

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BEKATUL
TERFERMENTASI OLEH *Rhizopus oryzae***

SKRIPSI

**Oleh :
HILMIYAH FEBRIANA HAKI
NIM. 17630017**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BEKATUL
TERFERMENTASI OLEH *Rhizopus oryzae***

SKRIPSI

**Oleh:
HILMIYAH FEBRIANA HAKI
NIM. 17630017**

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

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BEKATUL
TERFERMENTASI OLEH *Rhizopus oryzae***

SKRIPSI

**Oleh:
HILMIYAH FEBRIANA HAKI
NIM. 17630017**

**Telah Diperiksa dan disetujui untuk Diuji
Tanggal 29 Desember 2021**

Pembimbing I



**Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.
NIP. 19750410 200501 2 009**

Pembimbing II



**Ahmad Hanapi, M. Sc
NIDT. 1985122520160801 1 069**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



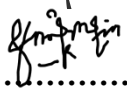
**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 1 010**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK BEKATUL
TERFERMENTASI OLEH *Rhizopus oryzae***

SKRIPSI

**Oleh:
HILMIYAH FEBRIANA HAKI
NIM. 17630017**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelas Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 29 Desember 2021**

Penguji Utama	: Suci Amalia, M.Sc	 (.....)
	NIP. 19760611 200501 2 006	
Ketua Penguji	: Anik Maunatin, M.P.	 (.....)
	NIPT. 20142011409	
Sekretaris Penguji	: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P.	 (.....)
	NIP. 19750410 200501 2 009	
Anggota Penguji	: Ahmad Hanapi, M. Sc	 (.....)
	NIDT. 1985122520160801 1 069	

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 1 010**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Hilmiyah Febriana Haki

NIM : 17630017

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi oleh
Rhizopus oryzae

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya, 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, 21 Desember 2021

Yang membuat pernyataan



Hilmiyah Febriana Haki
NIM. 17630017

HALAMAN PERSEMBAHAN

Assalamualaikum wr. wb.

Alhamdulillah robbil ‘alamin dengan mengucapkan rasa syukur kepada Allah SWT. Saya persembahkan tugas akhir ini untuk:

1. Kedua orang tua saya, Bapak Syaiful Haki dan Ibu Wiwik Wiku Kawitarini yang telah membesarkan, membimbing, mendampingi, mengarahkan dan menerima baik kekurangan maupun kelebihan saya, mencurahkan segala restu, kasih sayang, doa, perhatian dan segalanya yang tidak pernah terputus untuk saya hingga akhirnya dapat menyelesaikan studi di program studi kimia ini dengan baik dan tanpa kekurangan satu apapun.
2. Bapak Ibu Dosen Program Studi Kimia yang telah membimbing, mengarahkan, memberikan ilmu dan pengalaman tanpa pamrih selama perkuliahan.
3. Semua laboran yang telah membantu, meluangkan waktunya serta ilmunya dalam proses penelitian di laboratorium.
4. Keluarga besar saya yang tidak pernah lelah mendoakan, mendampingi, menemani, memberikan semangat dan dukungan untuk saya sampai selesainya tugas akhir ini.
5. Calon suami saya, Rahadian Abdul Khoir yang tidak pernah lelah menyemangati, memantau dan membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini.
6. Sahabat saya, Imroatul Islami, Haya Nur Syafaatin, Rissa Aulia, Nanda, Roisatul Fitri yang tidak pernah lelah membantu dan memberikan saran, masukan, kritik serta motivasi dalam kelancaran tugas akhir ini.

Semoga kebaikan, kesehatan, keselamatan serta keberkahan hidup selalu berpihak kepada kita semua, aamiin.

Wassalamualaikum wr. wb.

MOTTO

Don't be too careful with someone's words, sometimes humans have a mouth but
don't necessarily have a mind.

Albert Einstein

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya kepada hamba-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bekatul Terfermentasi oleh *Rhizopus oryzae*” walaupun masih jauh dari kesempurnaan. Shalawat dan salam tak lupa penulis sampaikan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW serta keluarga, dan sahabat yang telah membimbing kita menuju jalan yang lurus dan diridhoi Allah SWT.

Laporan hasil penelitian ini berisi tentang pembahasan hasil penelitian yang telah dilakukan.. Seiring dengan terselesainya penulisan laporan hasil penelitian ini, penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini kepada:

1. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S. Si, M.P selaku dosen konsultan yang telah banyak memberikan masukan-masukan baik mengenai penelitian, penulisan laporan, ataupun mengenai kehidupan.
3. Seluruh dosen dan laboran Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah membagi ilmu, pengetahuan, pengalaman, dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
4. Orang tua saya, Bapak Syaiful Haki dan Ibu Wiwik Wiku Kawitarini beserta saudara yang selalu mendoakan, memberi nasehat, serta memberikan motivasi.
5. Keluarga besar saya yang tidak pernah lelah mendoakan, mendampingi, menemani, memberikan semangat dan dukungan untuk saya sampai selesainya tugas akhir ini.
6. Calon suami saya, Rahadian Abdul Khoir yang tidak pernah lelah menyemangati, memantau dan membantu dalam penyelesaian tugas akhir ini.

7. Sahabat saya, Imroatul Islami, Haya Nur Syafaatin, Rissa Aulia, Nanda, Roisatul Fitri yang tidak pernah lelah membantu dan memberikan saran, masukan, kritik serta motivasi dalam kelancaran tugas akhir ini.
8. Seluruh rekan-rekan mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, khususnya angkatan 2017 yang telah memberikan semangat, motivasi, wawasan baru dan pengalaman yang tak pernah terlupakan.

Dengan segala keterbatasan dan kemampuan yang ada, penulis telah berusaha untuk menyelesaikan laporan hasil penelitian dengan sebaik-baiknya. Akhir kata semoga laporan hasil penelitian ini dapat diambil manfaatnya oleh semua pihak, khususnya bagi pembaca.

Malang, 21 Desember 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
نبذة مختصرة	xvi

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Batasan Masalah	4
1.5 Manfaat Penelitian	4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bekatul	5
2.2 Fermentasi	6
2.3 Jamur <i>Rizhopus oryzae</i>	9
2.4 Ekstraksi	11
2.5 Antioksidan	13
2.6 Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)	14
2.7 Manfaat Tumbuhan di dalam Al-Quran	15

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Pelaksanaan Penelitian	18
3.2 Alat dan Bahan	18
3.2.1 Alat	18
3.2.2 Bahan	18
3.3. Rancangan Penelitian	18
3.4 Tahapan Penelitian	19
3.5 Prosedur Penelitian	20
3.5.1 Sterilisasi Alat	20
3.5.2 Preparasi Sampel	20
3.5.3 Pembuatan Media	21
3.5.3.1 Pembuatan Media Potatu Dextrosa Agar	21
3.5.4 Regenerasi <i>Rhizopus oryzae</i>	21
3.5.5 Pembuatan Inokulum <i>Rhizopus oryzae</i>	21
3.5.6 Fermentasi Bekatul oleh <i>Rhizopus oryzae</i>	21

3.5.7 Ekstraksi Bekatul Terfermentasi oleh <i>Rhizopus oryzae</i> Metode Soxhlet	22
3.5.8 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil).....	22
3.6 Analisis Data	23

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel	24
4.2 Regenerasi Jamur <i>Rhizopus oryzae</i>	25
4.3. Pembuatan Inokulum Jamur	27
4.4 Fermentasi Bekatul oleh <i>Rhizopus oryzae</i>	28
4.5. Ekstraksi Bekatul Terfermentasi oleh <i>Rhizopus oryzae</i> Metode Soxhlet..	31
4.6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil)	33

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan.....	39
5.2 Saran	39

DAFTAR PUSTAKA	40
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	44
----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Nutrisi Bekatul (<i>edible grade</i>)	6
Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Fermentasi Variasi Suhu dan Inokulum	17
Tabel 4.2 Data SPSS aktivitas antioksidan minyak bekatul terfermentasi oleh <i>Rizhopus oryzae</i>	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bagian-bagian biji padi	5
Gambar 2.2 Rangkain <i>Ekstraktor Soxhlet</i>	11
Gambar 2.3 Reaksi Peredaman radikal bebas DPPH oleh antioksidan	12
Gambar 4.1 Preparasi sampel bekatul	21
Gambar 4.2 Pembuatan Media PDA	22
Gambar 4.3 Regenerasi jamur <i>Rhizopus oryzae</i>	23
Gambar 4.4 Inokulum jamur <i>Rhizopus oryzae</i>	24
Gambar 4.5 Reaksi Peredaman radikal bebas DPPH oleh antioksidan	29
Gambar 4.6 Grafik aktivitas antioksidan ekstrak bekatul yang terfermentasi oleh <i>Rizhopus oryzae</i>	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	37
Lampiran 2. Diagram Alir.....	39
Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan.....	43
Lampiran 4. Data SPSS.....	45
Lampiran 5. Panjang Gelombang.....	48
Lampiran 6. Data Absorbansi	49
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	57

ABSTRAK

Haki, Hilmiyah Febriana. 2021. **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bekatul Terfermentasi oleh *Rhizopus oryzae***. *Skripsi*. Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P., Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M.Sc.

Kata Kunci : *Bekatul, Fermentasi, Rhizopus oryzae, Ekstraksi, Soxhlet, DPPH, Aktivitas antioksidan.*

Bekatul merupakan salah satu hasil samping proses penggilingan padi. Kandungan senyawa aktif bekatul berupa senyawa fenolik bermanfaat untuk antioksidan, vitamin serta nutrisi yang diperlukan oleh tubuh manusia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi oleh *Rhizopus oryzae*. Bekatul difermentasi dengan variasi suhu yaitu suhu ruang, dan 37 °C dan variasi inokulum yaitu 3 mL, 7 mL. Bekatul hasil fermentasi di ekstraksi menggunakan metode soxhlet dengan pelarut etanol dengan perbandingan bekatul dan pelarut etanol (1:5). Langkah akhir aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai peningkatan aktivitas antioksidan terbaik pada suhu 37 °C dan inokulum 7 mL sebesar 88.528%.

