 250 mL, spatula, neraca analitik, gelas arloji, pengaduk gelas, Erlenmeyer 250 mL, labu ukur 100 mL, *autoclave*, *hot plate*, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *shaker*, pipet ukur 10 mL, pipet mikro, *blue tipe*, vortex, penangas air, bola hisap, gelas ukur 100 mL, botol kecil, *laminar air flow*, Spektrootometer UV-Vis, kuvet, *plastic wrap*, bunsen, corong Buchner, Erlenmeyer vakum, *rotary evaporator vacuum*, korek api dan *freezdrying*.

3.2.2 Bahan

Bekatul (diperoleh dari penggilingan padi di daerah Kec Singosari Kab. Malang), Jamur *Rizhopus oryzae* (diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang), *Potato Dextrose Agar* (Himedia), etanol, methanol, DPPH (1,1-difenil-2-dipikrilhidrazil) (Sigma Aldrich), vitamin C, alkohol, kertas saring, kapas, dan tisu

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat kuantitatif menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah lama fermentasi dengan 3 variasi yakni 3, 4, dan 5 hari. Sedangkan faktor kedua adalah faktor konsentrasi substrat (bekatul:aquades) dengan variasi (1:1), (1:2) dan (1:3). Kombinasi perlakuan lama fermentasi dan konsentrasi substrat dapat dinyatakan pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Konsentrasi Substrat dan Lama Fermentasi

Lama Fermentasi	Konsentrasi Substrat	S ₁ (1:1)	S ₂ (1:2)	S ₃ (1:3)
L ₁ (3 hari)		L ₁ S ₁	L ₁ S ₂	L ₁ S ₃
L ₂ (4 hari)		L ₂ S ₁	L ₂ S ₂	L ₂ S ₃
L ₃ (5 hari)		L ₃ S ₁	L ₃ S ₂	L ₃ S ₃

Adapun proses penelitian yang dilakukan yakni bekatul yang telah dipreparasi dicampurkan dengan inokulum jamur konsentrasi 10% yang sudah dibuat dengan media cair aquades steril. Selanjutnya dilakukan proses fermentasi dengan menggunakan variasi lama fermentasi 3, 4 dan 5 hari. Sehingga, akan dilakukan perlakuan dengan mengkombinasi variasi konsentrasi substrat dan lama fermentasi, seperti halnya yang sudah tertera dalam Tabel 3.1. Jumlah total perlakuan yang dilakukan sebanyak 9 perlakuan dengan masing-masing percobaan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Hasil fermentasi selanjutnya akan dianalisis aktivitas antioksidannya.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Sterilisasi alat
2. Preparasi sampel
3. Pembuatan *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan media cair aquades steril.
4. Regenerasi isolat jamur *Rizhopus oryzae*
5. Produksi inokulum jamur
6. Fermentasi bekatul menggunakan isolat jamur *Rizhopus oryzae* dengan menggabungkan variasi lama fermentasi dan konsentrasi substrat.
7. Ekstraksi senyawa antioksidan bekatul menggunakan pelarut etanol.
8. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan untuk menginokulasi jamur *Rizhopus oryzae* seluruhnya dicuci bersih. Kemudian, Erlenmeyer dan tabung reaksi dibungkus menggunakan plastik tahan panas. Selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C.

3.5.2 Preparasi Sampel (Razak, et al., 2015)

Sampel berupa bekatul dibersihkan dari pengotor kasarnya dengan cara diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Setelah itu, ditimbang bekatul sebanyak 30 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml kemudian dicampurkan dengan air sesuai dengan variasi konsentrasi substrat (bekatul:aquades) sebesar (1:1), (1:2), dan (1:3). Setelah itu ditutup dengan aluminium foil dan dibungkus

plastik. Selanjutnya disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C dalam waktu 15 menit.

3.5.3 Pembuatan Media

3.5.3.1 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar (PDA)*

Pembuatan media PDA ini dilakukan dengan cara melarutkan 4 gram media PDA bubuk dalam 100 mL akuades dan dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk. Larutan tersebut dituang ke dalam 16 buah tabung reaksi masing-masing sebanyak 4 mL dan ditutup mulut tabung reaksi dengan kapas dan *plastic wrap*. Selanjutnya, media PDA disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C. Kemudian, didinginkan dalam keadaan miring hingga memadat.

3.5.3.2 Pembuatan Media *Potato Dextrose Broth (PDB)*

Pembuatan media PDB ini dilakukan dengan cara melarutkan 3,8 gram media PDB bubuk dalam 100 mL akuades dan dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk. Larutan tersebut dituang ke dalam 4 buah botol gelas masing-masing sebanyak 25 mL. Kemudian mulut botol ditutup dengan aluminium foil. Media PDB kemudian disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama ±15 menit. Kemudian didinginkan dan disimpan di dalam lemari es.

3.5.3.3 Pembuatan Aquades Steril (Irfan, 2012).

Pembuatan media cair aquades steril ini untuk membuat inokulum jamur sebelum proses fermentasi. Aquades disiapkan sebanyak 50 mL dan dimasukkan kedalam botol kaca. Kemudian botol ditutup dengan kapas dan plastic wrap. Media yang sudah siap, selanjutnya disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C.

3.5.4 Regenerasi Jamur *Rizhopus oryzae* (Dewi, et al .,2004).

Jamur yang akan digunakan harus diregenerasi terlebih dahulu. Disiapkan media miring *Potato Dextrose Agar* (PDA) pada suhu 4 °C dalam tabung reaksi yang sudah disterilisasi. Regenerasi ini dilakukan dengan cara mengambil 1 ose isolat jamur kemudian digoreskan ke media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Jamur yang sudah ditanam dalam media didiamkan hingga bersporulasi penuh, kurang lebih 5 hari pada suhu kamar.

3.5.5 Pembuatan Inokulum Jamur (Irfan, 2012).

Jamur yang sudah diregenerasi dalam media *Potato Dextrose Agar* (PDA) selama ±5 hari kemudian diinokulasikan 12 ose kedalam Aquades steril. Media Aquades steril yang telah dicampur dengan sel jamur kemudian shaker selama ±5 menit agar sel jamur tersuspensi sempurna dalam media cair. Media inokulum yang mengeruh, selanjutnya digunakan untuk proses fermentasi.

3.5.6 Fermentasi Bekatul (Razak, et al., 2015)

Bekatul yang telah dicampur dengan air sesuai dengan variasi konsentrasi substrat (bekatul:aquades) sebesar (1:1), (1:2), dan (1:3) selanjutnya ditambah inokulum jamur *Rizhopus oryzae* dengan konsentrasi 10% secara aseptis dan di kocok dengan spatula yang steril. Setelah itu diinkubasi pada suhu 30 °C selama 120 jam. Untuk karakterisasi senyawa antioksidan, sampel diambil mulai dari 72 jam lama inkubasi hingga 120 jam. Jadi, akan dilakukan perlakuan dengan mengkombinasikan konsentrasi substrat dan lama fermentasi sehingga akan diperoleh total 9 perlakuan yaitu, S₁ L₁, S₁ L₂, S₁ L₃, S₂ L₁, S₂ L₂, S₂ L₃, S₃ L₁, S₃ L₂, dan S₃ L₃. Hasil fermentasi kemudian dikeringkan pada oven suhu 60 °C

selama 24 jam. Selanjutnya, dilakukan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol.

3.5.7 Ekstraksi Senyawa Antioksidan Bekatul Terfermentasi (Oliveira, *et al.*, 2012)

Bekatul hasil fermentasi ditimbang sebanyak 20 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL. Selanjutnya dilakukan ekstraksi maserasi menggunakan etanol p.a (1:3, b/v) sebanyak 60 mL dan mulut Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil. Ekstraksi maserasi dilakukan selama 1 jam menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 120 rpm pada suhu ruang. Selanjutnya filtrat hasil ekstraksi dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan disemprotkan gas N₂.

3.5.8 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)

3.5.8.1 Penentuan panjang gelombang maksimum (Hanani, 2005)

Metanol sebanyak 8 mL dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 2 mL. Selanjutnya dicari λ_{maks} larutan pada rentangan panjang gelombang 500-600 nm dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

3.5.8.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel (Tisnadjaja, 2012)

Sampel ekstrak 100 mg dilarutkan dalam 10 mL metanol. Kemudian diambil 2 mL darinya dan ditambahkan ke 2 mL DPPH 0,4 mM, selanjutnya ditanda bataskan dengan pelarut methanol hingga 10 mL. Lama inkubasi kemudian dilakukan selama 30 menit pada suhu kamar. Selain itu, disiapkan pula 2 mL larutan DPPH ditambah 8 mL metanol digunakan sebagai kontrol. Selain itu

juga digunakan Vitamin C sebagai kontrol kandungan antioksidan. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrometer sinar tampak pada panjang gelombang yang telah didapatkan pada pengukuran panjang gelombang maksimum. Persentase penangkapan radikal bebas dinyatakan dalam presentase penghambatan radikal bebas DPPH:

$$\text{Pengikatan DPPH (\%)} = \left[\frac{\text{Serapan kontrol} - \text{Serapan sampel}}{\text{Serapan kontrol}} \right] \times 100\%$$

3.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah peningkatan aktivitas antioksidan bekatul hasil fermentasi. Data dianalisis dengan ragam varian (ANOVA) pada SPSS 16. Apabila terdapat adanya pengaruh, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan tingkat signifikansi 5% untuk mengetahui perlakuan yang berpengaruh atau berbeda nyata di antara perlakuan yang lain.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel bekatul yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari padi yang berasal dari daerah Singosari-Malang. Sebelum digunakan untuk proses fermentasi, dilakukan pengayakan serta beberapa proses preparasi terlebih dahulu. Penelitian yang telah dilakukan ini terdiri dari beberapa tahapan perlakuan, di antaranya adalah preparasi sampel, pembuatan media *Potato Dextrose Agar*, regenerasi jamur *Rizhopus oryzae*, produksi inokulum, fermentasi bekatul dengan variasi konsentrasi substrat dan lama fermentasi oleh *Rizhopus oryzae*, ekstraksi senyawa antioksidan dalam bekatul terfermentasi, dan pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH.

4.1 Preparasi Sampel

Bekatul yang masih tercampur dengan pengotornya dipisahkan terlebih dahulu dengan cara diayak menggunakan ayakan 60 mesh, selain itu tujuan diayaknya bekatul untuk memeperbesar luas permukaan sampel. Semakin kecil ukuran pertikel sampel bekatul menandakan bahwa semakin besar luas permukaan sampel, dengan demikian dapat mempermudah kelarutan komponen bioaktif. Kemudian sampel yang telah diayak dan semua peralatan yang akan digunakan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C.

Tujuan dari sterilisasi adalah untuk menghindari terjadinya kontaminasi bahan atau alat, selain itu sterilisasi juga bertujuan untuk membunuh dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan. Suhu yang digunakan yaitu 121 °C pada saat sterilisasi, karena prinsip utama dari sterilisasi uap menggunakan autoklaf, yaitu menggunakan uap air yang bertekanan sebagai pensterilnya. Jika suhu yang digunakan 121 °C, maka tekanannya yaitu sebesar

15-17,5 psi (2 atm). Suhu dan tekanan yang besar diberikan pada saat sterilisasi karena memiliki kemampuan yang lebih besar untuk membunuh sel dibanding dengan udara panas. Pada tekanan 15 psi, air akan mendidih tepat pada suhu 121 °C, jadi semua jenis kehidupan akan mati saat air mendidih di dalam autoklaf yaitu pada suhu 121 °C dengan tekanan 15 psi. Lama sterilisasi tergantung pada sifat bahan yang disterilkan, tipe wadah dan volume bahan, sedangkan kondisi yang baik digunakan untuk sterilisasi adalah pada 15 psi (2 atm) dan temperatur 121 °C selama 15 menit (Nester, dkk. dalam Adji, dkk., 2007). Keadaan panas dalam autoklaf tersebut mampu mendenaturasi protein pada organisme hidup, dengan demikian akan mematikan organisme tersebut. Hasil yang diperoleh dari proses preparasi ini adalah bekatul steril berwarna coklat dan peralatan yang steril.

4.2 Pembuatan media *Potato Dextrose Agar*

Media *Potato Dextrose Agar* merupakan media yang berfungsi memberikan asupan nutrisi untuk jamur dengan teknik regenerasi atau penumbuhan mikroorganisme jamur (Cappucino, 2014). Pemilihan media harus sesuai dengan unsur hara yang dibutuhkan untuk proses pertumbuhan dari mikroorganisme jamur. Jamur *Rizhopus oryzae* akan ditumbuhkan pada media PDA miring dalam tabung reaksi. Media PDA diperoleh dari proses melarutkan media PDA bubuk 3,9 gram dalam 100 mL akuades dengan pemanasan dan pengadukan. Sedangkan media yang digunakan untuk proses pembuatan inokulum dalam proses fermentasi adalah aquades steril.

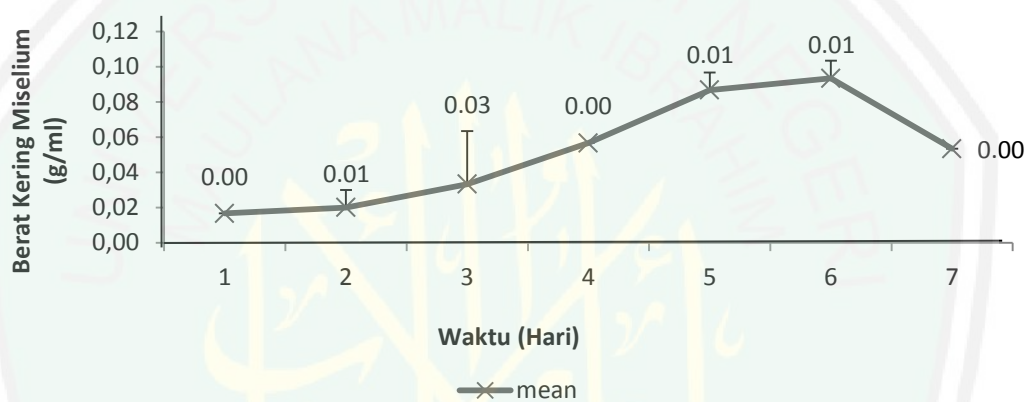
4.3 Regenerasi jamur *Rizhopus oryzae*

Mikroorganisme jamur yang digunakan pada penelitian ini yaitu *Rizhopus oryzae*, jamur tersebut merupakan salah satu spesies jamur dari *Rizhopus sp.* Proses regenerasi merupakan proses peremajaan bagi jamur untuk memperbaharui sel-selnya. Selain itu bertujuan untuk menjaga ketersediaan nutrisi bagi jamur dan menghindari adanya perubahan karakter dari kultur induk (Amalia, 2016). Regenerasi jamur *Rizhopus oryzae* bertujuan untuk mendapatkan jamur yang berada pada fase logaritmik, dengan demikian jamur yang akan digunakan dalam proses fermentasi masih dalam keadaan produktif. Tahapan yang diperlukan dalam proses regenerasi diantaranya adalah menyiapkan media miring PDA steril. Stok jamur *Rizhopus oryzae* yang sudah disiapkan kemudian di ambil sebanyak 1 ose dan digoreskan diatas media miring yang baru. Media regenerasi tersebut, kemudian diinkubasi selama 5 hari dan siap digunakan untuk analisis kurva pertumbuhan.