ABSTRACT

Haki, Hilmiyah Febriana. 2021. **Antioxidant Activity Test of Fermented Rice Bran Extract by *Rhizopus oryzae***. Thesis. Chemistry Study Program, Science and Technology Faculty, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P., Supervisor II: Ahmad Hanapi, M.Sc.

Key words : *Rice bran, Fermentation, Rhizopus oryzae, Extraction, Soxhlet, DPPH, Antioxidant activity.*

Rice bran is a by-product of the rice milling process. The active compound content of bran in the form of phenolic compounds is useful for antioxidants, vitamins and nutrients needed by the human body. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of fermented bran extract by *Rhizopus oryzae*. Rice bran was fermented with variations in temperature, namely room temperature and 37 °C and variations in inoculum, namely 3 mL, 7 mL. The fermented bran was extracted using the Soxhlet method with ethanol as a solvent with a ratio of bran and ethanol solvent (1:5). The final step of antioxidant activity using the DPPH method with UV-Vis spectrophotometer. The results showed that the best increase in antioxidant activity at 37 °C and 7 mL inoculum was 88.528%.

نبذة مختصرة

حكي حلمية فبريانه. 2021. اختبار النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص نخالة الأرز المخمر بواسطة *Rhizopus oryzae*. مقال. برنامج دراسة الكيمياء بكلية العلوم والتكنولوجيا مولانا مالك إبراهيم الدولة الإسلامية جامعة مالانج. الإستشاري: د. Akyunul Jannah.

الكلمات الدالة : النخالة ، التخمر ، *Rhizopus oryzae* ، الاستخراج ، Soxhlet ، DPPH ، نشاط مضادات الأكسدة.

نخالة الأرز هي منتج ثانوي لعملية طحن الأرز. المحتوى المركب الفعال للنخالة على شكل مركبات فينولية مفيد لمضادات الأكسدة والفيتامينات والعناصر الغذائية التي يحتاجها جسم الإنسان. الهدف من هذه الدراسة هو تحديد النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص النخالة المخمر بواسطة *Rhizopus oryzae*. تم تخمير نخالة الأرز مع تغيرات في درجة الحرارة ، وهي درجة حرارة الغرفة و 37 درجة مئوية والتغيرات في اللقاح ، وهي 3 مل ، 7 مل. تم استخلاص النخالة المخمرة باستخدام طريقة Soxhlet مع الإيثانول كمذيب بنسبة النخالة ومذيب الإيثانول (1:5). الخطوة الأخيرة من نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة DPPH مع مقياس الطيف الضوئي Vis-UV. أظهرت النتائج أن أفضل زيادة في نشاط مضادات الأكسدة عند 37 درجة مئوية و 7 مل لقاح كانت 88.528٪.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Negara Indonesia merupakan salah satu Negara penghasil padi yang cukup besar. Menurut Badan Pusat Statistik (2020) produksi padi di Indonesia mencapai 54,65 juta ton. Penggilingan satu ton padi menghasilkan bekatul sebanyak 60-80 kg. Bekatul merupakan produk samping padi menjadi beras (Suryadinata, 2015). Cahyanie (2008) menyebutkan bahwa dalam proses penggilingan padi menjadi beras giling diperoleh hasil samping sebagai berikut: (1) sekam (15-20%), yaitu bagian pembungkus atau kulit luar, (2) bekatul (8-12%), yang merupakan kulit ari, dihasilkan dari proses penyosohan dan (3) menir (3), merupakan bagian beras yang hancur.

Bekatul mengandung gizi yang baik dan kaya akan senyawa bioaktif seperti *γ-oryzanol*, asam ferulat, asam kafeat, *tricine*, asam kumarat, asam fitat, *isoform* vitamin E (γ -tokoferol, γ -tokoferol, tokotrienol), fitosterol (γ -sitosterol, stigmasterol, kampesterol), dan karotenoid. Berbagai macam senyawa bioaktif bekatul sangat bermanfaat bagi kesehatan, misalnya sebagai antikanker, antiinflamasi serta sebagai sumber antioksidan (Faizah, 2020). Namun bekatul yang terbiasa digunakan sebagai bahan pakan ternak bias juga dimanfaatkan dengan meningkatkan kualitas ekonominya. Misalnya pemanfaatan bekatul sebagai antioksidan. Hal ini menunjukkan bahwa segala sesuatu yang tercipta memiliki manfaat tersendiri.

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمُوتِ وَالْأَرْضِ ۖ رَبَّنَا
مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا ۖ سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya: (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan 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 api neraka.

Surat Ali Imran ayat 191 menjelaskan bahwa semua yang ada di bumi ini merupakan ciptaan Allah dan semua yang diciptakan Nya tidak ada yang sia-sia. Semua itu hanya diketahui oleh orang-orang yang mau berfikir disetiap keadaan. Orang-orang yang terus berfikir dalam keadaan apapun akan dapat menemukan manfaat dari semua yang ada di langit dan di bumi. 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.

Salah satu cara untuk memaksimalkan penggunaan bekatul yang kaya akan manfaat yaitu dengan cara fermentasi oleh jamur. Metode fermentasi adalah seluruh perombakan senyawa organik yang dilibatkan oleh mikroorganisme (Seftian, 2012). Proses fermentasi bertujuan menurunkan kadar serat pada bekatul, karena selama proses fermentasi senyawa bioaktif seperti fenolik yang terikat pada serta-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, 2010).

Salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan dalam proses fermentasi adalah jamur. Mikroorganisme jamur telah dikenal karena kemampuannya menghasilkan enzim yang mendegradasi dinding sel tanaman dan dapat memperbaiki komposisi kimia dan bioaktivitas substrat yang digunakan (Razak, 2015).

Berdasarkan penelitian Razak (2015), menunjukkan bahwa hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak bekatul yaitu sebesar 60,52% dengan suhu 32°C dan penambahan inokulum sebesar 1% spora jamur (10^6 spora/ml), yang terfermentasi oleh jamur *Aspergillus oryzae* dan *Rhizhopus oryzae*. Ardiansyah (2020), menunjukkan hasil aktivitas antioksidan pada ekstrak bekatul sebesar 86,11% dengan suhu 30°C dan penambahan inokulum 15 % dengan spora jamur (10^6 spora/ml) . Hasil penelitian Fikriyah (2018) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan pada ekstrak bekatul sebesar 84,43% dengan suhu 30°C selama 120 jam dan penambahan inokulum 10% yang terfermentasi oleh jamur *Rhizhopus oryzae*.

Proses ekstraksi senyawa bioaktif pada ekstrak bekatul menggunakan dengan kepolaran yang sesuai dapat meningkatkan keefektifan mengekstrak senyawa-senyawa antioksidan lebih banyak. Ekstraksi bekatul dilakukan dengan metode soxhlet menggunakan pelarut etanol. Pelarut etanol dipilih dalam penelitian ini karena bersifat tidak toksik dan mencegah terjadinya hidrolisis (Widarta, 2014).

Dalam ekstrak bekatul memiliki kemampuan aktivitas antioksidan dikarenakan mengandung suatu senyawa seperti tokoferol, tokotrienol, oryzanol, dan fenolik. Senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi

(Zubaidah, 2010). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (Diphenylpicrylhydrazine). Memilih metode DPPH dalam uji aktivitas antioksidan karena mempunyai aktivitas kemampuan mereduksi yang digunakan untuk menentukan antioksidan total pada sampel (Maesaroh, 2018).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka perlu dilakukan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae* dengan variasi suhu dan inokulum. Sehingga hasil dari penelitian ini diharapkan bagi industri pangan dan farmasi.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*.

1.4 Batasan Masalah

1. Bekatul yang digunakan dari penggilingan padi kota Jember
2. Bekatul dari beras putih varietas Cibogo

1.5 Manfaat Penelitian

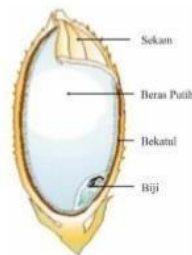
Masyarakat dapat memanfaatkan antioksidan yang terkandung dalam ekstrak bekatul yang berguna untuk menangkap radikal bebas dalam tubuh.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bekatul

Bekatul merupakan produk samping penggilingan padi menjadi beras (Suryadinata, 2015). Cahyanine (2008) menyebutkan bahwa dalam proses penggilingan padi menjadi beras giling diperoleh hasil samping sebagai berikut: (1) sekam (15-20%), yaitu bagian pembungkus atau kulit luar; (2) bekatul (8-12%), yang merupakan kulit ari, dihasilkan dari proses penyosohan dan (3) menir (3%), merupakan bagian beras yang hancur. Bagian-bagian padi dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Bagian-bagian biji padi (Tuarita, 2016)

Menurut Badan Pusat Statistik tahun 2020 produksi padi Indonesia mencapai 54,65 juta ton. Dalam penggilingan satu ton padi menghasilkan bekatul sebanyak 60-80 kg. Bekatul mengandung komponen-komponen antioksidan seperti oryzanol, tokoferol, phytosterol, polifenol, tokotrienol, dan squalene (Suryadinata, 2015). Hal ini dikarenakan bekatul memiliki kandungan nutrisi yang banyak dan bermanfaat bagi tubuh.

Tabel 2.1 Komposisi nutrisi bekatul (*edible grade*)

Nutrien	Kandungan (per 100 g)	Nutrien	Kandungan (per 100 g)
Analisis Proksimat		Vitamin	
Protein	16,5 g	Biotin	5,5 mg
Lemak	21,3 g	Kolin	226 mg
Mineral	8,3 g	Asam Folat	83 µg
Total Karbohidrat	49,4 g	Inositol	982 mg
Kompleks		Mineral	
Serat Pangan	25,3 g	Besi (Fe)	11,0 mg
Serat Larut Air	2,1 g	Seng (Zn)	6,4 mg
Pati	24,1 g	Mangan (Mg)	28,6 mg
Gula Sederhana	5,0 g	Iodin	67 µg
Tembaga (Cu)		Kalsium (Ca)	80 mg
Vitamin	0,6 mg	Fosfor (P)	2,1 g
Tiamin (B1)	3,0 mg	Kalium (K)	1,9 g
Riboflavin (B2)	0,4 mg	Natrium (Na)	20,3 g
Niasin (B3)	43 mg	Magnesium (Mg)	0,9 g
Asam Pantotenat (B5)	7 mg		
Piridoksin (B6)	0,49 mg		

Sumber: Tuarita (2016)

2.2 Fermentasi

Fermentasi berasal dari bahasa latin “Ferfere” yang berarti mendidihkan. Seiring perkembangan teknologi, definisi fermentasi meluas menjadi semua proses yang melibatkan mikroorganisme untuk menghasilkan suatu produk yang disebut metabolit primer dan sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan. Pada mulanya istilah fermentasi digunakan untuk menunjukan proses pengubahan glukosa menjadi etanol yang berlangsung secara anaerob. Namun, kemudian istilah fermentasi berkembang lagi menjadi seluruh perombakan senyawa organik yang dilakukan mikroorganisme (Jannah, 2010).

Fermentasi merupakan kegiatan mikrobial pada bahan pangan sehingga dihasilkan produk yang dikehendaki. Mikrobial yang umumnya terlibat dalam fermentasi adalah bakteri, khamir, dan kapang (Jannah, 2010). Faktor-faktor yang

harus diperhatikan dalam proses fermentasi antara lain air, suhu, pH, inokulum, fermentor, susunan bahan dasar dan bahan yang bersifat mendukung. Hal yang terpenting dalam proses fermentasi adalah bahan baku dan bahan pembantu yang disebut medium atau substrat. Fungsi substrat antara lain adalah sebagai sumber energi, bahan pembentuk sel, dan sebagai produk metabolisme. Medium fermentasi harus bisa menyediakan semua nutrisi pembentuk sel dan biosintesa produk-produk metabolisme (Seftian, 2012).

Fermentasi dengan menggunakan jamur dapat meningkatkan nutrisi dari suatu bahan seperti bekatul. Hal ini sesuai dengan penelitian Razak, *et al.*, (2015) yang melakukan fermentasi bekatul menggunakan jamur dengan 2 jenis yaitu *Aspergillus oryzae* dan *Rizhopus oryzae*, dimana nilai aktivitas antioksidan dari bekatul yang difermentasi dengan campuran jamur *Aspergillus oryzae* dan *Rizhopus* mendapatkan hasil yang lebih besar dibandingkan bekatul yang difermentasi dengan jamur tunggal. Sehingga dapat diketahui bahwa menggunakan jamur *Rizhopus oryzae* dapat meningkatkan kadar total fenolik dan aktivitas antioksidan.

Menurut hasil penelitian 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 fenolik dan aktivitas antioksidan. Keberhasilan fermentasi ditentukan oleh beberapa faktor yaitu:

1. Lama Fermentasi

Waktu yang dibutuhkan dalam proses fermentasi

2. Inokulum

Inokulum sangat mempengaruhi efektivitas penghasil produk. Jika inokulum yang digunakan terlalu sedikit maka proses fermentasi berjalan dengan lambat, sedangkan inokulum yang terlalu banyak akan mempengaruhi persaingan pengambilan nutrisi, sehingga sangat berpengaruh pada pertumbuhan mikroorganisme.

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 lainya yang terdapat dalam substrat. Bahan energi yang banyak digunakan oleh mikroorganisme adalah glukosa. Mikroba fermentasi harus mampu tumbuh pada substrat dan mudah beradaptasi dengan lingkungan.

4. Suhu

Suhu selama proses fermentasi sangat menentukan jenis mikroorganisme dominan yang akan tumbuh. Umumnya diperlukan suhu 30°C untuk pertumbuhan mikroorganisme. Fermentasi dengan menggunakan variasi suhu akan menunjukkan terjadinya tingkat fermentasi maksimum pada suhu tertentu.

Hal ini bergantung pada jenis mikroba yang digunakan pada saat fermentasi.

5. Oksigen

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

6. pH substrat

Mikroba banyak tumbuh pada kisaran pH 3,0 – 4,0. Mayoritas bakteri mempunyai pH optimum berkisar 5,5 – 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 sangat penting dilakukan karena pH yang optimum harus dipertahankan selama fermentasi.

2.3 Jamur *Rhizopus oryzae*

Kapang genus *Rhizopus oryzae* adalah kapang yang sering digunakan untuk pembuatan tempe ataupun oncom. *Rhizopus oryzae* memiliki karakteristik, yaitu miselium berwarna putih, ketika dewasa miselia putih akan tertutup oleh sporangium yang berwarna abu-abu kecokelatan (Sahara, 2016). Menurut Hidayat (2006), klasifikasi *Rhizopus oryzae* sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Divisio	: Zygomycota
Class	: Zygomycetes
Ordo	: Mucorales
Familia	: Mucoraceae
Genus	: <i>Rhizopus</i>
Spesies	: <i>R. Oryzae</i>

Dewi dkk., (2011) menyatakan bahwa *Rhizopus oryzae* biasa digunakan dalam fermentasi berbagai macam tempe dan oncom hitam. Pertumbuhannya cepat membentuk miselium seperti kapas. *Rhizopus oryzae* mempunyai stolon dan rhizoid yang warnanya gelap jika sudah tua, dan hidupnya bersifat saprofit. *Rhizopus oryzae* merupakan salah satu jenis kapang yang sering dimanfaatkan

dalam bidang farmasi sebagai antibiotik. *Rhizopus oryzae* merupakan kapang penghasil enzim selulase (Endrawati, 2017).

Pembentukan glukosa secara enzimatis sesuai dengan reaksi katalitik sebagai berikut:

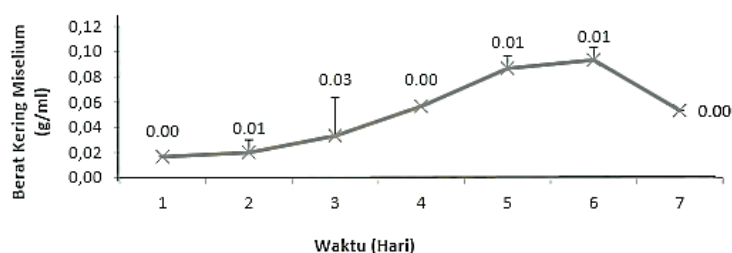


Keterangan:

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

Pemilihan *Rhizopus oryzae* sebagai penghasil enzim selulase memiliki keuntungan yaitu, kebutuhan air jamur lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri, sehingga randemen yang dihasilkan tidak terlalu banyak yang ikut terbuang dengan air. Selain itu enzim selulase mampu membuka atau menghidrolisis serat selulosa menjadi rantai oligosakarida yang lebih sederhana, sehingga ikatan bioaktif yang terikat diantara selulosa akan lemah dan mudah terlepas (Endrawati, 2017). Menurut Wahzudin (2020), jamur *Rhizopus oryzae* mampu memecah serat selulosa bekatul sehingga senyawa yang terkandung dalam bekatul akan terlepas dan larut dengan pelarut.

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



Gambar 2.2. Kurva pertumbuhan jamur *Rhizopus oryzae* (Fikriyah, 2018)

Kurva 2.2 menyebutkan bahwa fase pertumbuhan jamur *Rhizopus oryzae* antara lain adalah fase adaptasi (lag) berada pada masa inkubasi 0-2 hari, fase logaitmik (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.

2.4 Ekstraksi

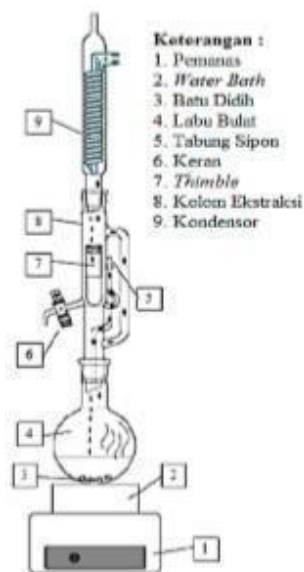
Metode ekstraksi soxhlet adalah metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian akan menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping soxhlet, maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Departemen Kesehatan RI, 2006).

Menurut Vogel (1984) bahwa ekstraksi dengan menggunakan pelarut merupakan proses pemisahan komponen zat terlarut berdasarkan sifat

distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling melarut. Dengan memanfaatkan perbedaan kelarutannya senyawa yang diinginkan dapat dipisahkan secara selektif. Beberapa faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi yaitu perbedaan metode, pelarut, suhu, serta waktu ekstraksi akan berpengaruh terhadap jumlah rendemen serta kualitas ekstrak yang didapatkan. Menggunakan metode pelarut serta waktu yang sesuai akan menghasilkan rendemen serta kualitas ekstrak yang maksimal (Wilda dkk., 2014).

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan ekstraksi adalah pemilihan pelarut. Pemilihan pelarut yang paling sesuai untuk ekstraksi ekstrak bekatul adalah berdasarkan tingkat kepolarannya. Pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: selektivitas, titik didih pelarut, pelarut tidak larut dalam air, pelarut bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan komponen lain, harga pelarut semurah mungkin, pelarut mudah terbakar. Pada dasarnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Verdiana, 2018).

Alat soxhlet adalah suatu alat terbuat dari gelas yang bekerja secara kontinyu dalam penyaringan. Adanya pemanasan menyebabkan pelarut ke atas lalu setelah di atas akan diembunkan oleh pendingin udara menjadi tetesan-tetesan yang akan terkumpul kembali dan bila melewati batas lubang pipa samping soxhlet, maka akan terjadi sirkulasi yang berulang-ulang akan menghasilkan penyaringan yang baik (Purwanto, 2014). Proses ekstraksi dipengaruhi oleh metode, pelarut, suhu, serta waktu ekstraksi yang akan berpengaruh terhadap konsentrasi serta kualitas ekstrak.