4.4 Kurva Pertumbuhan

Tujuan analisis kurva pertumbuhan untuk mengetahui fase pertumbuhan suatu mikroorganisme khususnya jamur *Rizhopus oryzae*. Isolat jamur *Rizhopus oryzae* hasil regenerasi, diambil sebanyak 1 ose dan dipindahkan ke dalam media cair PDB. Sebanyak 21 wadah media PDB yang sudah ditambah dengan isolat jamur, kemudian diinkubasi masing-masing 3 wadah dipanen dari hari pertama sampai hari ke 7. Setelah melalui pengamatan tersebut dapat diketahui bahwa hari ke 1-2 masa inkubasi, jamur masih berada pada fase adaptasi (fase lag), hari ke 2-4 masa inkubasi pada fase logaritmik, hari ke 4-6 masa inkubasi, jamur berada

pada fase stasioner, dan pada masa inkubasi hari ke 6-7 mulai terlihat adanya penurunan berat misellium yang menandakan bahwa pada masa inkubasi tersebut terjadi fase kematian dipercepat. Salah satu tanda bahwa jamur tersebut berada pada fase stasioner dengan adanya peningkatan jumlah sel, sehingga dengan ini jamu siap dipanen untuk proses fermentasi (Irfan, *et al.*, 2012). Kurva pertumbuhan jamur yang telah dilakukan dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Kurva Pertumbuhan Jamur *Rizhopus oryzae*
(Data label menunjukkan nilai standart deviasi)

Seperti halnya penelitian yang telah dilakukan oleh (Melgar, *et al.*, 2013) dengan hasil penelitian yang menyebutkan bahwa fase pertumbuhan jamur *Rizhopus oryzae* diantaranya adalah fase adaptasi (lag) berada pada masa inkubasi 0-2 hari, fase logaritmik (eksponensial) pada masa inkubasi 2-4 hari, fase stasioner berada pada masa inkubasi 4-6 hari, dan fase kematian dipercepat pada masa inkubasi diatas 6 hari. Berdasarkan hasil pengamatan fase pertumbuhan jamur *Rizhopus oryzae* yang telah dilakukan tersebut, maka untuk pembuatan inokulum jamur, koloni yang digunakan adalah jamur pada media miring PDA yang berada pada fase pertumbuhan, yakni pada masa inkubasi 5 hari.

4.5 Pembuatan Inokulum Jamur

Kultur jamur atau bibit jamur yang diinokulasikan ke dalam suatu cairan disebut inokulum. Kultur jamur yang akan diinokulasikan kedalam aquades steril dipilih yang berada pada fase awal stasioner. Cairan yang digunakan dalam pembuatan inokulum adalah aquades steril. Penggunaan aquades steril dalam pembuatan inokulum dilakukan agar inokulum mudah tercampur dengan rata pada media fermentasi. Langkah pembuatan inokulum yaitu dengan mengambil 15 ose isolat jamur dan dimasukkan dalam aquades steril sebanyak 50 mL, setelah itu dilakukan pengocokan dengan vortex selama ± 5 menit, sehingga isolat yang di tanam dalam aquades steril dapat merata atau homogen. Selanjutnya inokulum dalam aquades steril digunakan untuk proses fermentasi bekatul.

4.6 Fermentasi Bekatul dengan Variasi Lama Fermentasi dan Konsentrasi Substrat Terhadap Peningkatan Aktivitas Antioksidan oleh *Rizhopus oryzae*

Tujuan dari proses fermentasi adalah untuk memecah atau merenggangkan kompleks selulosa yang terkandung dalam bekatul dengan bantuan mikroorganisme jamur *Rizhopus oryzae*. Jamur ini membantu dengan cara mengeluarkan suatu enzim yang bernama enzim selulase dan mampu membuka sel tumbuhan berupa selulosa. Sehingga ikatan senyawa aktif atau senyawa antioksidan yang terikat dalam selulosa akan mudah terputus. Melalui proses fermentasi ini dapat meningkatkan aktivitas antioksidan dari bekatul (Razak., *et al.* 2016).

Fermentasi dalam penelitian ini dilakukan dengan mengkombinasi variasi lama waktu inkubasi, diantaranya adalah 3, 4, dan 5 hari dan variasi konsentrasi

substrat (1:1), (1:2), dan (1:3). Kedua variasi faktor yang digunakan diatas berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kerja dari suatu mikroorganisme yang digunakan. Penggunaan variasi lama fermentasi tersebut, dikarenakan pada masa-masa 3-5 hari jamur akan memasuki masa logaritmik ke masa stasioner yang memiliki peningkatan jumlah sel jamur (Melgar., *et al.* 2013). Sehingga dengan meningkatnya sel jamur, maka aktivitas kerja jamur dalam merenggangkan serat selulosa juga akan semakin meningkat.

Begitu juga dengan faktor konsentrasi substrat, dimana yang telah diketahui dengan konsentrasi enzim yang tetap, maka penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas tertentu, dengan menambahkan konsentrasi substrat juga tidak dapat menaikkan kecepatan reaksi (Poedjiadi., 2012). Seperti halnya konsentrasi substrat dalam suatu pelarut. Perbandingan substrat dan pelarut pada media fermentasi sangat mempengaruhi hasil dari proses fermentasi. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Wang, *et al.* (1974) menyebutkan bahwa jamur *Rizhopus oligosporus* dan *Mucor dispersus* tumbuh dengan baik pada konsentrasi substrat 50% dan 66%. Akan tetapi pada konsentrasi substrat 35% jamur tersebut tumbuh dengan tidak baik. Hasil panen dari setiap variasi lama fermentasi tersebut kemudian dikeringkan menggunakan oven suhu 60 °C selama sehari semalam untuk menghilangkan kadar air dalam bekatul.

Tehnik fermentasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah SSF (*Solid State Fermentation*) atau fermentasi semi basah. *Solid State Fermentation* merupakan proses fermentasi yang digunakan dengan mikroorganisme pada matriks padat, dengan kadar air yang dibutuhkan hanya sedikit dan tidak melebihi

batas, sehingga pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme dapat terjamin (Delvian., 2006). Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Rudravaram., 2007., Ravinder., 2003) juga menyebutkan bahwa dengan metode *Solid State Fermentation* dapat meningkatkan hasil residu dari proses fermentasi dalam suatu media dengan bantuan enzim dari mikroorganisme tersebut.

Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan dalam proses fermentasi *Solid State Fermentation* adalah mikroorganisme spesies jamur. Jamur yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah jamur *Rizhopus oryzae*. Jamur *Rizhopus oryzae* merupakan jamur yang banyak digunakan dalam proses pembuatan makanan, seperti tempe. Digunakannya jamur *Rizhopus oryzae* dalam penelitian ini, karena jamur dalam genus *Rizhopus* mampu meningkatkan kadar total fenolik yang terikat dalam serat. Hal tersebut terjadi karena jamur ini mengandung enzim selulase yang mampu membuka serat selulosa, sehingga senyawa fenolik dan senyawa antioksidan yang terkandung dalam bekatul akan terlepas dan larut dengan pelarutnya (Chang, *et al.*, 2001). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa proses fermentasi menggunakan jamur dari genus *Rizhopus* dapat meningkatkan aktivitas antioksidan bekatul. Salah satu hasil penelitian tersebut yang dilakukan oleh Oliviera. *et al.*, (2012). Hasil penelitiannya menyebutkan bahwa dengan proses fermentasi menggunakan jamur *Rizhopus oryzae*, dapat meningkatkan aktivitas antioksidan bekatul meningkat hingga 50%.

Proses fermentasi dilakukan dengan menggabungkan variasi lama fermentasi dan konsentrasi substrat. Perlakuan yang dilakukan sebanyak 9 perlakuan untuk proses fermentasi dan 9 perlakuan untuk proses tanpa

penambahan kultur *Rizhopus oryzae* sebagai blanko. Sehingga total perlakuan sebanyak 18 perlakuan dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Selanjutnya proses penambahan inokulum kedalam perlakuan fermentasi dan diinkubasi sesuai dengan variasi lama fermentasi yang digunakan.

4.6.1 Ekstraksi Senyawa Antioksidan Bekatul Terfermentasi

Metode ekstraksi senyawa antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Metode ini dilakukan dengan cara perendaman suatu bahan oleh pelarut, sehingga akan mudah memecah dinding atau membran sel dari suatu sampel dan senyawa aktif yang berada dalam sitoplasma akan larut bersama pelarut. Pemilihan metode ekstraksi maserasi dalam mengekstrak senyawa fenolik ini, karena mempunyai proses kerja yang lebih mudah dari proses ekstraksi lainnya. Selain itu proses maserasi ini tidak menggunakan sistem pemanasan, sehingga dapat mencegah kerusakan dalam suatu senyawa yang diinginkan.

Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah pelarut etanol p.a. Alasan digunakannya pelarut etanol yang merupakan pelarut polar, karena banyak dari senyawa aktif yang masih terikat dengan senyawa glikosida (Amalia., 2016). Sesuai dengan pernyataan dari (Rohman dan Ganjar 2007) yang menyatakan bahwa senyawa dalam ekstrak akan larut dengan pelarut yang memiliki kesamaan kepolaran dengan senyawa tersebut, sehingga dengan demikian senyawa polar dapat dilarutkan dengan pelarut polar juga.

Proses maserasi dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan senyawa aktif yang diinginkan dari suatu sampel (Depkes RI, 2000). Senyawa aktif yang diinginkan dalam bekatul adalah senyawa fenolik dan senyawa antioksidan

lainnya yang terikat dalam matriks selulosa. Matriks selulosa dalam bekatul yang sudah difermentasi akan menjadi rantai selulosa yang lebih sederhana, sehingga ketika diekstraksi dengan pelarut polar, ikatan senyawa antioksidan atau senyawa fenolik pada selulosa dalam bentuk sederhana akan lebih mudah terputus dan larut bersama pelarut (Aruben, 2016). Senyawa fenolik dan senyawa antioksidan lain tersebut yang mampu menaikkan aktivitas antioksidan dari bekatul terfermentasi.

Setelah dilakukan proses maserasi, kemudian filtrat dipisahkan dengan residu bekatul. Filtrat yang didapat berwarna hijau kecoklatan. Senyawa antioksidan dan fenolik yang masih tercampur dengan pelarut dalam filtrat tersebut kemudian dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator vacum*. Hasil ekstrak setelah di *rotary evaporator vacum* tersebut disemprotkan gas N₂ untuk menghilangkan sisa-sisa pelarut dalam ekstrak. Rendemen ekstrak tersebut kemudian ditimbang untuk mengetahui perbandingan hasil timbangan yang diperoleh setiap ekstrak. Adapun rendemen hasil ekstrak etanol bekatul terfermentasi dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Rendemen ekstrak bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*

Perbandingan Konsentrasi Substrat (Bekatul:Aquades) (S)	Lama Fermentasi (Hari) (L)	Rata-rata rendemen dengan penambahan kultur (%)	Rata-rata rendemen tanpa penambahan kultur (%)
1:1	3	9,31	7,92
	4	9,5	8,12
	5	12,33	8,46
1:2	3	8,70	7,48
	4	7,80	7,26
	5	8,75	8,34
1:3	3	8,05	7,33
	4	7,66	6,85
	5	7,96	7,40

Berdasarkan perbandingan rendemen antara sampel yang difermentasi dengan kontrol atau sampel tanpa penambahan kultur *Rizhopus oryzae*, dapat diketahui bahwa rendemen yang diperoleh dari sampel yang difermentasi lebih besar dibandingkan dengan rendemen hasil sampel tanpa fermentasi. Hal tersebut dimungkinkan terjadi karena dengan melalui proses fermentasi serat kasar dalam bekatul akan terbuka, sehingga kandungan senyawa fenolik atau senyawa antioksidan lainnya dalam bekatul akan mudah terekstrak dibandingkan dengan hasil sampel tanpa proses fermentasi. Schmith, *et al.*, (2012) menyebutkan dalam hasil penelitiannya bahwa kandungan total fenolik dan biomass dari bekatul terfermentasi lebih besar hingga 4 mg/g dibandingkan dengan bekatul tanpa fermentasi. Perbedaan hasil rendemen tersebut juga dapat menjadi bukti bahwa dengan proses fermentasi menggunakan jamur *Rizhopus oryzae* dapat menurunkan kadar serat dan meningkatkan hasil ekstrak bekatul yang diduga berupa senyawa fenolik dan senyawa antioksidan lainnya.

Hasil rendemen tertinggi didapat pada perlakuan T₃S₁ yakni pada konsentrasi substrat 1:1 dengan variasi lama fermentasi 5 hari. Rendemen tertinggi yang didapat sebesar 12,33 %. Hal tersebut terjadi dimungkinkan karena dengan lama fermentasi 5 hari, jamur berada pada fase awal stasioner, sehingga pembukaan serat dapat terkontrol dengan baik. Akibatnya serat kasar selulosa dalam bekatul tidak terdegradasi sempurna menjadi glukosa, dengan begitu senyawa antioksidan dalam serat lebih banyak yang larut bersama pelarut. Begitu juga dengan variasi konsentrasi substrat (1:1) memiliki kadar air yang rendah, sehingga cara kerja jamur mampu berjalan dengan baik. Hal ini dikarenakan mikroorganisme jamur merupakan mikroorganisme yang hidup pada keadaan

kelembaban yang rendah (Sugiyanto, 2007). Rendemen terendah diperoleh pada perlakuan T₂S₃ yakni lama fermentasi 4 hari dengan konsentrasi substrat 1:3. Hasil rendemen terendah sebesar 7,66. Hal tersebut terjadi dimungkinkan karena substrat bekatul yang terendam banyak air mengakibatkan jamur tidak bekerja secara optimal, sehingga serat-serat bekatul tidak banyak yang terbuka dan banyak senyawa antioksidan yang masih terikat dengan serat.