Gambar 2.3. Rangkain ekstraktor soxhlet (Purwanto dkk., 2014)

Kelebihan metode soxhlet adalah proses ekstraksi berlangsung secara berkelanjutan, memerlukan waktu ekstraksi yang lebih sebentar dan jumlah pelarut yang lebih sedikit bila dibandingkan dengan metode maserasi dan perlokasi. Kelemahan metode ini adalah dapat menyebabkan rusaknya *solute* atau komponen lainnya yang tidak tahan panas karena pemanasan ekstrak yang dilakukan secara terus menerus (Sarker, 2006).

2.5 Antioksidan

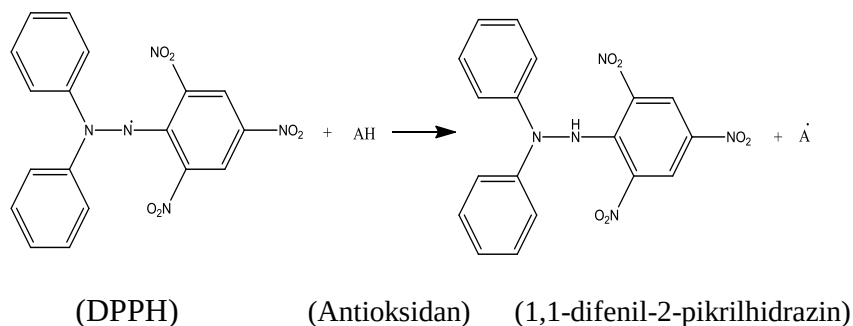
Antioksidan adalah zat yang dapat melawan pengaruh bahaya dari radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROF) yang terbentuk sebagai hasil dari metabolisme oksidatif yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi dalam tubuh. Antioksidan dapat menangkap radikal bebas sehingga menghambat mekanisme oksidatif yang merupakan penyebab penyakit- penyakit degeneratif seperti penyakit jantung, kanker, katarak, disfungsi otak dan artritis.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dapat mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Parwata, 2016).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil tetapi mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. Antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia. Penggunaan antioksidan pada manusia, bila digunakan dalam jangka waktu yang panjang dan jumlah berlebihan dapat menyebabkan kerusakan hati. Untuk mengantisipasi hal tersebut, perlu dicari antioksidan alternatif yaitu antioksidan yang berasal dari alam seperti bekatul (Hani, 2007).

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

Beberapa metode pengukuran aktivitas antioksidan yang dapat digunakan antara lain metode DPPH merupakan salah satu metode aktivitas antioksidan yang sederhana dengan menggunakan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil atau (DPPH) sebagai senyawa pendeteksi (Faisal, 2002). Reaksi antara DPPH dengan senyawa antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.4. Reaksi peredaman radikal bebas DPPH oleh antioksidan (Fikriyah, 2018)

Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor electron atau hydrogen. Metode ini merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas total antioksidan baik dalam pelarut polar maupun nonpolar (Septiana, 2013).

Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel (Molyneux, 2004). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hydrogen dan menyebabkan terjadinya perubahan warna dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Membri, 2021). Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah electron DPPH yang menangkap atom hydrogen 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. Berkurangnya intensitas warna larutan DPPH dapat menunjukkan bahwa terjadi reaksi antara atom hydrogen yang dilepas oleh bahan uji dengan molekul radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil yang berwarna kuning (Riskiana, 2021). Nilai 0% berarti sampel tidak mempunyai aktivitas antioksidan.

2.7 Manfaat Tumbuhan di dalam Al-Quran

Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-An'am ayat 95:

إِنَّ اللَّهَ فَالِقُ الْحَبِّ وَالنَّوَى ۚ يُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَيُخْرِجُ الْمَيِّتَ مِنَ الْحَيِّ ۚ ذَٰلِكُمْ اللَّهُ ۚ فَإِنِّي تُوفِّكُون

Artinya: “sesungguhnya Allah yang menumbuhkan butir (padi-padian) dan biji (kurma). Dia mengeluarkan yang hidup dari yang mati dan mengeluarkan yang mati dari yang hidup. Itulah (kekuasaan) Allah, maka mengapa kamu masih berpaling”.

Menurut Shihab (2002), kata Hubbi dalam surat A-An'am ayat 95 memiliki makna tumbuhan yang berbutir seperti padi-padian. Demikian juga tafsir Ibnu Katsir (2001), Allah SWT telah menumbuhkan berbagai macam pohon dari biji bijian yang menghasilkan buah-buahan yang berbeda dari segi warna, bentuk dan kegunaannya. Salah satu manfaat yang diharapkan dari tumbuhan adalah dapat digunakan sebagai obat. Padi merupakan tumbuhan berbutir yang diciptakan Allah yang memiliki banyak manfaat. Tidak hanya butir buahnya, limbah dari butir padi juga mempunyai banyak manfaat.

Pemanfaatan bahan alam menjadi obat akhir-akhir ini meningkat. Bahkan beberapa bahan alami telah diproduksi dalam skala besar. Hal ini dikarenakan obat tradisional lebih efektif dan memiliki efek samping yang lebih sedikit dibanding dengan obat-obatan bahan kimia. Akan tetapi pemanfaatan bahan alam menjadi obat hanya dapat dilakukan oleh orang yang berakal.

Q.S Al-An'am ayat 99:

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

Artinya: 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 (al- An'am:99).

Menurut surat Al An'am ayat 99 menyebutkan bahwa Allah SWT telah menurunkan hujan dari awan dan dari hujan tersebut ditumbuhkan setiap tumbuhan hijau. Kemudian mengeluarkan biji yang tersusun dari tanaman itu, sebagiannya diatas sebagian yang lain. Setiap biji ditata sedemikian rupa, sehingga semua itu menunjukkan kebijaksanaan Allah yang telah merancanginya.

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 ciptan 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 merupakan hasil samping dan sering diabaikan, namun bekatul akan lebih bermanfaat dan bernilai tinggi jika manusia masih memikirkan bagaimana cara untuk memanfaatkannya.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Riset Biokimia dan Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada tanggal 24 Mei 2021-31 Agustus 2021.

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, spatula, neraca analitik, gelas arloji, batang pengaduk, erlenmeyer 250 mL, labu ukur 10 mL, *autoclave*, *hot plate*, jarum ose, korek api, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet ukur 10 mL, *blue tipe*, vortex, penangas air, bola hisap, gelas ukur 100 mL, botol kecil, *laminar air flow*, spektrofotometer UV-Vis, kuvet, *plastic wrap*, bunsen, corong buchner, erlenmeyer vakum, *rotary evaporator vacuum*.

3.2.2 Bahan

Bekatul, jamur *Rizhopus oryzae*, *Potato Dextrose Agar*, etanol, DPPH (1,1-difenil- 2-dipikrilhidrazil), 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 suhu dengan 2 perlakuan variasi yakni suhu ruang, 37°C. Sedangkan faktor kedua adalah faktor inokulum dengan variasi inokulum 3 mL dan 7 mL dapat dinyatakan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kombinasi perlakuan fermentasi variasi suhu dan inokulum

Inokulum Suhu	T1 (ruang)	T2 (37°C)
V ₁ (3mL)	V ₁ T ₁	V ₁ T ₂
V ₂ (7mL)	V ₂ T ₁	V ₂ T ₂

Adapun proses penelitian yang dilakukan yaitu bekatul yang telah dipreparasi dicampurkan dengan inokulum jamur 3mL, dan 7mL, Selanjutnya dilakukan proses fermentasi dengan menggunakan variasi suhu ruang, dan suhu 37°C. Sehingga akan dilakukan perlakuan dengan mengkombinasi variasi inokulum dan suhu, seperti yang tertera pada Tabel 3.1. Hasil fermentasi selanjutnya akan dianalisis aktivitas antioksidannya sebanyak 3 kali pengulangan data (triplo).

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 akuades steril
4. Regenerasi isolat jamur *Rizhopus oryzae*
5. Produksi inokulum jamur

6. Fermentasi bekatul dengan menggunakan isolate jamur *Rizhopus oryzae* dengan menggabungkan variasi suhu dan inokulum.
7. Ekstraksi bekatul menggunakan pelarut etanol
8. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH
9. Analisis Data

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

Sampel berupa bekatul dibersihkan dari pengotor kasarnya dengan cara diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Setelah itu, ditimbang bekatul sebanyak 50 gram dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 ml dan ditutup rapat dengan aluminium foil dan siap disterilisasi menggunakan *autoclave*. Di dalam laminar, semua media fermentasi yang telah disterilisasi ditambah akuades steril sesuai dengan variasi inokulum 3 mL, 7 mL. Setelah itu ditutup aluminium foil dan dibungkus plastik. Selanjutnya disterilisasi dengan *autoclave*.

3.5.3 Pembuatan Media

3.5.3.1 Pembuatan Media Potatu Dextrosa Agar (Fikriyah, 2018)

Pembuatan media PDA dilakukan dengan cara melarutkan 4 gram media PDA bubuk dalam 100 mL aquades dalam beaker glass 250 mL dan dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk. Larutan tersebut dituang ke dalam 16 tabung reaksi masing-masing sebanyak 6 mL dan ditutup mulut tabung reaksi dengan kapas dan *plastic wrap*. Selanjutnya media PDA disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C. Kemudian didinginkan dalam keadaan miring hingga memadat.

3.5.4 Regenerasi *Rhizopus oryzae* (Fikriyah, 2018)

Jamur yang akan digunakan harus diregenerasi terlebih dahulu. Disiapkan media miring PDA dalam tabung reaksi yang sudah disterilisasi. Jamur induk diambil satu ose dan digoreskan pada media miring yang baru. Jamur yang sudah ditanam dibiarkan selama 5 hari pada suhu kamar.

3.5.5 Pembuatan Inokulum *Rhizopus oryzae* (Irfan, 2012)

Jamur yang sudah diregenerasi dalam media PDA kemudian diinokulasikan 4 ose ke dalam aquades 10 mL secara aseptik. Kemudian divortex hingga larutan keruh.

3.5.6 Fermentasi Bekatul oleh *Rhizopus oryzae* (Razak, dkk., 2015)

Bekatul sebanyak 40 gram yang telah disterilkan ditambah aquades steril 50 mL dan ditambahkan inokulum dengan variasi 3 mL, 7 mL (v/b) dan dishaker.

Kemudian diinkubasi pada variasi suhu ruang, 37 °C.

3.5.7 Ekstraksi Bekatul Terfermentasi oleh *Rhizopus oryzae* Metode Soxhlet (Wangdee, 2017)

Bekatul hasil fermentasi ditimbang sebanyak 40 gram kemudian dibungkus dengan kertas saring. Setelah itu dimasukkan kedalam soxhlet. Pelarut etanol sebanyak 200 mL dimasukkan ke dalam labu leher tiga. Kemudian diekstraksi selama ± 3 jam. Setelah itu, hasil ekstraksi diuapkan dengan *rotary evaporator* terlebih dahulu dengan suhu 50°C untuk menghilangkan pelarut yang masih terbawa kemudian diletakkan dalam kulkas supaya senyawa dalam ekstrak tidak rusak. Lalu dilakukan penimbangan hingga diperoleh berat konstan.

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

3.5.8.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (Damanis, 2020)

Dimasukkan etanol 96% sebanyak 3 mL ke dalam kuvet, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 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 (Ruen-ngam, 2021)

Absorbansi kontrol: larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM dipipet sebanyak 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 3 mL. Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil, lalu

diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah itu larutan dimasukkan dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang didapatkan pada tahap sebelumnya.

Absorbansi DPPH diukur dengan spektrometer sinar tampak pada panjang gelombang maksimum. Persentase penangkapan radikal bebas dinyatakan dalam persentase penghambatan radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004).

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

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 25.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel bekatul yang diambil dari tempat penggilingan padi di Desa Mlokorejo Kecamatan Puger Kabupaten Jember Jawa Timur dari jenis padi *Cibogo*. Setelah diambil dari tempat penggilingan, bekatul diayak menggunakan ayakan ≤ 60 mesh untuk memperluas permukaan bekatul. Sehingga interaksi antara bekatul dan inokulum saat proses fermentasi menjadi lebih tinggi.

Sebelum proses fermentasi bekatul disterilisasi terlebih dahulu menggunakan *autoclave* dengan suhu 121 °C. Sterilisasi berfungsi untuk membunuh dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Uap panas ditambah dengan tekanan sebesar 15 - 17,5 psi (2atm) akan membunuh sel mikroorganisme dalam bekatul yang dapat mengganggu proses fermentasi. Kondisi yang baik digunakan untuk sterilisasi adalah pada tekanan 15 psi (2 atm) dan temperatur 121 °C selama 15 menit (Adji, 2007). Hasil dari preparasi bekatul ini adalah bekatul steril berwarna coklat. Dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Preparasi sampel bekatul

4.2 Pembuatan *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Media *Potato Dextrose Agar* merupakan media yang berfungsi memberikan asupan nutrisi untuk jamur dengan teknik regerasi 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 PDA media miring dalam tabung reaksi.

Media PDA memiliki kandungan karbohidrat yang cukup sehingga baik digunakan untuk pertumbuhan jamur. Pemilihan media PDA pada proses regenerasi dikarenakan kandungan nutrisi pada media ini sesuai dengan nutrisi yang dibutuhkan oleh jamur *Rhizopus oryzae*. Berdasarkan komposisinya PDA merupakan media semi sintetik karena tersusun atas bahan alami (kentang) dan bahan sintetis (*dextrose* dan agar). Kentang merupakan sumber karbon (karbohidrat), vitamin dan energi, *dextrose* sebagai sumber gula dan energi, sedangkan komponen agar berguna untuk memadatkan medium.

Media PDA diperoleh dari proses melarutkan media PDA bubuk 4 gram dalam 100 mL akuades dalam *beaker glass* 250 mL dengan pemanasan dan pengadukan. PDA cair dituangkan ke dalam media miring. Sedangkan media yang digunakan untuk proses pembuatan inokulum dalam proses fermentasi adalah akuades steril. Dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2. Pembuatan Media PDA

4.3. Regenerasi Jamur *Rhizopus oryzae*

Mikroorganisme yang digunakan dalam proses fermentasi pada penelitian ini adalah jamur *Rhizopus oryzae*. Jamur induk perlu diregenerasi terlebih dahulu untuk memperbarui sel-selnya. Selain itu regenerasi jamur juga bertujuan untuk mendapatkan jamur yang berada pada fase logaritmik, dimana pada fase tersebut sel jamur dalam keadaan aktif membelah atau produktif (Herdyastuti dkk., 2009).

Tahapan yang diperlukan dalam proses regenerasi jamur *Rhizopus oryzae* diantaranya adalah menyiapkan media miring PDA steril. Stok jamur *Rhizopus oryzae* yang sudah disiapkan kemudian diambil sebanyak 1 ose dan digoreskan diatas media miring yang baru. Media regenerasi tersebut kemudian diinkubasi selama 5 hari pada suhu kamar.

Proses regenerasi dilakukan dengan menggoreskan 1 ose jamur induk pada permukaan media PDA, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 hari (Fikriyah, 2018). Penggunaan suhu 37 °C pada saat inkubasi disesuaikan dengan suhu optimum *Rhizopus oryzae*. Sedangkan 5 hari waktu inkubasi dikarenakan pada hari ke-5 jamur *Rhizopus oryzae* dalam kondisi stasioner atau sel yang mati sebanding dengan sel yang masih hidup.

Seperti halnya penelitian yang telah dilakukan oleh (Melgar, *et al.*, 2013) dengan hasil penelitian yang menyebutkan bahwa fase pertumbuhan jamur *Rhizopus oryzae* diantaranya fase (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.

Menurut Sukma dkk., (2010) pada kondisi stasioner energi yang dihasilkan tidak lagi digunakan untuk pertumbuhan sel namun siap digunakan

untuk pembentukan metabolit primer diantaranya biosintesis asam lemak dalam bekatul. Hasil dari regenerasi ini adalah berupa biakan jamur yang telah tumbuh pada media PDA dengan warna spora putih. Dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Regenerasi jamur *Rhizopus oryzae*

4.4. Pembuatan Inokulum Jamur

Inokulum merupakan kultur jamur atau bibit yang diinokulasikan ke dalam suatu cairan. Kultur jamur yang akan diinokulasikan ke dalam 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 16 ose isolat jamur dan dimasukkan dalam aquades steril sebanyak 40 mL, setelah itu dilakukan pengocokan dengan vortex selama ± 5 menit, sehingga isolat yang ditanam dalam aquades steril dapat merata atau homogen. Selanjutnya inokulum siap digunakan untuk proses fermentasi. Hasil yang diperoleh yaitu inokulum berwarna putih keruh. Dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4. Inokulum jamur *Rhizopus oryzae*

4.5 Fermentasi Bekatul oleh *Rhizopus oryzae*

Bekatul merupakan bahan alam yang dapat digunakan sebagai obat karena kandungan senyawa aktifnya. Saat ini manusia mempunyai banyak cara untuk meningkatkan nilai ekonomi salah satunya dengan memanfaatkan proses fermentasi. Hal ini merupakan bentuk rahmat dan karunia Allah SWT bagi manusia yang berakal. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S Az-Zumar ayat 21:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنَابِيعٌ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زَرْعًا مُخْتَلِفًا
أَلْوَانُهُ ثُمَّ يَهِيَجُ فَتَرَاهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَامًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَلْبَابِ

Artinya: “Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa sesungguhnya allah menurunkan air dari langit, maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanaman-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuningan, kemudian dijadikan-Nya hancur berderai derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal.”

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan tumbuhan yang bermacam-macam warnanya, kemudian menjadi kering dan hancur atau berderai-derai. Hal tersebut menggambarkan proses fermentasi. Fermentasi sendiri

merupakan suatu proses terjadinya perubahan (pemecahan) kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme.

Salah satu mikroorganisme yang digunakan dalam proses fermentasi adalah jamur, yang mana jamur tersebut juga memberikan manfaat bagi orang yang mengetahuinya. Secara implisit Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-Baqarah ayat 26 tentang mikroorganisme:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي ۚ أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ ۚ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۚ يُضِلُّ بِهِ ۚ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ ۚ كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِ ۚ إِلَّا الْفَاسِقِينَ ۚ

Artinya: “Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih kecil dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, maka mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari tuhan mereka. Dan adapun mereka yang kafir mengatakan; “Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan? “dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu pula banyak banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik”.

Makna “Allah SWT membuat perumpamaan berupa nyamuk atau hal yang lebih kecil daripada itu”. Contohnya adalah kuman, kuman tidak dapat dilihat dengan kasat mata melainkan dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Begitu pula dengan jamur yang pertumbuhannya tidak dapat secara langsung.

Tujuan dari proses fermentasi pada penelitian ini adalah untuk memecah kompleks selulosa dalam serat bekatul dengan bantuan jamur *Rhizopus oryzae* yang merupakan jamur penghasil enzim selulase. Jamur ini mengeluarkan 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. Menurut Sahara (2016), jamur *Rhizopus oryzae* mampu memecah serat selulosa bekatul sehingga senyawa bioaktif yang terkandung dalam bekatul akan terlepas dan larut dengan pelarut.