Rendemen ekstrak bekatul yang didapatkan diuji dengan analisis avarians (Anova) *Two way* menggunakan SPSS 16. Analisis ini digunakan untuk mengetahui nilai signifikansi pengaruh lama fermentasi dengan konsentrasi substrat, serta pengaruh antara kedua variasi yang digunakan. Berdasarkan hasil uji yang didapat, diperoleh nilai signifikansi yang disajikan dalam Tabel 4.2

Tabel 4.2 Data SPSS rendemen ekstrak bekatul terfermentasi

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	49.769 ^a	8	6.221	1.633	.184
Intercept	2143.461	1	2143.461	562.722	.000
Waktu	30.458	2	15.229	3.998	.037
Substrat	8.840	2	4.420	1.160	.336
waktu * substrat	10.471	4	2.618	.687	.610
Error	68.564	18	3.809		
Total	2261.794	27			
Corrected Total	118.333	26			

Data yang diperoleh tersebut menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh nyata ($P > 0,05$) terhadap konsentrasi substrat dan interaksi antara lama fermentasi dan konsentrasi substrat. Variasi konsentrasi substrat tidak menunjukkan adanya

pengaruh nyata terhadap hasil rendemen, hal ini mungkin dikarenakan rentang tingkat kadar air dalam media bekatul terlalu kecil, sehingga cara kerja jamur dalam memfermentasi bekatul tidak memberikan perbedaan yang signifikan.

Data variasi lama fermentasi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, maka selanjutnya diuji menggunakan *Tukey* untuk mengetahui ada dan tidak adanya perbedaan antara kedua perlakuan. Hasil analisis lanjutan *Tukey* yang didapat disampaikan pada tabel 4.3

Tabel 4.3 Uji Lanjut Tukey Lama Fermentasi

Lama Fermentasi	Subset 1	Subset 2	Notasi
3 Hari	7.9233		a
4 Hari	8.4224	8.4224	ab
5 Hari		10.3841	b

Tabel diatas menceritakan bahwa pada perlakuan 5 hari memberikan perbedaan yang nyata terhadap perlakuan lama fermentasi 3 hari. Hal tersebut terjadi karena jarak lama fermentasi yang cukup lama, sehingga sistem kerja dan jumlah sel jamur memiliki perbedaan yang cukup jauh. Perbedaan ini dapat mempengaruhi sistem kerja jamur dalam memfermentasi bekatul. Hasilnya menyebabkan ekstrak pada lama fermentasi 5 hari diperoleh lebih banyak dibandingkan lama fermentasi 3 hari. Lama fermentasi 5 hari merupakan waktu yang baik bagi jamur untuk mendegradasi atau merenggangkan matriks selulosa, sehingga senyawa fenolik dan senyawa aktif lainnya yang terikat dalam ikatan glikosida lebih mudah didapatkan.

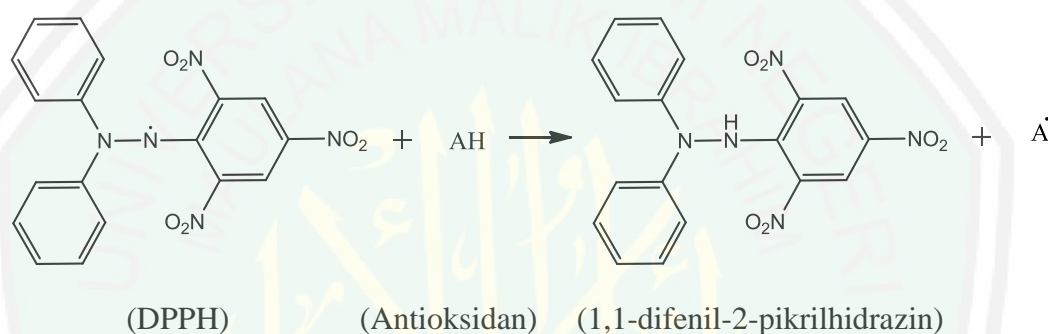
4.6.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)

Pengukuran aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan konsentrasi DPPH sebesar 0,4 mM. Langkah awal diawali dengan pengukuran panjang gelombang DPPH 0,4 mM. Hasil dari pengukuran panjang gelombang DPPH tersebut sebesar 517,1 nm dengan absorbansi sebesar 0,876. Tujuan dari dilakukannya pengukuran panjang gelombang maksimum adalah untuk mengetahui serapan tertinggi dari suatu panjang gelombang.

Hasil panjang gelombang maksimum yang diperoleh kemudian digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan ekstrak bekatul yang telah difermentasi dengan penambahan kultur *Rizhopus oryzae* dan sampel tanpa penambahan kultur *Rizhopus oryzae*. Pengukuran panjang gelombang yang telah dilakukan, memiliki hasil yang sesuai dengan referensi. Seperti halnya hasil dari pengukuran yang dilakukan oleh (Kubo *et al.*, 2002) menyebutkan bahwa kapasitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm.

Aktivitas antioksidan dari sampel diukur berselingan dengan kontrol berupa larutan DPPH 0,4 mM. Fungsi larutan kontrol ini untuk mengetahui serapan dari radikal bebas DPPH. Absorbansi kontrol yang telah didapat kemudian digunakan pada perhitungan. Perhitungan dilakukan dengan cara mengurangkan absorbansi kontrol dengan absorbansi sampel senyawa antioksidan yang telah menyerang radikal DPPH. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kemampuan senyawa antioksidan sampel dalam menetralkan radikal bebas DPPH.

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH memiliki prinsip mengukur terjadinya pemudaran warna ungu dari radikal DPPH dengan adanya reaksi senyawa antioksidan yang mendonasikan atom hidrogen. Akibat reaksi donasi atom hidrogen tersebut dapat menetralkan molekul radikal bebas dari DPPH, sehingga terjadi peluruhan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Hanani, 2005). Dugaan reaksi yang terjadi dapat dilihat pada Gambar 4.2



Gambar 4.2 Reaksi DPPH dan Antioksidan (Kubo, *et al.*, 2012)

Adapun sampel yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan yaitu sampel yang difermentasi dan sampel tanpa penambahan kultur *Rizhopus oryzae*. Penggunaan sampel tanpa penambahan kultur *Rizhopus oryzae* ini bertujuan untuk membandingkan kedua macam sampel tersebut. Sehingga dengan begitu dapat diketahui adanya pengaruh dari proses fermentasi oleh jamur *Rizhopus oryzae* mampu meningkatkan aktivitas antioksidan dari bekatul. Data rata-rata aktivitas antioksidan ekstrak bekatul ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*

Perbandingan konsentrasi bekatul (Bekatul:Aquades) (S)	Lama fermentasi (Hari) (L)	Rata-rata aktivitas antioksidan bekatul dengan kultur <i>Rizhopus oryzae</i> (%)	Rata-rata aktivitas antioksidan bekatul tanpa kultur <i>Rizhopus oryzae</i> (%)	Kenaikan aktivitas antioksidan (%)
1:1	3	85,39±1,19	80,73	4,66
	4	87,02±0,87	81,94	5,08
	5	84,43±5,76	70,7	13,37
1:2	3	82,86±4,75	80,43	2,43
	4	80,51±4,28	76,39	4,12
	5	76,01±9,13	67,18	8,83
1:3	3	82,86±1,11	82,78	0,08
	4	85,22±4,38	83,88	1,34
	5	78,06±8,50	70,52	7,54

Pembandingan aktivitas antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin C. Vitamin C merupakan antioksidan alami yang yang biasa dijumpai pada kandungan beberapa buah dan sayur. Fungsi penggunaan pembandingan vitamin C ini agar dapat membandingkan potensi antioksidan senyawa yang terdapat pada bekatul dengan senyawa antioksidan yang terdapat pada vitamin C (Amalia, 2016). Aktivitas antioksidan vitamin C yang didapat dalam penelitian ini sebesar 91,09 %. Sedangkan aktivitas antioksidan yang didapat dari bekatul terfermentasi tidak berbeda jauh dari aktivitas antioksidan vitamin C. Sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas antioksidan sampel mendekati nilai aktivitas antioksidan pembandingan, maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai alternatif antioksidan (Yuliani, 2010).

Peningkatan aktivitas antioksidan tertinggi yaitu pada perlakuan T₃S₁ (lama fermentasi 5 hari dan konsentrasi substrat 1:1) dengan kenaikan sebesar 13,37 %. Jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Oliviera, *et al.*

(2012) dengan menggunakan jamur *Rizhopus oryzae* CTT 1217 yang diisolasi sendiri dari bekatul, dengan variasi lama fermentasi, dimana aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada lama fermentasi 96 jam. Hasil yang diperoleh dari penelitian tersebut tidak sama dengan hasil dari penelitian yang dilakukan ini, karena pada penelitian tersebut dengan lama fermentasi 96 jam dapat meningkatkan aktivitas antioksidan hingga 50%. Sedangkan hasil terbaik yang diperoleh pada penelitian ini yakni pada lama fermentasi 120 jam atau 5 hari, dapat dimungkinkan bahwa pada lama fermentasi 120 jam pembukaan serat dapat terkontrol dengan baik. Akibatnya serat kasar selulosa dalam bekatul tidak terdegradasi sempurna menjadi glukosa, dengan begitu senyawa antioksidan dalam serat lebih banyak yang larut saat proses ekstraksi. Namun jika dibandingkan dengan penelitian Amalia, (2016) yang melakukan fermentasi bekatul dengan bakteri *Bacillus brevis* hasil aktivitas antioksidan tertinggi bekatul terfermentasi hanya sebesar 7,08 %. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas antioksidan bekatul yang difermentasi menggunakan jamur lebih tinggi dibandingkan dengan bekatul yang difermentasi dengan bakteri.

Perbedaan hasil yang diperoleh dengan literatur ini, dimungkinkan karena setiap mikroorganisme jamur memiliki aktivitas selulolitik yang tidak sama. Selain itu masa pertumbuhan setiap mikroorganisme jamur juga berbeda, sehingga dapat mempengaruhi sistem kerja dari jamur tersebut. Begitu juga dengan asal kultur yang digunakan sangat mempengaruhi adanya perbedaan pada peningkatan aktivitas antioksidan (Amalia, 2016).

Konsentrasi substrat dengan kadar air yang rendah, yakni (1:1) bekatul 30 gram dengan aquades 30 mL sangat berpengaruh dalam proses fermentasi. Hal

tersebut dikarenakan mikroorganisme jamur adalah mikroorganisme yang tidak suka dengan kadar air tinggi, atau biasa hidup dalam kondisi kelembaban yang rendah (Sugianto, 2007). Keadaan kelembaban yang rendah menyebabkan jamur dapat tumbuh dan bekerja dengan baik dalam memfermentasi bekatul. Seperti halnya penelitian yang telah dilakukan oleh Irfan (2012) menyebutkan bahwa menggunakan konsentrasi media (1:1) Gandum:Aquades, untuk proses fermentasi secara *Solid State Fermentation* oleh jamur *Rizhopus oligosporus* mampu memproduksi enzim amilase secara optimal dalam proses fermentasi.

Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Oliviera, *et al.* (2012) yang hanya memerlukan waktu 96 jam untuk mendapatkan aktivitas antioksidan tertinggi, maka pada penelitian ini dibutuhkan waktu 120 jam untuk mendapatkan hasil aktivitas antioksidan tertinggi. Hal tersebut dimungkinkan karena pada penelitian Oliviera, *et al.* (2012) jamur *Rizhopus oryzae* CTT 1217 yang digunakan diperoleh dari hasil isolasi dari bekatul. Setelah dilakukannya proses fermentasi pada penelitian ini, dapat diketahui bahwa dengan fermentasi aktivitas antioksidan bekatul dapat meningkat dibandingkan dengan aktivitas antioksidan bekatul tanpa fermentasi. Hal tersebut membuktikan bahwa dengan fermentasi dapat membantu lebih optimal dalam merenggangkan atau membuka ikatan matriks serat selulosa dalam bekatul. Sehingga senyawa fenolik dan senyawa antioksidan lainnya yang terkandung dalam bekatul dapat lebih mudah larut dengan pelarut saat proses ekstraksi. Fermentasi yang menggunakan bantuan jamur *Rizhopus oryzae* ini mampu untuk membuka serat selulosa dari bekatul dengan kandungan enzim selulase. Sehingga penurunan kadar serat dalam bekatul

akan semakin tinggi dan senyawa antioksidan yang didapat akan lebih banyak (Aruben, 2016)

Aktivitas antioksidan paling rendah yang didapatkan dalam penelitian ini pada perlakuan T₁S₃ (lama fermentasi 3 hari dan konsentrasi substrat 1:3). Hal tersebut terjadi dimungkinkan pada perlakuan tersebut proses fermentasi tidak berjalan dengan baik dan optimal, diduga dengan jangka waktu yang terlalu pendek jamur masih berada fase adaptasi, sehingga sistem kerja jamur belum bekerja dengan baik (Melgar, *et al.* 2013). Selain itu konsentrasi substrat yang terendam air lebih banyak akan menghambat kerja jamur, hal tersebut dikarenakan mikroorganisme jamur merupakan mikroorganisme yang hidup pada keadaan kelembaban yang rendah (Sugiyanto, 2007).

Namun jika dibandingkan dengan kontrol bekatul tanpa fermentasi, tanpa perendaman air, dan tanpa lama inkubasi, untuk semua sampel bekatul terfermentasi menunjukkan peningkatan. Hal tersebut dikarenakan pada perlakuan ekstrak bekatul ini tidak terjadi pembukaan serat yang dibantu oleh enzim dari mikroorganisme tertentu, sehingga aktivitas antioksidan yang didapat lebih rendah dari pada bekatul dengan proses fermentasi. Akan tetapi, jika dibandingkan dengan kontrol bekatul tanpa fermentasi yang menggunakan perendaman dan lama inkubasi, beberapa sampel diantaranya (L₁S₁K, L₂S₁K, L₁S₂K, L₂S₂K, L₁S₃K, L₂S₃K) mengalami peningkatan aktivitas antioksidan. Hal tersebut diduga dengan adanya perendaman air dalam sampel juga dapat membantu mempermudah serat terbuka, sehingga senyawa fenolik yang ada dalam serat akan mudah terekstrak dengan pelarut. Begitu juga dengan faktor lama inkubasi dalam sampel kontrol ini dapat mempengaruhi mikroorganisme indigenus dalam bekatul

bekerja untuk membuka serat kasar, sehingga hal tersebut dapat meningkatkan aktivitas antioksidan bekatul.