Proses fermentasi diawali dengan menambahkan aquades steril pada bekatul yang sudah disterilisasi sebanyak 50 mL atau perbandingan (1:1) dengan substrat bekatul yaitu 50 gram bekatul. Penggunaan perbandingan aquades dengan substrat tersebut berdasarkan hasil penelitian Fikriyah, (2018). Hasil penelitiannya menyebutkan perbandingan (1:1) antara substrat dengan aquades menghasilkan nilai peningkatan aktivitas antioksidan tertinggi. Penambahan inokulum sebanyak 5 mL (10 %) ke dalam bekatul yang sudah disterilisasi sesuai dengan penelitian Razak, dkk., (2015). Penelitiannya menyebutkan penambahan inokulum (10 %) mampu meningkatkan konsentrasi komponen bioaktif pada bekatul. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses fermentasi diantaranya suhu dan inokulum. Fermentasi pada penelitian ini dilakukan dengan mengkombinasikan variasi suhu yaitu ruang dan 37 °C dan variasi inokulum 3 mL dan 7 mL. Variasi suhu dan inokulum ketika fermentasi berpengaruh terhadap pertumbuhan dan kerja dari suatu mikroorganisme yang digunakan. Pemilihan suhu ruang dan 37 °C karena suhu optimum dari jamur *Rhizopus oryzae* adalah 37 °C (Hikmah, 2018).

Pemilihan variasi inokulum yaitu 3 mL dan 7 mL. Penelitian Sukma *et al.*, (2010) menyatakan bahwa semakin banyak inokulum maka semakin banyak nutrisi yang dibutuhkan. Ketika nutrisi tidak tercukupi maka kapang tidak dapat memperbanyak selnya sehingga aktivitas metabolismenya terhambat dan kapang mulai mengalami kematian.

Besarnya volume inokulum yang ditambahkan pada bekatul akan berpengaruh pada kandungan ekstrak bekatul karena akan berpengaruh pada hasil metabolisme kapang yaitu enzim (desaturase dan elongase). Telah dilaporkan bahwa aktivitas enzim yang dihasilkan mikroorganisme oleaginous (bakteri, khamir, kapang serta alga tertentu) akan semakin besar ketika tercukupinya sumber karbon dan nitrogen pada substrat, sehingga dapat mendukung pertumbuhan sel kapang dan metabolisme (Sahara, 2016).

4.6. Ekstraksi Bekatul Terfermentasi oleh *Rhizopus oryzae* Metode Soxhlet

Ekstraksi merupakan metode pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutan terhadap dua cairan yang tidak saling larut (Wulandari, 2011). Adapun metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah soxhlet yang merupakan salah satu metode ekstraksi yang menggunakan proses pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel.

Salah satu faktor yang mempengaruhi keberhasilan ekstraksi adalah pemilihan pelarut. Pemilihan pelarut yang paling sesuai adalah berdasarkan tingkat kepolarannya. Pada proses ekstraksi bekatul, perpindahan massa dari dalam padatan ke pelarut dapat diduga melalui tahapan difusi dari dalam padatan ke permukaan padatan, dan perpindahan massa dari permukaan padatan ke pelarut. Pelarutan merupakan peristiwa penguraian suatu molekul zat menjadi komponennya, baik berupa molekul-molekul, atom-atom maupun ion-ion, karena pengaruh pelarut cair yang melingkupinya. Partikel-partikel yang terlarutkan ini berkumpul dipermukaan antara padatan (interface) dan pelarut (Anggraini, 2018).

Distribusi pelarut ke padatan akan sangat berpengaruh pada perolehan ekstrak bekatul, perbandingan antara padatan dengan pelarut akan mempengaruhi rendemen yang dihasilkan. Banyaknya pelarut mempengaruhi luas kontak padatan dengan pelarut, semakin banyak pelarut maka luas kontak akan semakin besar, sehingga distribusi pelarut ke padatan akan semakin besar. Meratanya distribusi pelarut ke padatan akan memperbesar rendemen yang dihasilkan, banyaknya pelarut akan mengurangi tingkat kejenuhan pelarut, sehingga komponen yang diinginkan akan terekstrak dengan sempurna.

Penelitian ini menggunakan pelarut etanol, dengan titik didih 78,4 °C, menggunakan pelarut etanol karena etanol merupakan pelarut dengan kepolaran tinggi, sehingga dapat mengekstrak senyawa dengan kepolaran tinggi.

Hasil penelitian Anggraini (2018), menunjukkan bahwa nilai aktivitas antioksidan ekstrak bekatul yang tinggi yaitu dengan menggunakan pelarut etanol sebesar 90, 47%. Hal ini tidak berbeda jauh dengan penelitian yang dilakukan oleh Zaide *et al* (2016) yang menyatakan nilai aktivitas antioksidan ekstrak bekatul dengan pelarut etanol adalah 92, 96%.

Proses ekstraksi akan berlangsung optimal dengan terjadinya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan sampel. Selama proses ekstraksi, pelarut di dalam alas bulat menguap yang kemudian terjadi sublimasi diakibatkan uap pelarut yang melewati kondensor. Pelarut yang telah tersublimasi kemudian jatuh dan membasahi sampel. Proses ekstraksi bekatul terjadi pada *timble*, pelarut merendam sampel sampai pelarut memenuhi *timble* yang ditandai dengan penuhnya tabung sipon yang kemudian akan jatuh ke dalam labu alas bulat lagi.

Selama tiga jam proses ekstraksi terjadi rata-rata 15 kali siklus dengan kecepatan 5 tetes pelarut per detik.

Ekstrak bekatul yang diperoleh berwarna kuning kehijauan untuk bekatul yang terfermentasi dan kuning untuk sampel kontrol yang tanpa proses fermentasi. Ekstrak bekatul dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* pada suhu 50 °C untuk menguapkan pelarut hingga diperoleh ekstrak pekat bekatul. Suhu 50 °C sedikit dibawah titik didih etanol yaitu 78,4 °C. penggunaan suhu di bawah titik didih bertujuan agar tidak ada ekstrak bekatul yang ikut menguap.

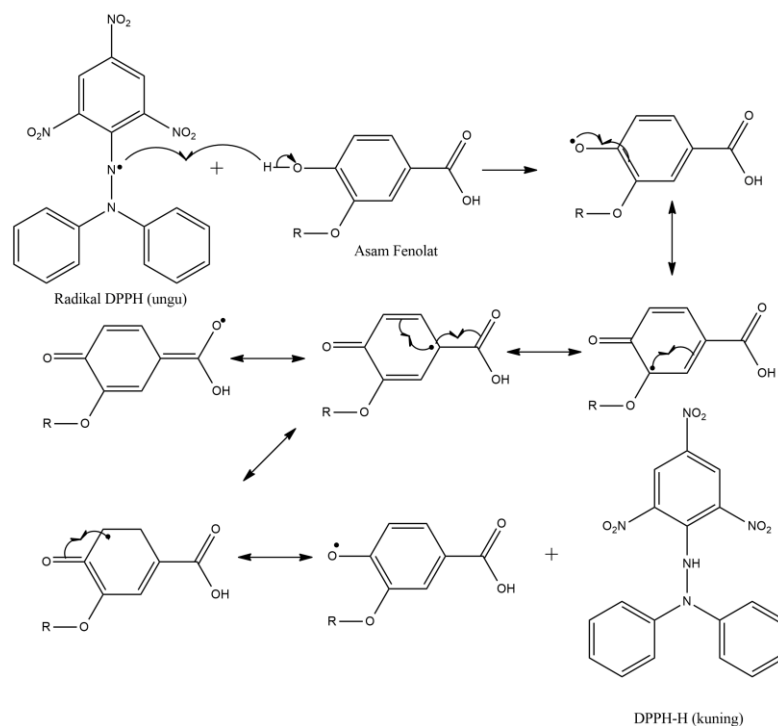
Prinsip utama *rotary evaporator vacuum* terletak pada penurunan tekanan dan pemutaran sampel dibantu dengan pemanasan sehingga penggunaan suhu dibawah titik didih pelarut sudah cukup untuk menguapkan pelarut. Proses penguapan dihentikan ketika sudah tidak ada pelarut yang menguap yang dilihat dari sudah tidak ada lagi pelarut yang menetes dalam labu destilat. Ekstrak bekatul yang diperoleh berwarna kuning.

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

Pengukuran aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan konsentrasi DPPH sebesar 0,2 mM. Langkah awal diawali dengan pengukuran panjang gelombang DPPH sebesar 0,2 mM. Hasil dari pengukuran panjang gelombang DPPH tersebut sebesar 517.9. Tujuan dari dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum adalah untuk mengetahui serapan tertinggi dari suatu panjang gelombang.

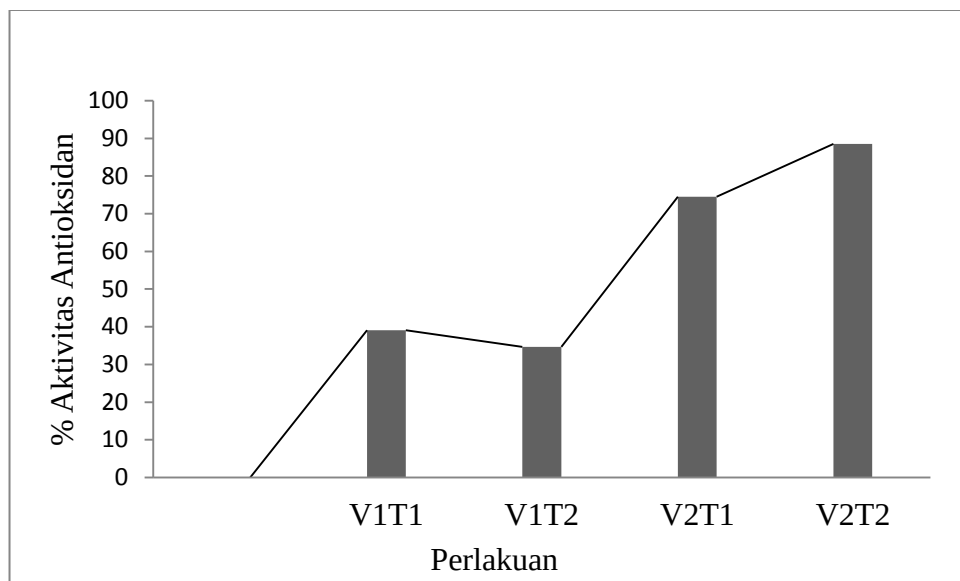
Hasil panjang gelombang yang diperoleh kemudian digunakan untuk mengukur aktivitas minyak bekatul yang telah difermentasi dengan penambahan jamur *Rizhopus oryzae*. Pengukuran panjang gelombang yang telah dilakukan memiliki hasil yang sesuai dengan referensi. Seperti halnya hasil dari pengukuran yang dilakukan oleh (Ulaan, 2019) menyebutkan bahwa kapasitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm.

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 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:



Gambar 4.5. Reaksi asam fenolat dengan DPPH (Idris, 2017).

Adapun sampel yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan yaitu sampel yang telah difermentasi oleh *Rizhopus oryzae* dengan variasi suhu dan inokulum. Data rata-rata aktivitas antioksidan ekstrak bekatul yang terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae* ditunjukkan pada Gambar 4.6.



Keterangan:

V1T1= Suhu ruang, inokulum 3 mL, V2T1= Suhu ruang, inokulum 7 mL

V1T2= Suhu 37⁰C, inokulum 3 mL, V2T2= Suhu 37⁰C, inokulum 7 mL

Gambar 4.6. Grafik aktivitas antioksidan ekstrak bekatul yang terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*

Aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae* tertinggi yaitu pada suhu 37 °C dan Inokulum 7 mL (V2T2) sebesar 88.528 %. Hal ini terjadi karena suhu 37 °C merupakan suhu optimum dari jamur *Rhizopus oryzae* (Hikmah, 2018). Penelitian Sukma *et al.*, (2010) menyatakan bahwa semakin banyak inokulum maka semakin banyak nutrisi yang dibutuhkan. Ketika nutrisi tidak tercukupi maka kapang tidak dapat memperbanyak selnya sehingga aktivitas metabolismenya terhambat dan kapang mulai mengalami kematian serta

menghambat fermentasi. Penelitian Ardiansyah (2020) menunjukkan hasil aktivitas antioksidan pada ekstrak bekatul sebesar 86,11% dengan suhu 30°C dan penambahan inokulum 15 % dengan spora jamur (10^6 spora/ml).

Dengan suhu 37 °C dan inokulum 7 mL (V2T2) saat proses fermentasi, maka kerja jamur *Rizhopus oryzae* akan semakin maksimal dalam memutus serat-serat yang terkandung dalam bekatul. Hal ini dikarenakan pada suhu 37 °C kerja dari jamur dalam membuka ikatan antara serat dengan senyawa fenolik berjalan dengan baik. Sehingga didapatkan nilai dari peningkatan aktivitas antioksidan yang lebih maksimal.

Aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae* terendah yaitu pada suhu ruang inokulum 7 mL (V2T1) sebesar 34,626 %. Hal tersebut terjadi dimungkinkan pada perlakuan tersebut proses fermentasi tidak berjalan dengan baik dan optimal, diduga dengan suhu yg tidak optimal sistem kerja jamur belum bekerja dengan baik. Penurunan aktivitas antioksidan juga disebabkan oleh kompetisi jamur dalam memperoleh nutrisi yang menyebabkan penurunan produksi enzim pemecah lignin oleh jamur (Faizah, 2020).

Nilai aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae* yang didapat, kemudian diuji statistik yang telah dilakukan dengan analisis varians (Anova) *Two way*. Tujuannya untuk mengetahui adanya pengaruh dari kedua variasi dan interaksi antara kedua variasi tersebut. Berdasarkan hasil analisis statistik aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi yaitu disajikan dalam Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Data SPSS aktivitas antioksidan minyak bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6309.763 ^a	3	2103.254	97.064	.000
Intercept	42031.636	1	42031.636	1939.743	.000
Suhu	5985.088	1	5985.088	276.209	.000
Inokulum	68.772	1	68.772	3.174	.113
Suhu *	255.903	1	255.903	11.810	.009
Inokulum					
Error	173.349	8	21.669		
Total	48514.749	12			
Corrected Total	6483.112	11			

Berdasarkan hasil statistik analisis varians (Anova) *Two way*, berdasarkan hasil yang diperoleh, nilai *p-value* dari correlated model yaitu sebesar 0,00 atau kurang dari 0,05, sehingga keputusan yang didapatkan yaitu tolak H_0 . Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan yang signifikan pada suhu ruang dan suhu 37 °C yang diberi inokulum 3 mL dan 7 mL.

Sementara itu, nilai *p-value* yang didapatkan pada variabel suhu adalah sebesar 0,000 atau kurang dari 0,005, sehingga keputusan yang didapatkan yaitu tolak H_0 . Hal ini berarti bahwa taraf signifikansi 5% terdapat cukup bukti untuk mengatakan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan jika ditinjau berdasarkan pengaruh suhu.

Kemudian jika dilihat pada variable inokulum, nilai *p-value* yang didapatkan yaitu sebesar 0,113 atau lebih besar dari 0,05, sehingga keputusan yang didapatkan yaitu gagal tolak H_0 . Hal ini berarti bahwa tidak terdapat cukup bukti mengatakan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada aktivitas antioksidan jika ditinjau berdasarkan inokulum.

Selanjutnya, nilai sig yang didapatkan pada interaksi variabel suhu dan inokulum yaitu sebesar 0,0009 atau lebih kecil dari 0,05, sehingga keputusan yang didapatkan yaitu gagal tolak H_0 . Hal ini berarti bahwa terdapat interaksi variabel suhu dan inokulum terhadap aktivitas antioksidan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa nilai aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae* diperoleh pada sampel bekatul dengan suhu 37°C dan inokulum 7 mL (V2T2) dengan hasil sebesar 88.527%. Sedangkan nilai aktivitas antioksidan terendah diperoleh pada sampel bekatul dengan suhu ruang dan inokulum 7 mL sebesar 34.626%.

5.2 Saran

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bekatul terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae* dilakukan minimal 3 kali ulangan dan harus memperhatikan nilai standar deviasi dari ulangan tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, R. F., Wdijanarko, S. B. 2018. Pengaruh Penambahan Ekstrak Bekatul Terhadap Aktivitas Antioksidan, Total Fenol, dan Kadar Flavonoid Minuman Fungsional Sari Jagung-Ekstrak Bekatul. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 6. No. 1: 53-63.
- Ardiansyah, Gustriani, D., Handoko, D., Kusbiantoro, B., Budijanto, S. 2020. The Antioxidant Activity of Indonesian Fermented Rice Bran with *Rhizopus oryzae*. *Food Science and Technology*. 463-468.
- Adji, D., Zuliyanti., dan Larashanty, H. 2007. Perbandingan Efektivitas Sterilisasi Alkohol 70 %, Inframerah, Otoklaf dan Ozon Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus subtilis*. *J. Sain Vet*. Vol. 25. No 1
- Cahyanine, M., Estiasih, E., dan Nisak, F. C. 2008. Fraksi Kaya Tokoferol dari Bekatul Beras dengan Teknik Rekristalisasi Pelarut Suhu Rendah. *Jurnal Teknologi Pertanian* . 9 (3) : 165-172.
- Damanis, F., Wewengkang, D. S., Antasionasti, I. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania Momus* dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Pharmacon*. Vol. 9. No. 3.
- Dewi, R. S., dan 'Aziz, S. 2011. Isolasi *Rhizopus oligosporus* pada Beberapa Inokulum Tempe di Kabupaten Banyumas. *Molekul*. Vol. 6. No. 2: 93-104.
- Endrawati, D., dan Kusumaningtyas, E. 2017. Beberapa Fungsi *Rhizopus sp* dalam Meningkatkan Nilai Nutrisi Bahan Pakan. *Wartazoa*. Vol. 27. No. 2: 081-088.
- Faisal, H. 2002. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) Dengan Metode DPPH (1,1- difenil-2-pikrilhidrazil) dan Metode ABTS (2,2-azinobis-(3-Ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic Acid). *Jurnal Farmasi*. 2686-6641.
- Faizah., Kusnandar, F., dan Nurjanah, S. 2020. Senyawa Fenolik, Oryzanol, dan Aktivitas Antioksidan Bekatul yang Difermentasi dengan *Rhizopus oryzae*. *J.Tekno dan Industri Pangan*. Vol. 31 (1):86-94.
- Fikriyah, Z. 2018. Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi Oleh *Rhizopus oryzae*. *Skripsi*. Malang: UIN Maliki Malang.