Nilai aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi yang didapat, kemudian di uji statistik dengan analisis varians (Anova) *Two way*. Tujuannya untuk mengetahui adanya pengaruh dari kedua variasi dan interaksi antara kedua variasi tersebut. Berdasarkan hasil statistik analisis varians *Two way*, data yang diperoleh menunjukkan bahwa kedua variasi konsentrasi substrat dan lama fermentasi, juga interaksi antara kedua variasi menunjukkan hasil yang tidak berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidan. Hal tersebut dimungkinkan terjadi karena dengan adanya peningkatan ekstrak bekatul seiring bertambahnya lama fermentasi, tidak berarti semakin banyak senyawa antioksidan yang terekstrak. Seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 4.5

Tabel 4.5 Data SPSS aktivitas antioksidan bekatul terfermentasi

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	317.195 ^a	8	39.649	1.411	.258
Intercept	183145.579	1	183145.579	6.517E3	.000
Waktu	113.430	2	56.715	2.018	.162
substrat	158.720	2	79.360	2.824	.086
waktu * substrat	45.044	4	11.261	.401	.806
Error	505.882	18	28.105		
Total	183968.656	27			
Corrected Total	823.077	26			

4.7 Pemanfaatan Bekatul dalam Prespektif Agama Islam

Allah SWT banyak menjelaskan dalam ayat-ayat-Nya bahwa segala sesuatu yang telah diciptakan memiliki manfaat tersendiri bagi makhluk di bumi. Salah satu ciptaan-Nya adalah tumbuh-tumbuhan yang bermanfaat bagi kehidupan manusia dan makhluk lain seperti hewan. Hal ini merupakan bukti bagi umat manusia agar berfikir, mempelajari dan memperhatikannya. Sesungguhnya dari semua ciptaan-Nya terdapat bukti dari kekuasaan Allah SWT.

Berbagai macam tumbuhan dapat dimanfaatkan oleh umat manusia, karena perbedaan lingkungan hidup dan kandungan senyawa dari setiap tumbuhan, menyebabkan tumbuhan mempunyai manfaat yang berbeda-beda pula. Sebagaimana beberapa ahli tafsir menerangkan bahwa Allah telah memenuhi janji-Nya, salah satunya adalah menumbuhkan tumbuhan dengan subur karena diturunkannya air hujan. Air hujan tersebut akan berperan sebagai zat yang dibutuhkan oleh tumbuhan. Tumbuhan tumbuh dengan berbagai macam perbedaan, rasa, warna, bentuk, jenis, bahkan manfaatnya. Tumbuhan yang subur akan menghasilkan beberapa manfaat dari proses penanamannya. Firman Allah juga banyak menjelaskan bahwa dengan bukti janji-Nya tersebut, diharapkan umat manusia berusaha mengkaji dan mempelajarinya untuk membuktikan adanya kebesaran Allah.

Berbagai manfaat dapat ditemukan pada tumbuhan, diantaranya sebagai obat-obatan yang dapat dikembangkan dalam ilmu farmasi. Salah satu tumbuhan yang banyak dikonsumsi manusia sehari-hari adalah padi dan biji-bijian lainnya. Akan tetapi tidak semua bagian dari padi dikonsumsi oleh manusia, seperti hasil samping penggilingan padi, yakni bekatul. Bekatul merupakan kulit padi yang

memiliki nilai ekonomi rendah dan biasa digunakan sebagai bahan pakan ternak. Seperti halnya padi, bekatul juga merupakan bagian dari tumbuhan yang diyakini memiliki manfaat seperti tumbuhan lain, dengan ini manusia perlu melakukan penelitian atau usaha untuk membuktikan salah satu kekuasaan Allah tersebut.

Penelitian dalam membuktikan manfaat bekatul dapat dilakukan dengan proses fermentasi untuk mendapatkan senyawa antioksidan dengan jumlah yang lebih banyak. Setelah melalui proses fermentasi, kemudian bekatul diekstrak untuk mendapatkan senyawa fenolik dan senyawa antioksidan lain. Hasil ekstrak kemudian diuji dengan metode DPPH dan dianalisis aktivitas antioksidannya dengan spektrofotometer UV-Vis, sehingga didapatkan nilai aktivitas antioksidan bekatul terfermentasi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa nilai aktivitas antioksidan tertinggi sebesar 87,02 % yakni pada lama fermentasi hari ke 4 dengan konsentrasi substrat 1:1.

Hasil tersebut membuktikan bahwa dengan usaha dan penelitian yang dilakukan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan bekatul. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui pula salah satu kebesaran Allah yang belum banyak dikaji, yakni proses fermentasi dengan bantuan jamur *Rizhopus oryzae* mampu meningkatkan aktivitas antioksidan bekatul. Dengan ini dapat disimpulkan bahwa setiap ciptaan Allah tidaklah ada yang sia-sia, karena Allah menciptakan segala sesuatu tidak dengan main-main. Hal tersebut sesuai dengan firman Allah dalam Al-Qur'an surat Al-Anbiya' (12) ayat 16:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لَعِبِينَ ﴿١٦﴾

"Dan tidaklah Kami ciptakan langit dan bumi dan segala yang ada di antara keduanya dengan bermain-main"

Maksud dari ayat diatas adalah Allah menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada di antara keduanya itu adalah dengan maksud dan tujuan yang mengandung hikmah. Seperti yang diterangkan dalam tafsir al-wasith jilid 2 bahwa semua yang dari Allah adalah adil dan hak. Tidaklah Allah mengadakan langit, bumi dan seisinya melainkan dengan kebenaran, maksudnya adil dan proposional, bukan main-main dan tanpa arti. Allah SWT menciptakan langit, bumi dan seisinya agar menjadi dalil atas pengetahuan Pencipta terhadap itu semua dan untuk manfaat-manfaat duniawi lainnya (Az-Zuhaili, 2013).



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa tidak ada pengaruh yang nyata pada kombinasi variasi yang digunakan, yakni lama fermentasi dan konsentrasi substrat terhadap peningkatan aktivitas antioksidan. Akan tetapi adanya variasi lama fermentasi yang digunakan berpengaruh terhadap nilai aktivitas antioksidan bekatul yang difermentasi oleh jamur *Rizhopus oryzae*. Nilai peningkatan aktivitas antioksidan bekatul tertinggi diperoleh pada perlakuan lama fermentasi 5 hari dengan konsentrasi substrat (1:1) sebesar 13,37 %, sedangkan nilai aktivitas antioksidan terendah diperoleh pada perlakuan lama fermentasi 3 hari dengan konsentrasi substrat (1:3) sebesar 0,08 %.

5.2 Saran

1. Menggunakan jamur selain *Rizhopus oryzae* ataupun mikroorganisme lain untuk mendapatkan hasil yang lebih baik pada fermentasi bekatul.
2. Pengujian kadar total fenolik ekstrak bekatul terfermentasi dan tanpa fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adji, D., Zuliyanti, dan Henry, L. 2007. Perbandingan efektivitas sterilisasi alkohol 70%, inframerah, otoklaf, dan ozon terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*. *Journal Sains Veterinary*, 25(1): 123–127.
- Al-Qarni, Aidh. 2007. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi Press.
- Amalia, R.N., 2016. Pengaruh pH dan Suhu Pada Peningkatan Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi oleh *Bacillus brevis*. *Skripsi*. Malang. UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Andlauer, W. dan Furst. 1998. Antioxidative power of phytochemicals with special reference to cereals. dalam Rajeshwar, Y., Kumar, G. P. S., Gupta, M., Mazumder, U.K. 2005. Studies on in vitro antioxidant activities of methanol extract of mucuna pruriens (*Fabaceae*) seeds. *European Bulletin of Drug Research*, 13(1): 176–184.
- Aruben, N.W. 2016. Peningkatan Konsentrasi Senyawa Fenolik Antioksidan dari Dedak dengan Cara Fermentasi. *Skripsi*. Semarang. Universitas Diponegoro.
- Astawan, M. A. dan Mita W., 1991. *Teknologi Pengolahan Pangan Nabati Tepat Guna*. Jakarta: Akademika Pressindo.
- Aulanni'am. 2005. *Protein dan Analisisnya*. Malang. Citra Mentari Group.
- Az-Zuhaili, Wahbah. 2013. *Tafsir Al-Wasith*. Jakarta: Gema Insani.
- Bayer, E.A., E. Morag, R.Lamed. 1994. *The Cellulosome- A Treasure-Trove for Biotechnology*. TIBTECH 12, 379-386.
- Bong C.J, King PJH, Ong KH, Mahadi NM. 2016. Effect of Fermentation on the Antioxidant Activity of Rice Bran by *Munascus pilous*. *Journal Appl Biol Chem*. (1) 57-62.
- Cappuccino, James G and Sherman Natalie. 2013. *Manual Laboratorium Biologi*. Jakarta: EGC.
- Chahal, D.S. 1983. Solid-state fermentation with *Trichoderma reesei* for cellulose production. *Appl. Environ. Microbiol*. 49, 205–210.
- Chang, P.C., Hsich, M.L., Shien, J.H., Graham, D.A., Lee, M.S., and Shich, H.K., 2001. Complete Nucleotide Sequence of Avian Paramyxovirus type 6 isolate from duck. *J Gen Virol*. 82: 2157-2168

- D'Archivio., Masella. R. 2007. Apoptosis in Cancer and Atherosclerosis: *Polyphenol Activities*. Ann in Super Sanita.
- Dashtban, M., Schraft, H., Syed, T.A., Qin, W. 2009. Fungal Biodegradation and Enzymatic Modification of Lignin. In: *J. Biochem. Mo. Biol.* 1(1), 36-50.
- Delvian. 2006. *Koleksi Isolat Cendawan Mikrozia Arbuskula Asal Hutan Pantai*. Universitas Sumatera Utara.
- Dey, T.B., Kuhad, R.C. 2014. Enhanced Production and Extraction of Phenolic Compounds from Wheat by Solid State Fermentation with *Rhizopus oryzae* RCK2012. *Journal of Biotechnologi Reports*. 4: 120-127.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta. 17: 31-32
- Departemen Pertanian. 2015. *Produksi Pangan Beras*. Jakarta.
- Elizabeth, G., 2011. *Energi Terbarukan Geothermal*. Fakultas Teknik Industri. Jakarta. Universitas Gunadarma
- Germain. G.S., and R. Summerbell. 2006. *Identifying Filamentous Fungi*. London. Microbiological Science
- Goldberg, G. 2003. *Plants: Diet and Health*. USA: Blackwell Publishing Company.
- Gordon, M. H. 1990. The Mechanism of Antioksidants Action in Vitro. In: Hudson, B.J.F. (ed). *Food Antioksidants*. Elsevier Applied Science. London-New York.
- Hanani, E., M. Abdul dan Ryany, S. 2005. Identifikasi senyawa antioksidan dan spons *Callispongia sp.* dari Kepulauan Seribu. *Majalah Kefarmasian*, 2(3): 127–133.
- Hawab, H.M. 2004. *Pengantar Biokimia*. Jakarta : Bayu Media Publishing.
- Hole, A. S., Ida, R., Stine, G., Stefanie, S., Judith, N., dan Stefan, S. 2012. Improved bioavailability of dietary phenolic acids in whole grain barley and oat groat following fermentation with probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuteri*. *Journal Agriculture, Food Chem*, 60(9): 6369–6375.

- Holtzaple., Mark. Moiser., Nathan. Wyman., Charles. Dale., Bruce. Elander., Richard. Lee., Y.Y and Ladisch., Michael. 2003. Features of Promising Thecnologies for Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. *Bioresource Journal*. Purdue University.
- Ikram, U.H., Javed M.M., Khan, T.S dan Shiddiq, Z. 2005. Cotton Saccharifying activity of Cellulase Product by Co-culture of *Aspergillus Niger* and *Trichoderma viridae*. *Res. J. Agric & Biol. Sci.* Vol. 1, hal 329
- Irawadi, T.T., 1990. *Selulase*. Bogor: IPB PAU Bioteknologi.
- Irfan, Muhammad., Nadeem, Muhammad., Syed, Quratualain. 2012. Media Optimization for Amylase Production in Solid State Fermentation of Wheat Bran by Fungal Strains. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 10(1): 55-64.
- Janathan. 2007. *Kolesterol*. Jakarta: Erlangga
- Kardono, L. B. S. dan Dewi, R. T. 1998. Evaluasi kandungan antioksidan dan senyawa fenolik dalam rempah-rempah endemik Indonesia. *Prosiding Seminar Nasional Teknologi Pangan dan Gizi*. 23(12): 979-982.
- Khopkar. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Komara, D. S., Rachman, S. D., dan Gaffar, S. 2007. Degradasi enzimatik selulosa dari batang pohon pisang untuk produksi glukosa dengan bantuan aktivitas selulolitik *Trichoderma viride*. *Litsar University of Padjajaran*, 16(2): 198-203.
- Krishna K. Weesner F.M. 2005. *Biology of Termites*. Vol 1. New York. Academic Pr. Hal 1-7.
- Kubo I., Masuda N., Xiao P., & Haraguci . 2002. Antioxidant Activity of Deodecyl Gallate. *J. Agric . Food Chem*, 50, 3533-3539.
- Kulp, K., 1975. *Carbohydrates* . Di dalam *Enzymes and Processing*. New York: Acadimic Press
- Lehninger, A.L. 1997. *Biochemistry*. New York: Work Publisher Inc.
- Lu, Zhongbing, Guangjun Nie, Peter S. Belton, Huiru Tang, Baolu Zhao. 2005. Structure-activity Relationship Analysis of Antioxidant Ability and Neuroprotective Effect of Gallic Acid Derrivates. *Neurochemistry International Journal*.

- Madhavi, D. L., Deshpande, S. S., dan Salunkhe, D. K. 1996. *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspective*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Massarolo, k.c., Souza., T.D., Colazzo, C.C., Furlong, E.B., Almeida, L. 2017. The Impact of *Rizhopus oryzae* Cultivation on Rice Bran gamma-oryzanol Recovery and its Antioxidant Properties.
- Melgar, G.Z., Assis F.V.S, Rocha, L.C., Fanti, S.C., Sette, L.D., Porto, A.L.M. 2013. Growth Curves of Filamentous for Utilization in Biocatalytic Reduction of Cyclohexanones. *Global J. of Science Frontier Reaseach Chemistry*. (13): 0975-5896
- Meryandini, A., Wahyu, W., Besty, M., Titi C.S., Nisa, R., dan Hasrul, S. 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Jurnal Makara Sains*, 13(1): 33–38.
- Miller G. 2001. Grain for the health: health effects of newly recognized grain constituent-antioxidants, phenolics, lignans, and phytochemicals. *Journal of the American College of Nutrition*, 19(2): 312–319.
- Miller, H. E., Rigelhof, F., Marquart, L., Prakash, A., dan Kanter, M. 2000. Antioxidant Content of Whole Grain Breakfast Cereals, Fruits and Vegetables. *Journal of The American College of Nutrition*, 19(3): 312–319.
- Mindasari, R. 2010. *Studi Antioksidan pada Pembuatan Tempe dari Kedelai, Jagung dan Dedak Padi*. Prodi ITP Fakultas Pertanian USU.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*, 26(2): 211–219.
- Noviati. 2007. Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi oleh *Saccaromyces cereviciae*. *Journal of Biochemistry*. (1) 24-26
- Oliveira, M. S., Eliane, P. C., Eliana, B. F., dan Leonor, S. S. 2012. Phenolic Compound and Antioxidant Activity in Fermented Rice (*Oryza sativa*) Bran. *Cience TecnoL Aliment*, 32(3): 531–537.
- Ou, S.Y, Teng, J.W, Zhao, Y.Y., dan Zhao, J. 2012. P-Coumaric Acid Production from Lignocelluloses. *Nova Science Journal*, 12(3): 435–440.

- Parwata, I. M. O. A., Wiwik, S. R., dan Raditya, Y. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri pada Daun Sirih (*Piper betle*, Linn.) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*, 3(1): 7–13.
- Pelczar, M.J., dan Chan, E.C.S. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Penerjemah: RS. Hadioetomo. Jakarta: UI Press.
- Palmer. 2003. *Hermaneutika Teori Baru Mengenal Interpretasi*. Yogyakarta: Pustaka Belajar
- Poedjiadi, Anna. 2012. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Pujaningsih, Retno. 2005. *Teknologi Fermentasi dan Peningkatan Kualitas Pakan*. Fakultas Teknologi Pertanian: Universitas Udayana.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Review of Analytical Chemistry*, 10(2): 2431–2435..
- Rasyid, N. Y. A., Dang, L. A. R., Anisah J., Shaiful, A. S., Kamariah, L. 2011. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Rice Bran Fermented with Lactic Acid Bacteria. *Malaysian Journal of Microbiology*, Vol. 11 (2) *Spedal Issue 2015*, pp. 156-162.
- Ravinder, R., Rao, L.V., dan Ravindra P. 2003. Studies on *Aspergillus oryzae* Mutants for the Production of Single Cell Proteins from Deoiled Rice Bran. *Food Technology and Biotechnology*, 41(3): 243-246.
- Razak, Dang L. A, Nur Yuhasliza A. R., Anisah J., Shaiful A. S., dan Kamariah Long. 2014. Enhancement of Phenolic Acid Content and Antioxidant Activity of Rice Bran Fermented with *Rhizopus oligosporus* and *Monascus purpureus*. *Biotechnology Research Center, Malaysia Agricultural Research and Development*, 14(2): 26–32.
- Rohman, A., dan Gandjar, I.G. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rudravaram., Chandel, A.K., Chan., Narasu, L.V., Rao., dan Ravindra. 2007. Economics and Environmental Impact of Bioethanol Production Technologies: An Appraisal. *Biotechnology and Molecular Biology Review*. Vol. 2 (1):1432.
- Schmidt , Cristiano G., Letícia M. Gonçalves, Luciana Prietto, Helen S. Hackbart, dan Eliana B. Furlong. 2013. Antioxidant activity and enzyme inhibition of phenolic acids from fermented rice bran with fungus *Rizhopus oryzae*. *Food Chemistry Journal*, 146(12): 371–377.

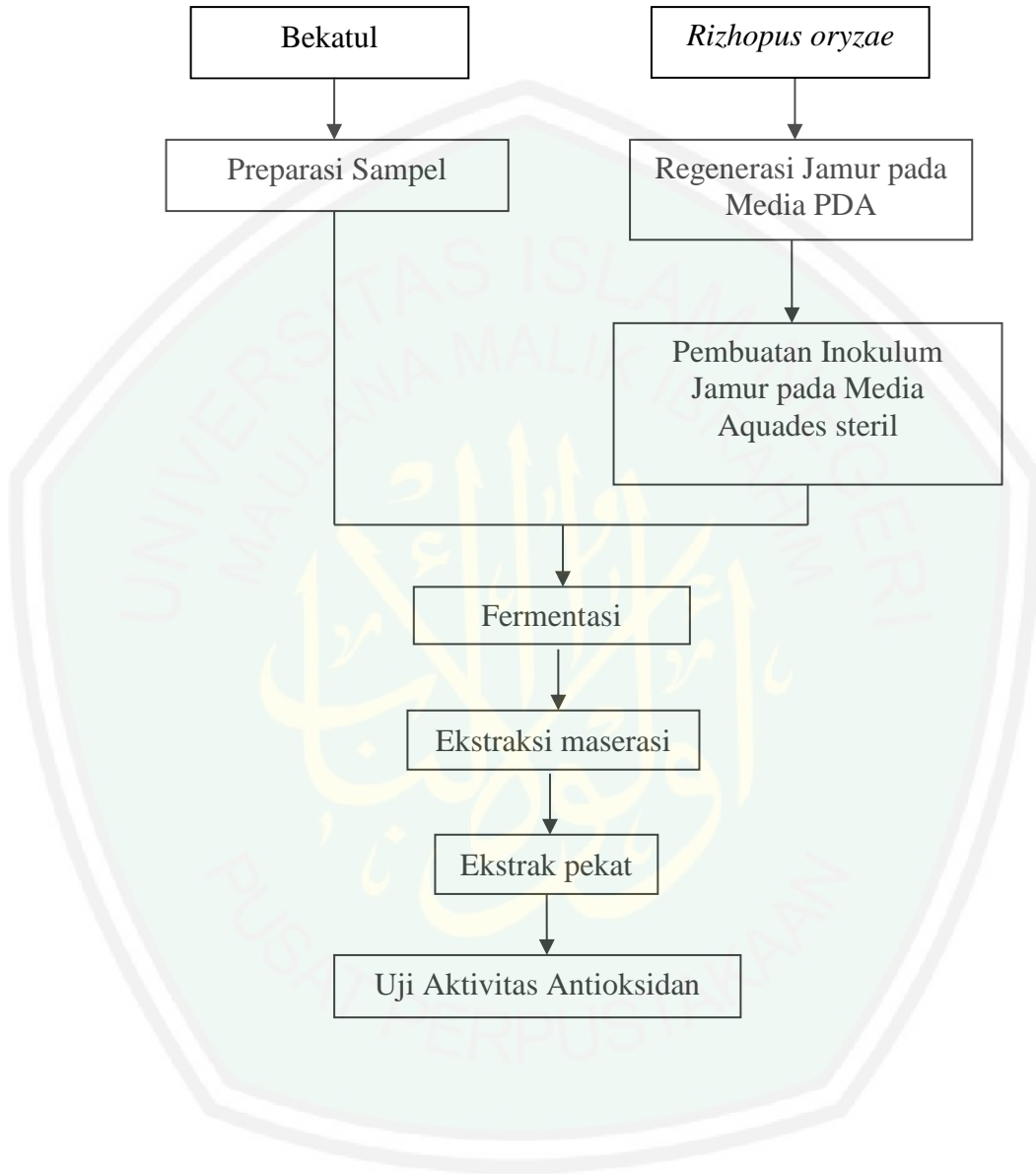
- Sirikul, A., Anuchita, M., dan Pheerayos, K. 2009. Comparison of Proximate Composition, Bioactive Compounds And Antioxidant Activity Of Rice Bran And Defatted Rice Bran From Organic Rice And Conventional Rice. *Asian Journal Of Food And Agro-Industry*, 2(4), 731–743.
- Sugiyanto, N.E., *et al.* 2007. Isolasi dan Determinasi Berbagai Jamur Endofit dari Tanaman *Aglaia Elliptica*, *Aglaia Eusideroxylon*, *Aglaia Odorata* dan *Aglaia Odoratissima*. Faculty of Pharmacy Airlangga University. <http://www.library.unair.ac.id>. Akses 25 Maret 2018
- Susetyo, S., I. Kismono., D. Soewardi. 2016. Optimasi Kandungan Gizi Tepung Ubi Jalar (*Ipomoea batatas L*) Terfermentasi Ditinjau dari Dosis Penambahan Inokulum Angkak Serta Aplikasinya dalam Pembuatan Mi Basah. Yogyakarta. UGM.
- Wang, HWA L., Vespa, Janet B., Hesseltine, C.W. 1974. Acid Protease Production by Fungi Used in Soybean Food Fermentation. *American Society for Microbiology*, 27(1).
- Wasito, H. R. 2005. *Peternakan Harus Menjadi Unggulan*. Jakarta: PT. Permata Wacana Lestari.
- Widowati, S. 2001. Pemanfaatan Hasil Samping Penggilingan Padi dalam Menunjang Sistem Agroindustri di Pedesaan. *Jurnal Sains*, 12(1): 128–134.
- Winarsi, H. 2011. *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandi. Yogyakarta: UGM Press.
- Yoon, H. J., Lee, K. A., Lee, J. H., Jin, H. J., Kim, H. J., Kim, K. T., dan Paik, H. D. 2015. Effect of fermentation by *Bacillus subtilis* on antioxidant and cytotoxic activities of black rice bran. *International Journal of Food Science and Technology*, 50(3): 612–618.
- Yuliani, D. 2010. Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jintan Hitam (*Nigella Sativa, L.*). Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Zhang, M. W., Zhang, R. F., Zhang, F. X., dan Liu, R. H. 2010. Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(3): 7580–7587.

Zubaidah, E., Ella, S., dan Josep, H. 2012. Studi Aktivitas Antioksidan pada Bekatul dan Susu Skim Terfermentasi Probiotik (*Lactobacillus plantarum* B2 dan *Lactobacillus acidophilus*). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 13(2):111-118.



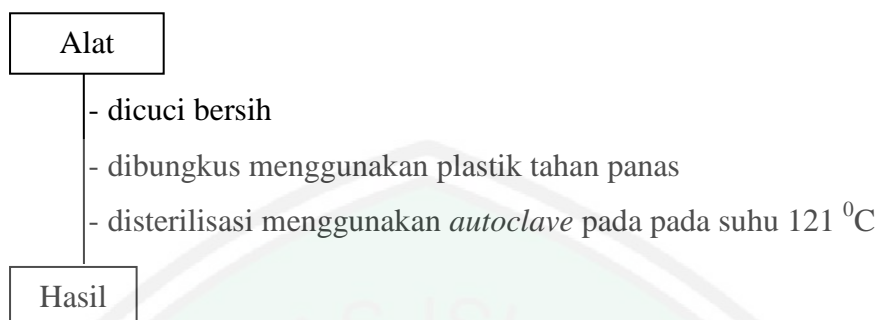
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

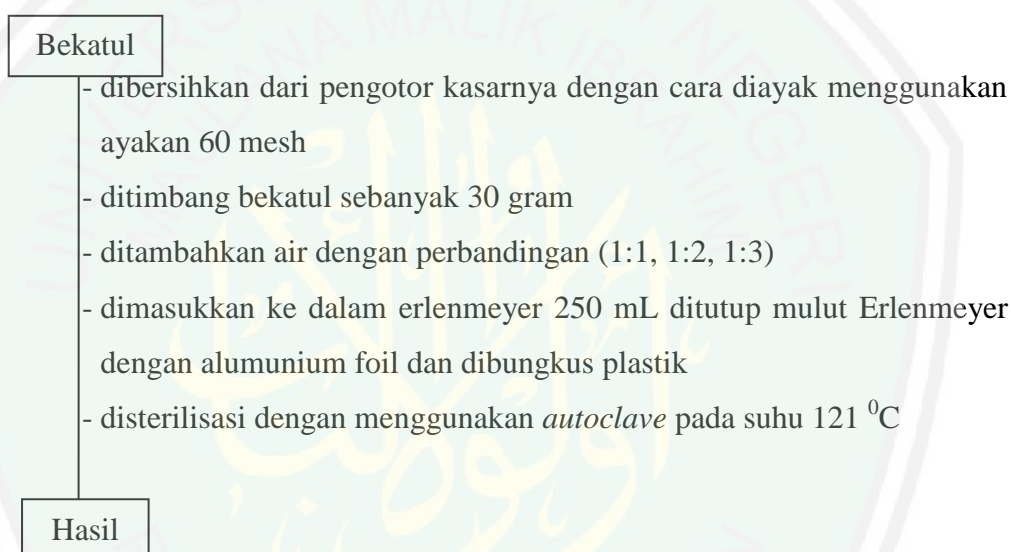


Lampiran 2. Diagram Alir

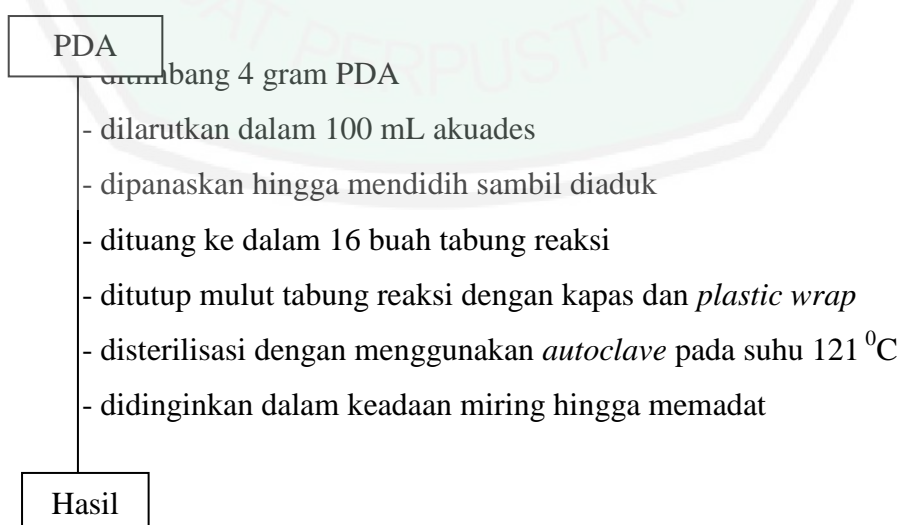
1. Sterilisasi Alat



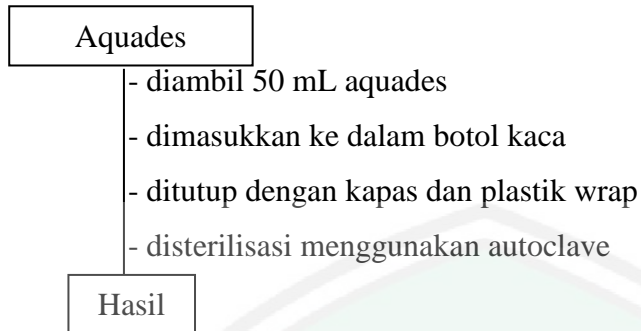
2. Preparasi Sampel



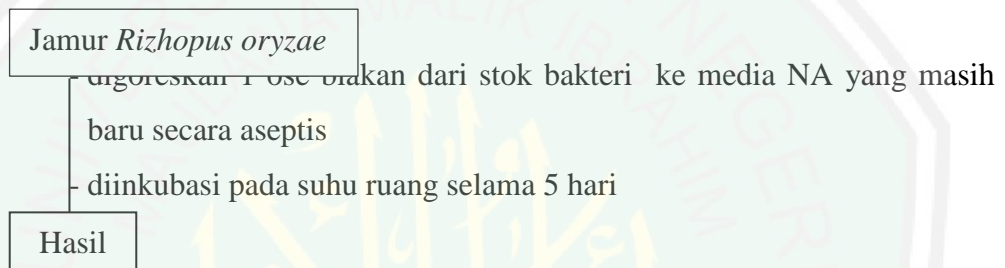
3. Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)



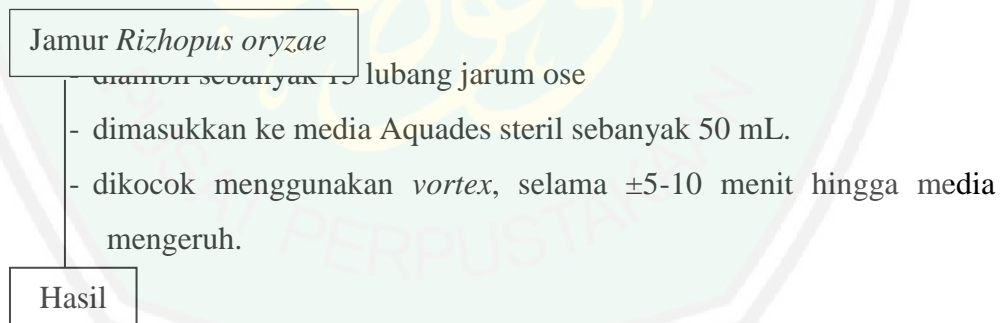
4. Pembuatan Aquades Steril



5. Regenerasi Jamur *Rizhopus oryzae*

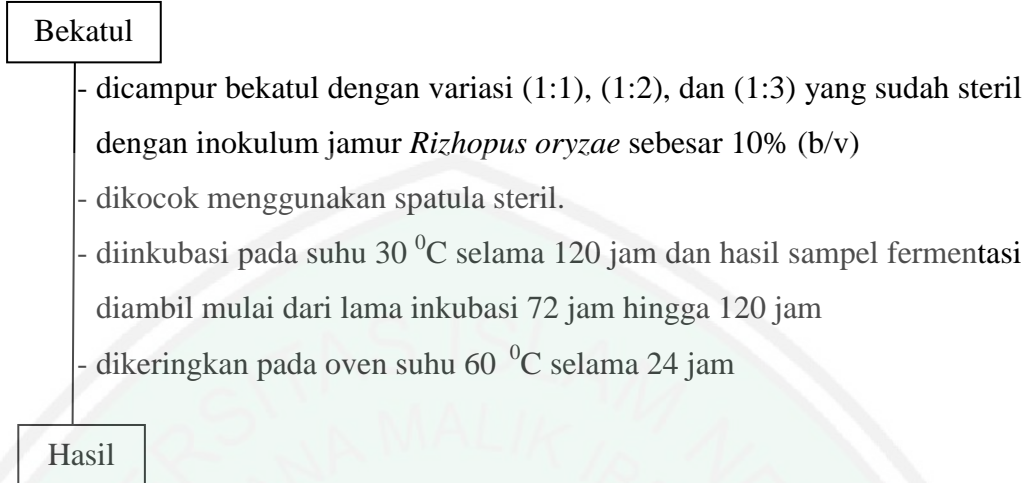


6. Pembuatan Inokulum Jamur

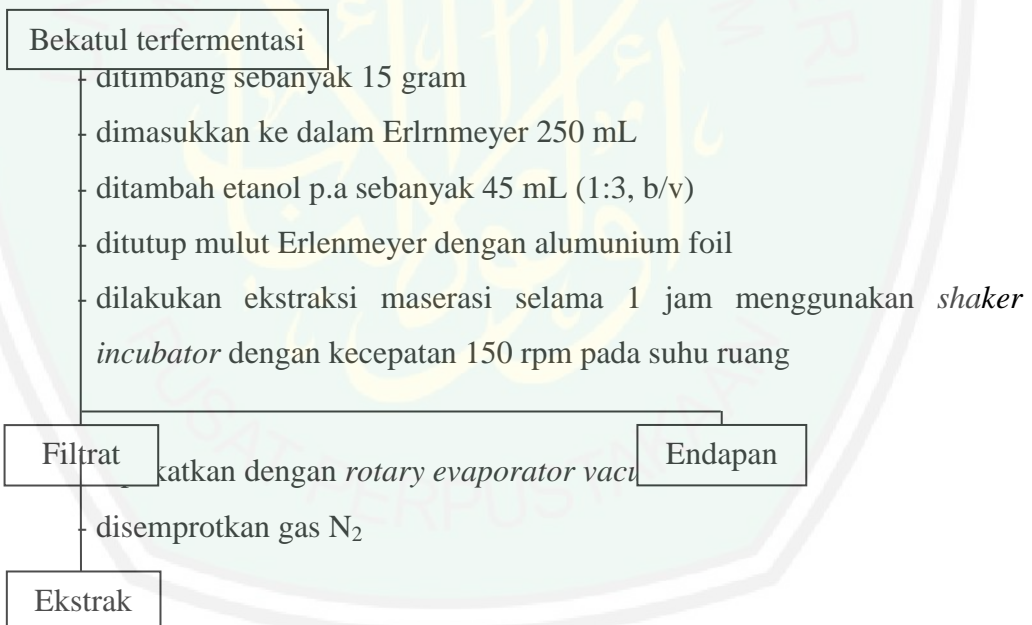


7. Fermentasi Bekatul dengan Variasi Lama Fermentasi dan Konsentrasi

Substrat



8. Ekstraksi Bekatul Terfermentasi



9. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil)

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Metanol

- dimasukkan methanol sebanyak 2 ml kedalam kuvet
- ditambahkan larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 2 ml
- ditambah dengan methanol sampai dengan volume 10 mL.
- diukur panjang gelombang maksimumnya dengan spectrometer UV-Vis pada panjang gelombang 500-600 nm

Hasil

b. Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel

Hasil

- dilarutkan sampel ekstrak 100 mg dalam 10 ml metanol
- diambil 2 ml darinya dan ditambahkan ke 2 ml DPPH 0,5 mM dalam metanol
- ditambahkan methanol hingga volume 10 mL.
- diinkubasi selama 30 menit dalam suhu kamar
- disiapkan 2 ml larutan DPPH ditambah 2 ml methanol dan ditambahkan methanol hingga volume menjadi 10 mL.
- digunakan juga vitamin C sebagai kontrol kandungan antioksidan
- diukur absorbansi DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang yang diperoleh dari tahap sebelumnya
- dihitung persentase aktivitas antioksidan

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan

1.3.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM dalam 100 ml Metanol p.a

$$0,4 \text{ mM} = 0,4 \times 10^{-3}$$

$$\text{Mr DPPH} = 394,33 \text{ g/mol}$$

$$100 \text{ ml} = 0,1 \text{ L}$$

$$\text{Molar} = \frac{\text{mol}}{v} = \frac{\text{gram/Mr}}{v} = \frac{\text{gram} \times 1/\text{Mr}}{v} = \frac{\text{gram}}{v \times \text{Mr}}$$

$$\text{Gram (g)} = \text{Molar} \times \text{Mr} \times V$$

$$= 0,4 \times 10^{-3} \text{ M} \times 394,33 \text{ g/mol} \times 0,1 \text{ L}$$

$$= 15,7732 \times 10^{-3} \text{ g}$$

$$\text{mg} = 15,7732 \times 10^{-3} \text{ g} \times 1000$$

$$= 15,7732 \text{ mg}$$

Jadi, untuk membuat larutan DPPH 0,4 mM adalah ditimbang sebanyak 15,7732 mg serbuk DPPH menggunakan gelas arloji dan neraca analitik. Kemudian, dimasukkan ke dalam *beaker glass* 100 mL untuk dilarutkan dengan 50 ml metanol terlebih dahulu dan diaduk hingga larut. Setelah larut, larutan dipindahkan ke labu ukur 100 ml dan ditandabatkan dengan metanol lalu dihomogenkan.

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen dan Aktivitas Antioksidan

L.4.1 Berat Ekstrak

Perlakuan	Berat sampel (gr)	Berat wadah (gr)	Berat wadah + ekstrak pekat (gr)	Berat ekstrak pekat (gr)
T ₁ S ₁ (K)	15,0000	9,5210	10,7101	1,1891
	(1) 15,0000	8,9860	10,6403	1,6543
T ₁ S ₁	(2) 15,0000	8,4210	9,7220	1,301
	(3) 15,0000	24,8317	26,0694	1,2377
T ₂ S ₁ (K)	15,0000	9,4110	10,5330	1,122
	(1) 15,0000	8,8230	9,9275	1,1045
T ₂ S ₁	(2) 15,0000	9,1730	10,2840	1,111
	(3) 15,0000	17,4483	19,1553	1,7052
T ₃ S ₁ (K)	15,0000	8,7320	9,8315	1,0995
	(1) 15,0000	8,5139	9,9886	1,4747
T ₃ S ₁	(2) 15,0000	9,1855	10,1730	0,9875
	(3) 15,0000	17,5013	18,6648	1,1635
T ₁ S ₂ (K)	15,0000	9,0012	10,2205	1,2193
	(1) 15,0000	9,7292	10,8612	1,132
T ₁ S ₂	(2) 15,0000	8,1345	9,4215	1,287
	(3) 15,0000	17,0034	18,8614	1,858
T ₂ S ₂ (K)	15,0000	9,7403	10,8305	1,0902
	(1) 15,0000	8,0920	9,1842	1,0922
T ₂ S ₂	(2) 15,0000	8,4125	9,5032	1,0907
	(3) 15,0000	17,6196	18,9512	1,3316
T ₃ S ₂ (K)	15,0000	9,5130	10,5410	1,028
	(1) 15,0000	8,3620	9,4595	1,0975
T ₃ S ₂	(2) 15,0000	8,8118	9,8612	1,0494
	(3) 15,0000	18,0833	19,3864	1,3031
T ₁ S ₃ (K)	15,0000	10,3115	11,5810	1,2695
	(1) 15,0000	22,3931	23,6783	1,2852
T ₁ S ₃	(2) 15,0000	10,1125	12,1013	1,9888
	(3) 15,0000	17,0151	19,2941	2,279
T ₂ S ₃ (K)	15,0000	8,6001	9,8521	1,252
	(1) 15,0000	8,8591	9,9756	1,1165
T ₂ S ₃	(2) 15,0000	9,3152	10,6013	1,2861
	(3) 15,0000	17,4647	19,0018	1,5371
T ₃ S ₃ (K)	15,0000	9,0015	10,1125	1,111
	(1) 15,0000	8,8770	9,9779	1,1009
T ₃ S ₃	(2) 15,0000	9,7412	10,7521	1,0111
	(3) 15,0000	17,8684	19,3431	1,4747

L.4.2 Perhitungan Randemen Ekstrak

Perlakuan	Randemen Ekstrak (%)	Rata-rata Randemen (%)
T ₁ S ₁ (K)	7,29 11,02	7,29
T ₁ S ₁	8,67 8,251	9,31
T ₂ S ₁ (K)	7,48 7,36	7,48
T ₂ S ₁	7,40 11,368	8,709
T ₃ S ₁ (K)	7,33 9,83	7,33
T ₃ S ₁	6,85 7,75	8,14
T ₁ S ₂ (K)	8,12 7,54	8,12
T ₁ S ₂	8,58 12,38	9,5
T ₂ S ₂ (K)	7,26 7,28	7,26
T ₂ S ₂	7,27 8,87	7,80
T ₃ S ₂ (K)	6,85 7,31	6,85
T ₃ S ₂	6,99 8,68	7,66
T ₁ S ₃ (K)	8,46 8,568	8,46
T ₁ S ₃	13,258 15,19	12,33
T ₂ S ₃ (K)	8,34 7,44	8,34
T ₂ S ₃	8,574 10,24	8,75
T ₃ S ₃ (K)	7,40 7,33	7,40
T ₃ S ₃	6,74 9,83	7,96

Keterangan :

$$\begin{aligned}
 \text{Randemen T}_1\text{S}_1 (\%) &= \left[\frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \right] \times 100\% \\
 &= \left[\frac{1,6543 \text{ gram}}{15 \text{ gram}} \right] \times 100\% \\
 &= 11,02\%
 \end{aligned}$$

L.4.2 Persen (%) Aktivitas Antioksidan

Perlakuan	Ulangan	Absorbansi Sampel	Abrosbansi Kontrol
T ₁ S ₁ (K)	-	0,1668	0,8656
	1	0,1256	0,8637
T ₁ S ₁	2	0,1529	0,9850
	3	0,1299	0,9680
	-	0,1565	0,8669
T ₂ S ₁ (K)	-	0,1565	0,8669
T ₂ S ₁	1	0,1182	0,8667
	2	0,1740	0,9832
	3	0,1282	0,9659
T ₃ S ₁ (K)	-	0,2416	0,8270
	1	0,0776	0,8232
T ₃ S ₁	2	0,2030	0,9737
	3	0,1582	0,9642
	-	0,1697	0,8672
T ₁ S ₂ (K)	-	0,1697	0,8672
T ₁ S ₂	1	0,1105	0,8673
	2	0,1651	1,0024
	3	0,2148	0,9687
T ₂ S ₂ (K)	-	0,2056	0,8711
	1	0,1269	0,8680
T ₂ S ₂	2	0,2028	0,9576
	3	0,2208	0,9740
	-	0,2689	0,8194
T ₃ S ₂ (K)	-	0,2689	0,8194
T ₃ S ₂	1	0,2783	0,8204
	2	0,2145	0,9734
	3	0,1534	0,9604
T ₁ S ₃ (K)	-	0,1501	0,8717
	1	0,1640	0,8693
T ₁ S ₃	2	0,1740	0,9805
	3	0,1636	0,9642
	-	0,1398	0,8673
T ₂ S ₃ (K)	-	0,1398	0,8673
T ₂ S ₃	1	0,0851	0,8701
	2	0,1754	0,9730
	3	0,1590	0,9642
T ₃ S ₃ (K)	-	0,2425	0,8227
	1	0,2570	0,8197
T ₃ S ₃	2	0,1908	0,9741
	3	0,1422	0,9578

Keterangan :

T₁S₁ = Lama fermentasi 3 hari, substrat (1:1)

T₂S₁ = Lama fermentasi 4 hari, substrat (1:1)

T₃S₁ = Lama fermentasi 5 hari, substrat (1:1)

T₁S₂ = Lama fermentasi 3 hari, substrat (1:2)

T₂S₂ = Lama fermentasi 4 hari, substrat (1:2)

T₃S₂ = Lama fermentasi 5 hari, substrat (1:2)

T₁S₃ = Lama fermentasi 3 hari, substrat (1:3)

T₂S₃ = Lama fermentasi 4 hari, substrat (1:3)

T₃S₃ = Lama fermentasi 5 hari, substrat (1:3)

$$\begin{aligned} \text{Aktivitas Antioksidan T}_1\text{S}_1 \text{ (K) (\%)} &= \left[\frac{\text{Serapan kontrol} - \text{Serapan sampel}}{\text{Serapan kontrol}} \right] \times 100\% \\ &= \left[\frac{0,9913 - 0,1306}{0,9913} \right] \times 100\% \\ &= 86,83 \% \end{aligned}$$

Hasil absorbansi aktivitas antioksidan yang didapat, kemudian dapat dihitung dengan rumus diatas. Sehingga dengan perhitungan diatas diperoleh data nilai aktivitas antioksidan bekatul dalam bentuk persen (%), seperti yang tertera dalam data berikut ini :

Perlakuan	Aktivitas Antioksidan (%)	Rata-rata Aktivitas Antioksidan (%)	Persen Peningkatan Aktivitas Antioksidan (%)
T ₁ S ₁ (K)	80,73	80,73	
T ₁ S ₁	(1) 85,41 (2) 84,20 (3) 86,58	85,39	4,66
T ₂ S ₁ (K)	81,94	81,94	
T ₂ S ₁	(1) 86,36 (2) 88,00 (3) 86,67	87,02	5,08
T ₃ S ₁ (K)	70,7	70,7	
T ₃ S ₁	(1) 90,57 (2) 79,15 (3) 83,59	84,43	13,37
T ₁ S ₂ (K)	80,43	80,43	
T ₁ S ₂	(1) 87,26 (2) 83,52 (3) 77,82	82,86	2,43
T ₂ S ₂ (K)	76,39	76,39	
T ₂ S ₂	(1) 85,38 (2) 78,82 (3) 77,33	80,51	4,12
T ₃ S ₂ (K)	67,18	67,18	
T ₃ S ₂	(1) 66,07 (2) 77,96 (3) 84,02	76,01	8,83
T ₁ S ₃ (K)	82,78	82,78	
T ₁ S ₃	(1) 81,13 (2) 81,13 (3) 83,05	82,86	0,08
T ₂ S ₃ (K)	83,88	83,88	
T ₂ S ₃	(1) 90,21 (2) 81,97 (3) 83,50	85,22	1,34
T ₃ S ₃ (K)	70,52	70,52	
T ₃ S ₃	(1) 68,64 (2) 80,41 (3) 85,15	78,06	7,54

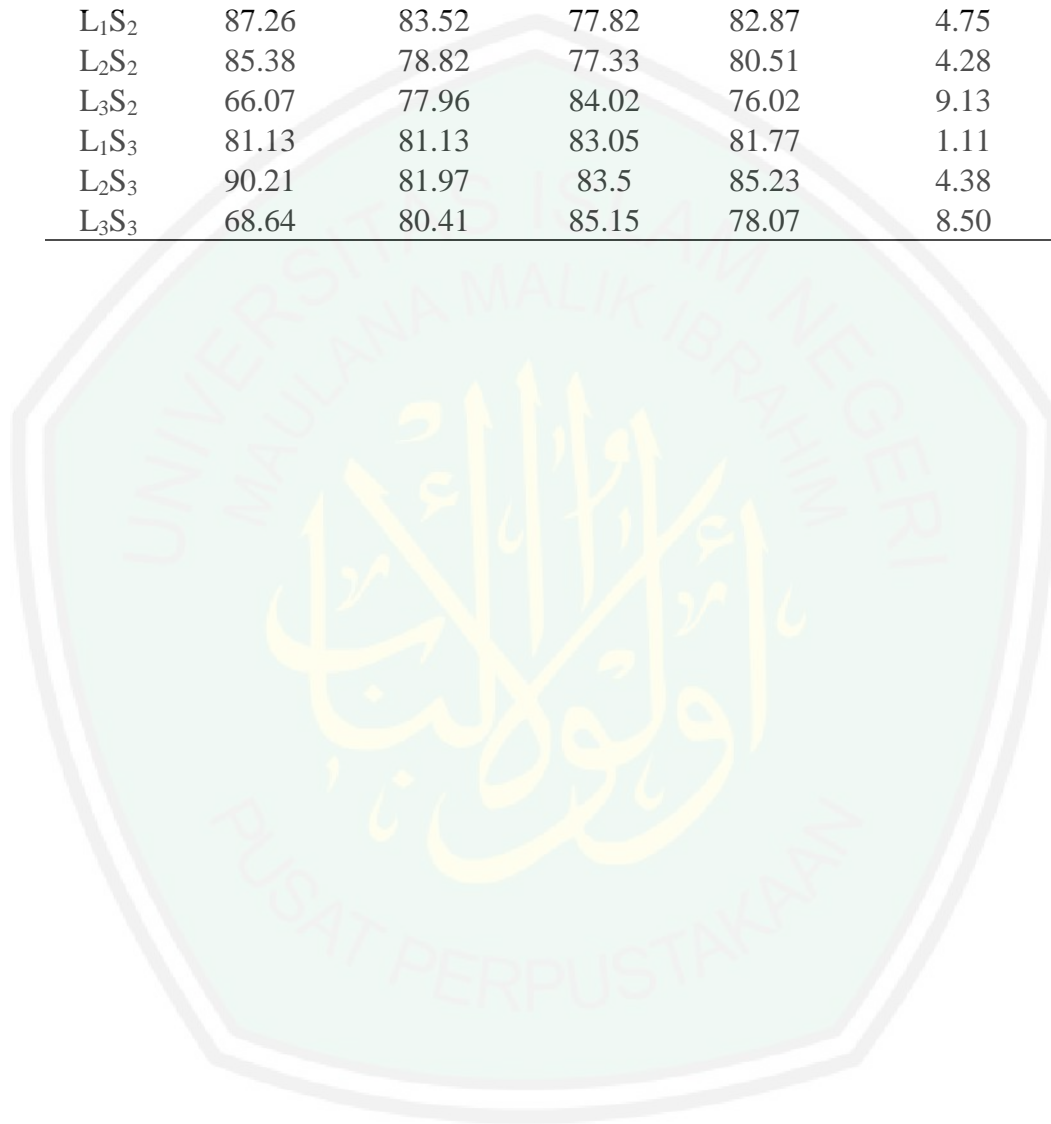
Perlakuan	Absorbansi Sampel	Abrosbansi Kontrol
Control non fermentasi tanpa perendaman	(1) 0,2312	0,8830
	(2) 0,2402	0,8841

Perlakuan	Aktivitas Antioksidan (%)	Rata-rata Aktivitas Antioksidan (%)
Control non fermentasi tanpa perendaman	(1) 70,41	71,61
	(2) 72,81	



Lampiran 5. Nilai Standar Deviasi Aktivitas Antioksidan Bekatul

Sampel	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata	Standar Deviasi
L ₁ S ₁	85.41	84.2	86.58	85.40	1.19
L ₂ S ₁	86.36	88	86.67	87.01	0.87
L ₃ S ₁	90.57	79.15	83.59	84.44	5.76
L ₁ S ₂	87.26	83.52	77.82	82.87	4.75
L ₂ S ₂	85.38	78.82	77.33	80.51	4.28
L ₃ S ₂	66.07	77.96	84.02	76.02	9.13
L ₁ S ₃	81.13	81.13	83.05	81.77	1.11
L ₂ S ₃	90.21	81.97	83.5	85.23	4.38
L ₃ S ₃	68.64	80.41	85.15	78.07	8.50



Lampiran 6. Data Analisis SPSS

1. Analisis SPSS Rendemen Ekstrak Bekatul Terfermentasi

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
Waktu	3	9
	4	9
	5	9
Substrat	1:1	9
	1:2	9
	1:3	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable:aktivitas

waktu	substrat	Mean	Std. Deviation	N
3	1:1	85.3967	1.19006	3
	1:2	82.8667	4.75379	3
	1:3	81.7700	1.10851	3
	Total	83.3444	2.98420	9
4	1:1	87.0100	.87126	3
	1:2	80.5100	4.28284	3
	1:3	85.1667	4.45055	3
	Total	84.2289	4.25956	9
5	1:1	84.4367	5.75689	3
	1:2	76.0167	9.13143	3
	1:3	78.0667	8.50079	3
	Total	79.5067	7.85217	9
Total	1:1	85.6144	3.17767	9
	1:2	79.7978	6.33754	9
	1:3	81.6678	5.72562	9
	Total	82.3600	5.62644	27

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:aktivitas

F	df1	df2	Sig.
2.677	8	18	.039

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + waktu + substrat + waktu * substrat

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:aktivitas

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	317.195 ^a	8	39.649	1.411	.258
Intercept	183145.579	1	183145.579	6.517E3	.000
Waktu	113.430	2	56.715	2.018	.162
substrat	158.720	2	79.360	2.824	.086
waktu * substrat	45.044	4	11.261	.401	.806
Error	505.882	18	28.105		
Total	183968.656	27			
Corrected Total	823.077	26			

a. R Squared = ,385 (Adjusted R Squared = ,112)

Estimated Marginal Means

1. waktu

Dependent Variable:aktivitas

Waktu	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
3	83.344	1.767	79.632	87.057
4	84.229	1.767	80.516	87.941
5	79.507	1.767	75.794	83.219

2. substrat

Dependent Variable:aktivitas

substrat	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1:1	85.614	1.767	81.902	89.327
1:2	79.798	1.767	76.085	83.510
1:3	81.668	1.767	77.955	85.380

3. waktu * substrat

Dependent Variable:aktivitas

Waktu	substrat	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
3	1:1	85.397	3.061	78.966	91.827
	1:2	82.867	3.061	76.436	89.297
	1:3	81.770	3.061	75.340	88.200
4	1:1	87.010	3.061	80.580	93.440
	1:2	80.510	3.061	74.080	86.940
	1:3	85.167	3.061	78.736	91.597
5	1:1	84.437	3.061	78.006	90.867
	1:2	76.017	3.061	69.586	82.447
	1:3	78.067	3.061	71.636	84.497

Post Hoc Tests

waktu

Multiple Comparisons

aktivitas

Tukey HSD

(I) waktu	(J) waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
3	4	-.8844	2.49909	.934	-7.2625	5.4936
	5	3.8378	2.49909	.298	-2.5403	10.2159
4	3	.8844	2.49909	.934	-5.4936	7.2625
	5	4.7222	2.49909	.170	-1.6559	11.1003
5	3	-3.8378	2.49909	.298	-10.2159	2.5403
	4	-4.7222	2.49909	.170	-11.1003	1.6559

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 28,105.

Homogeneous Subset

Aktivitas

Tukey HSD

Waktu	N	Subset
		1
5	9	79.5067
3	9	83.3444
4	9	84.2289
Sig.		.170

Means for groups in
homogeneous subsets are
displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean
Square(Error) = 28,105.

Profile Plots

substrat

Multiple Comparisons

Aktivitas

Tukey HSD

(I) substrat	(J) substrat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1:1	1:2	5.8167	2.49909	.077	-.5614	12.1948
	1:3	3.9467	2.49909	.280	-2.4314	10.3248
1:2	1:1	-5.8167	2.49909	.077	-12.1948	.5614
	1:3	-1.8700	2.49909	.738	-8.2481	4.5081
1:3	1:1	-3.9467	2.49909	.280	-10.3248	2.4314
	1:2	1.8700	2.49909	.738	-4.5081	8.2481

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 28,105.

Homogeneous Subsets

aktivitas

Tukey HSD

substrat	N	Subset
		1
1:2	9	79.7978
1:3	9	81.6678
1:1	9	85.6144
Sig.		.077

Means for groups in
homogeneous subsets are
displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean
Square(Error) = 28,105.

2. Data Analisis SPSS Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bekatul Terfermentasi

Univariate Analysis of Variance**Between-Subjects Factors**

		N
waktu	3	9
	4	9
	5	9
substrat	1:1	9
	1:2	9
	1:3	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable:rendemen

waktu	substrat	Mean	Std. Deviation	N
3	1:1	9.3137	1.49250	3
	1:2	9.5000	2.54778	3
	1:3	12.3387	3.40538	3
	Total	10.3841	2.68966	9
4	1:1	8.7093	2.30256	3
	1:2	7.8067	.92089	3
	1:3	8.7513	1.40840	3
	Total	8.4224	1.49899	9
5	1:1	8.1433	1.52844	3
	1:2	7.6600	.89772	3
	1:3	7.9667	1.64044	3
	Total	7.9233	1.22602	9
Total	1:1	8.7221	1.65024	9
	1:2	8.3222	1.67946	9
	1:3	9.6856	2.85354	9
	Total	8.9100	2.13337	27

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:rendemen

F	df1	df2	Sig.
1.817	8	18	.139

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + waktu + substrat + waktu * substrat

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:rendemen

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	49.769 ^a	8	6.221	1.633	.184
Intercept	2143.461	1	2143.461	562.722	.000
Waktu	30.458	2	15.229	3.998	.037
Substrat	8.840	2	4.420	1.160	.336
waktu * substrat	10.471	4	2.618	.687	.610
Error	68.564	18	3.809		
Total	2261.794	27			
Corrected Total	118.333	26			

a. R Squared = ,421 (Adjusted R Squared = ,163)

Post Hoc Tests**substrat****Multiple Comparisons**

Rendemen

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1:1	1:2	.3999	.92004	.902	-1.9482	2.7480
	1:3	-.9634	.92004	.558	-3.3115	1.3846
1:2	1:1	-.3999	.92004	.902	-2.7480	1.9482
	1:3	-1.3633	.92004	.323	-3.7114	.9847
1:3	1:1	.9634	.92004	.558	-1.3846	3.3115

1:2	1.3633	.92004	.323	-.9847	3.7114
-----	--------	--------	------	--------	--------

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3,809.

Estimated Marginal Means

1. waktu

Dependent Variable:rendemen

waktu	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
3	10.384	.651	9.017	11.751
4	8.422	.651	7.056	9.789
5	7.923	.651	6.557	9.290

2. substrat

Dependent Variable:rendemen

substrat	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1:1	8.722	.651	7.355	10.089
1:2	8.322	.651	6.955	9.689
1:3	9.686	.651	8.319	11.052

3. waktu * substrat

Dependent Variable:rendemen

waktu	substrat	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
3	1:1	9.314	1.127	6.946	11.681
	1:2	9.500	1.127	7.133	11.867
	1:3	12.339	1.127	9.971	14.706
4	1:1	8.709	1.127	6.342	11.077
	1:2	7.807	1.127	5.439	10.174
	1:3	8.751	1.127	6.384	11.119
5	1:1	8.143	1.127	5.776	10.511
	1:2	7.660	1.127	5.293	10.027

3. waktu * substrat

Dependent Variable:rendemen

waktu	substrat	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
3	1:1	9.314	1.127	6.946	11.681
	1:2	9.500	1.127	7.133	11.867
	1:3	12.339	1.127	9.971	14.706
4	1:1	8.709	1.127	6.342	11.077
	1:2	7.807	1.127	5.439	10.174
	1:3	8.751	1.127	6.384	11.119
5	1:1	8.143	1.127	5.776	10.511
	1:2	7.660	1.127	5.293	10.027
	1:3	7.967	1.127	5.599	10.334

substrat

Multiple Comparisons

Rendemen

Tukey HSD

(I) substrat	(J) substrat	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1:1	1:2	.3999	.92004	.902	-1.9482	2.7480
	1:3	-.9634	.92004	.558	-3.3115	1.3846
1:2	1:1	-.3999	.92004	.902	-2.7480	1.9482
	1:3	-1.3633	.92004	.323	-3.7114	.9847
1:3	1:1	.9634	.92004	.558	-1.3846	3.3115
	1:2	1.3633	.92004	.323	-.9847	3.7114

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 3,809.

Homogeneous Subsets

rendemen

Tukey HSD

substrat	N	Subset
		1
1:2	9	8.3222
1:1	9	8.7221
1:3	9	9.6856
Sig.		.323

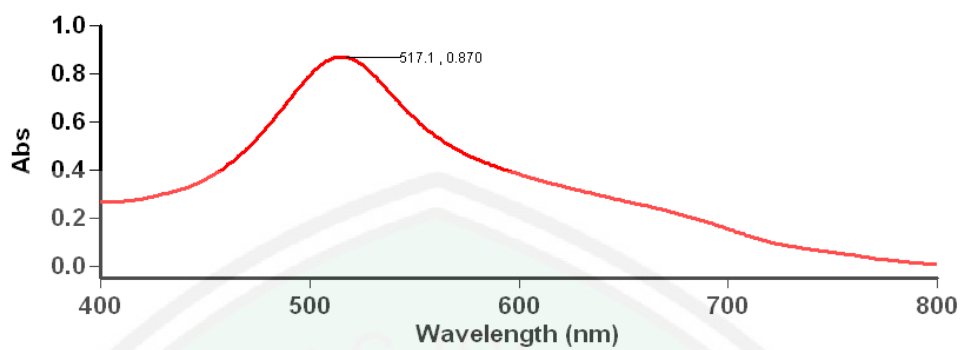
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean

Square(Error) = 3,809.

Lampiran 7. Panjang Gelombang Maksimum DPPH



Sample Name: DPPH

Collection Time 2/21/2018 12:57:12 PM
Peak Table
Peak Style Peaks
Peak Threshold 0.0100
Range 800.0nm to 400.0nm

Wavelength (nm)	Abs
517.1	0.870

Lampiran 8. Data Absorbansi Antioksidan Absorbansi Bekatul Terfermentasi 1

Tanggal Analisis : 21 Februari 2018

Advanced Reads Report

Report time 2/21/2018 1:03:07 PM
 Method
 Batch name D:\Zakiyatul\Absorbansi DPPH Sampel Bekatul
 (21-02-2018).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 517.1
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1310)	517.1

Analysis

Collection time 2/21/2018 1:03:07 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.8658 0.8645 0.8665
	0.8656		0.0010	0.12	
1:1 3 hari K					0.1664 0.1677 0.1664
	0.1668		0.0008	0.46	
Kontrol					0.8631 0.8637 0.8642
	0.8637		0.0006	0.07	
1:1 3 hari					0.1256 0.1258 0.1254
	0.1256		0.0002	0.18	
Kontrol					0.8676 0.8675 0.8665
	0.8672		0.0006	0.07	
1:2 3 hari K					0.1697 0.1698 0.1695
	0.1697		0.0002	0.10	
Kontrol					0.8676 0.8672 0.8669
	0.8673		0.0003	0.04	
1:2 3 hari					0.1106 0.1104 0.1106
	0.1105		0.0001	0.10	
Kontrol					0.8715 0.8717 0.8719
	0.8717		0.0002	0.02	
1:3 3 hari K					0.1501

	0.1501	0.0001	0.09	0.1500 0.1503
Kontrol				0.8686 0.8697 0.8697
1:3 3 hari	0.8693	0.0007	0.07	0.1640 0.1642 0.1637
Kontrol	0.1640	0.0002	0.15	0.8668 0.8672 0.8667
1:1 4 hari K	0.8669	0.0002	0.03	0.1564 0.1567 0.1564
Kontrol	0.1565	0.0002	0.12	0.8666 0.8668 0.8666
1:1 4 hari	0.8667	0.0001	0.01	0.1177 0.1188 0.1181
Kontrol	0.1182	0.0005	0.46	0.8723 0.8703 0.8707
1:2 4 hari K	0.8711	0.0011	0.12	0.2056 0.2056 0.2057
Kontrol	0.2056	0.0000	0.02	0.8684 0.8680 0.8676
1:2 4 hari	0.8680	0.0004	0.05	0.1270 0.1266 0.1271
Kontrol	0.1269	0.0003	0.22	0.8676 0.8672 0.8669
1:3 4 hari K	0.8673	0.0003	0.04	0.1400 0.1399 0.1394
Kontrol	0.1398	0.0003	0.24	0.8702 0.8693 0.8708
1:3 4 hari	0.8701	0.0008	0.09	0.0849 0.0853 0.0851
Kontrol	0.0851	0.0002	0.24	0.8267 0.8270 0.8274
1:1 5 hari K	0.8270	0.0004	0.04	0.2424 0.2416 0.2407
Kontrol	0.2416	0.0009	0.35	0.8233 0.8235 0.8229
1:1 5 hari	0.8232	0.0003	0.04	0.0778 0.0774 0.0776
	0.0776	0.0002	0.27	

Kontrol				0.8194
				0.8192
	0.8194	0.0002	0.03	0.8196
1:2 5 hari K				0.2687
				0.2691
	0.2689	0.0002	0.08	0.2690
Kontrol				0.8200
				0.8221
	0.8204	0.0015	0.18	0.8192
1:2 5 hari				0.2782
				0.2782
	0.2783	0.0002	0.07	0.2785
Kontrol				0.8222
				0.8235
	0.8227	0.0007	0.08	0.8225
1:3 5 hari K				0.2425
				0.2425
	0.2425	0.0009	0.35	0.2428
Kontrol				0.8193
				0.8200
	0.8197	0.0004	0.05	0.8198
1:3 5 hari				0.2572
				0.2568
	0.2570	0.0002	0.08	0.2570
Kontrol				0.8183
				0.8191
	0.8190	0.0007	0.09	0.8197
Vitamin C				0.0731
				0.0727
	0.0729	0.0002	0.33	0.0727

Absorbansi Bekatul Terfermentasi 2

Tanggal Analisis : 22 Februari 2018

Advanced Reads Report

Report time 2/22/2018 1:32:04 PM
 Method
 Batch name D:\Zakiyatul\Absorbansi DPPH Sampel Bekatul 2
 (22-02-2018).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 517.1
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1329)	517.1

Analysis

Collection time 2/22/2018 1:32:05 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.9852 0.9852 0.9846
1:1 3 hari					0.1525 0.1527 0.1535
Kontrol					1.0028 1.0028 1.0015
1:2 3 hari					0.1655 0.1653 0.1644
Kontrol					0.9798 0.9807 0.9809
1:3 3 hari					0.1737 0.1741 0.1741
Kontrol					0.9834 0.9831 0.9832
1:1 4 hari					0.1737 0.1741 0.1741
Kontrol					0.9585 0.9572 0.9572
1:2 4 hari					0.2025 0.2027

	0.2028	0.0004	0.19	0.2032
Kontrol				0.9741 0.9724 0.9724
1:3 4 hari	0.9730	0.0010	0.10	0.1758 0.1751 0.1754
Kontrol	0.1754	0.0003	0.19	0.9737 0.9733 0.9742
1:1 5 hari	0.9737	0.0004	0.04	0.2027 0.2029 0.2034
Kontrol	0.2030	0.0003	0.17	0.9730 0.9732 0.9740
1:2 5 hari	0.9734	0.0005	0.05	0.2143 0.2145 0.2147
Kontrol	0.2145	0.0002	0.09	0.9735 0.9746 0.9741
1:3 5 hari	0.9741	0.0005	0.05	0.1904 0.1910 0.1910
	0.1908	0.0004	0.20	

Absorbansi Bekatul Terfermentasi 3

Tanggal Analisis : 26 Februari 2018

Advanced Reads Report

Report time 2/26/2018 1:12:06 PM
 Method
 Batch name D:\Zakiyatul\Absorbansi DPPH Sampel Bekatul 3
 (26-02-2018).BAB
 Application Advanced Reads 3.00(339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 517.1
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1322)	517.1







Analysis

Collection time 2/26/2018 1:12:08 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.9681 0.9685 0.9674
	0.9680		0.0006	0.06	
1:1 3 hari					0.1295 0.1293 0.1309
	0.1299		0.0009	0.67	
Kontrol					0.9691 0.9686 0.9683
	0.9687		0.0004	0.04	
1:2 3 hari					0.2141 0.2147 0.2157
	0.2148		0.0008	0.37	
Kontrol					0.9642 0.9635 0.9647
	0.9642		0.0006	0.06	
1:3 3 hari					0.1634 0.1637 0.1635
	0.1636		0.0002	0.09	
Kontrol					0.9653 0.9660 0.9662
	0.9659		0.0005	0.05	
1:1 4 hari					0.1278 0.1282 0.1286
	0.1282		0.0004	0.32	

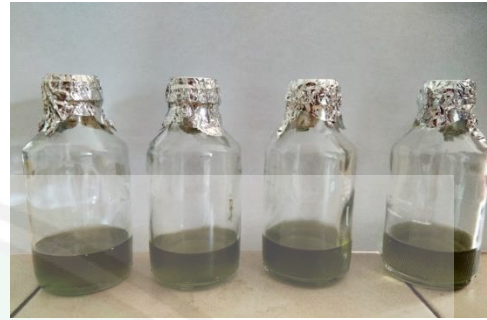
Kontrol				0.9734 0.9744 0.9741
	0.9740	0.0005	0.05	
1:2 4 hari				0.2205 0.2199 0.2220
	0.2208	0.0011	0.49	
Kontrol				0.9642 0.9635 0.9647
	0.9642	0.0006	0.06	
1:3 4 hari				0.1595 0.1584 0.1590
	0.1590	0.0006	0.36	
Kontrol				0.9636 0.9640 0.9651
	0.9642	0.0008	0.08	
1:1 5 hari				0.1581 0.1580 0.1584
	0.1582	0.0002	0.15	
Kontrol				0.9603 0.9601 0.9609
	0.9604	0.0004	0.04	
1:2 5 hari				0.1531 0.1538 0.1532
	0.1534	0.0004	0.23	
Kontrol				0.9581 0.9572 0.9581
	0.9578	0.0005	0.05	
1:3 5 hari				0.1422 0.1422 0.1422
	0.1422	0.0000	0.03	

Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

 <p>Preparasi media bekatul sebelum dilakukan proses fermentasi</p>	 <p>Regenerasi jamur <i>Rizhopus oryzae</i> dalam media padat PDA</p>
 <p>Proses fermentasi bekatul</p>	 <p>Hasil proses fermentasi sebelum pengeringan</p>
 <p>Hasil pengeringan bekatul terfermentasi</p>	 <p>Proses ekstraksi maserasi</p>



Penyaringan bekatul terfermentasi dari filtratnya



Filtrat hasil penyaringan proses ekstraksi



Ekstrak pekat bekatul terfermentasi



Hasil pengenceran ekstrak pekat bekatul



Proses inkubasi sampel



Sampel setelah diinkubasi