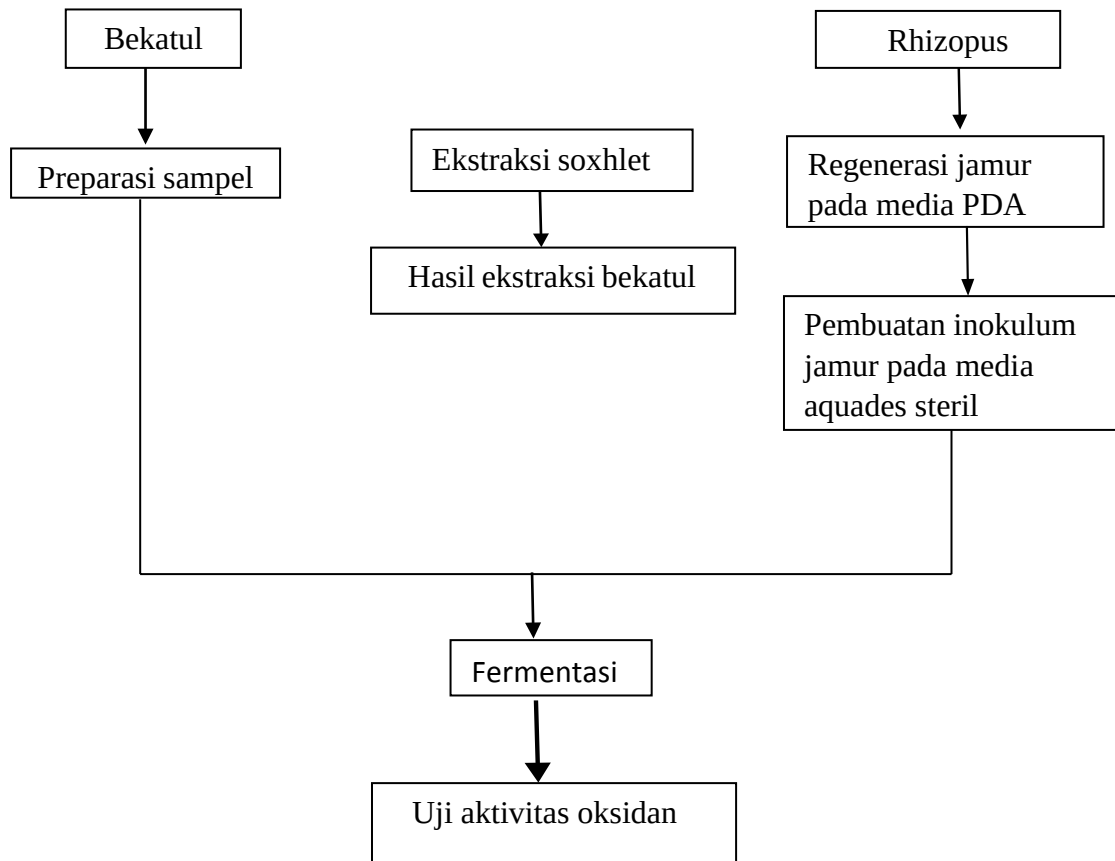
- Hanani, E., M. Abdul dan Ryany, S. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dan Spons *Callispongia* sp. Dari Kepulauan Seribu. *Majalah Kefarmasian*, 2(3): 127-133.
- Hani, R. C., Milanda, T. 2007. Manfaat Antioksidan pada Tanaman Buah di Indonesia. *Farmaka*. Vol. 14. No. 1.
- Herdyastuti, N., Raharjo, T. J., Mudasir, 2009. Kitin Dari Limbah Cangkang Udang Sebagai Media Bakteri Kitinolitik yang Diisolasi Dari Lumpur Sawah. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*. 16(2): 115 – 121.
- Hidayat, M. A. 2006. Fermentasi Asam Laktat oleh *Rhizopus oryzae* pada Substrat Singkong Hasil Hidrolisis Asam. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Hikmah, J. 2018. Pengaruh pH dan Suhu terhadap Aktivitas Antibakteri Bekatul Terfermentasi oleh *Rhizopus oryzae*. *Skripsi*. Malang: UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Idris, N. A. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah dan Madu Hutan dari Luwu Utara dengan Metode DPPH. *Skripsi*. Makassar: UIN Alauddin.
- Irfan, M., Nadeem, M., dan Syed, Q. 2012. Media Optimasi for Amylase Production in Solid State Fermentation of Wheat Bran by Fungal Strains. *Jurnal of Cell and Molecular Biology*, 10(1): 55 – 64.
- Jannah, A. M. 2010. Proses Fermentasi Hidrolisat Jerami Padi untuk Menghasilkan Bioetanol. *Jurnal Teknik Kimia*. Vol. 17. No. 1.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., Al Anshori, J. 2018. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP, dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*. Vol. 6. No.2: 93-100.
- Membri, D. K., Yudistira, A., Abdullah, S. S. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons *Liosina paradoxa* yang Dikoleksi dari Pulau Mantehage.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 26(2), 9.
- Parwata, I. M. 2016. Bahan Ajar Antioksidan. Bali: Pascasarjana Universitas Udayana
- Purwanto, A., Fajriyati, A. N., Wahyuningtyas, D. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Randemen dan Aktivitas Antioksidan dalam Ekastrak Minyak Bekatul Padi (Rice Bran Oil). *Ekuilibrium*. 13(1): 29 – 34.

- Razak, D. L., Rashid, N. Y., Jamaluddin, A., Sharifudin, S. A., Kahar, A. A., Long, K. 2015. Cosmeceutical potentials and bioactive compounds of rice bran fermented with single and mix culture of *Aspergillus oryzae* and *Rhizopus oryzae*. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.8: 1-8.
- Riskiana, N. P., Vifta, R. L. 2021. Kajian Pengaruh Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Alga Coklat Genus *Sargassum* dengan Metode Dpph. *Journal of Holistics and Health Sciences*. Vol. 3. No. 2.
- Ruen-ngam. 2021. Effect of Subcritical Solvent Extraction Conditions on Amount of γ -Oryzanol and γ -Tocopherol in Dawk Pa-Yom Rice Bran Oil.
- Sahara, E., Yosi, F., dan Sandi, S., 2016. Peningkatan Asam Lemak Tak Jenuh (Pufas) Dengan Menggunakan *Rhizopus Oryzae* Dalam Fermentasi Bekatul. *Jurnal Lahan Suboptimal*. 5 (1): 78-84.
- Seftian, D., Antonius, F., Faizal, M. 2012. Pembuatan Etanol dari Kulit Pisang Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*. Vol. 18. No. 1.
- Septiana, A. T., dan Asnani, A. 2013. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 14. No. 2: 79-86.
- Sukma, L. N., Gun, G. G., dan Zackiyah. 2010. Pengkayaan Lemak Tak Jenuh Pada Bekatul Dengan Cara Fermentasi Padat Menggunakan *Aspergillus Terius*. *Journal Sains dan Teknologi Kimia*. 1 (1): 66-72.
- Suryadinata, A. 2015. Oil Extraction from Rice Bran with Various Solvents and Concentration of Crude Extract to Antioxidant Activity. *Alchemy*. Vol. 4. No. 1: 25-31.
- Tuarita, M. Z., Sadek, N. F., Sukarno., Yuliana, N. d., dan Budijanto, S. 2016. Pengembangan Bekatul sebagai Pangan Fungsional: Peluang, Hambatan, dan Tantangan. *Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFast) Center*.
- Zubaidah, E., Aldina, N., dan Nisa, F. C. 2010. Studi Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi Bakteri Asam Laktat. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 11. No. 1: 11-17.
- Widarta, I. W., dan Amata, I. W. 2014. Stabilitas Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bekatul Beras Merah Terhadap Oksidator dan Pemanasan pada Berbagai pH. *J.Teknol dan Industri Pangan*. Vol. 25. No. 2.

- Ulaan, G. A., Yudistira, A., Rotinsulu, H. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Alga *Ulva lactuca* Menggunakan Metode DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Pharmacon*. Vol. 8. No. 3.
- Verdiana, M., Widarta, I. W., Permana, I. D. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol. 7. No. 4: 213-222.
- Wahzudin, M. M. 2020. Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi Terhadap Peningkatan Minyak Bekatul Terfermentasi *Rhizopus oryzae*. *Skripsi*. Uin Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Wangdee, K., dan Onsaard, E. 2017. Optimization of Solid-Liquid Extraction of γ -oryzanol from Rice Bran Oil Soapstock using Soxhlet Extraction Method. *Science and Technology Axia*. Vol. 23. No. 1.
- Wildan, A., Hartati, I., dan Widayati. 2014. Proses Ekstraksi Minyak dari Limbah Padat Biji Karet Berbantu Gelombang Mikro. *Jurnal Teknik Kimia*. Vol. 10. No. 1: 1-5.
- Wulandari, P. A., Suter, I. K., Putra, N. K., Widarta, I. W. 2011. Bekatul Beras Merah sebagai Salah Satu Alternatif Sumber Antioksidan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol.1. No.1.

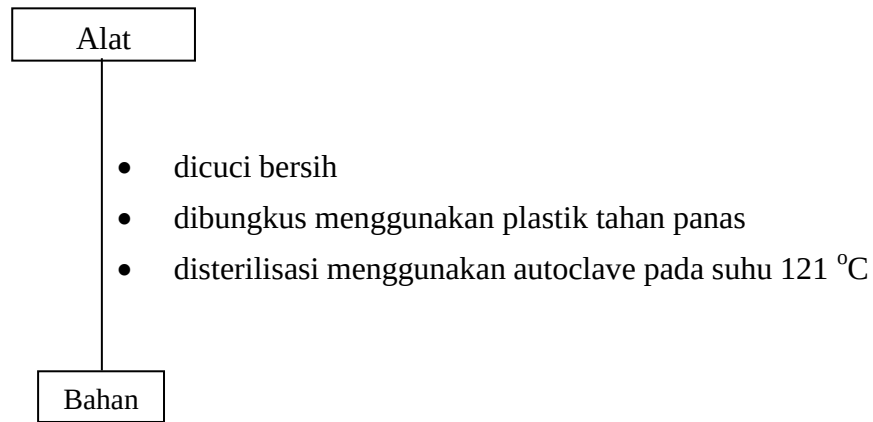
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

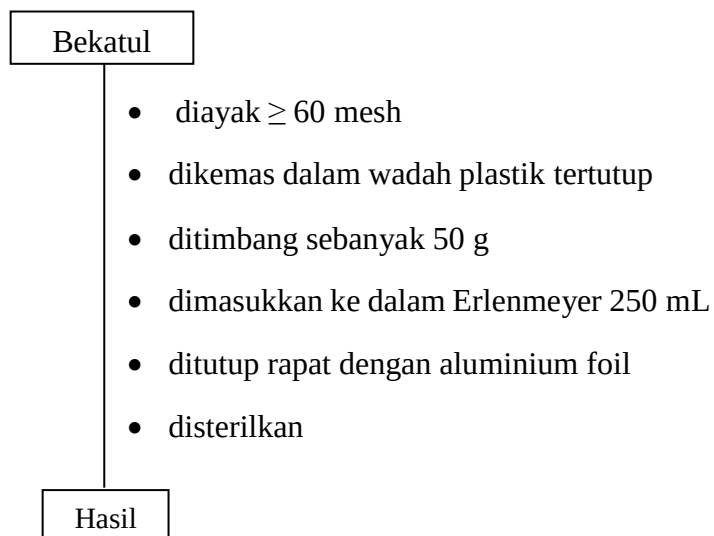


Lampiran 2. Diagram Alir

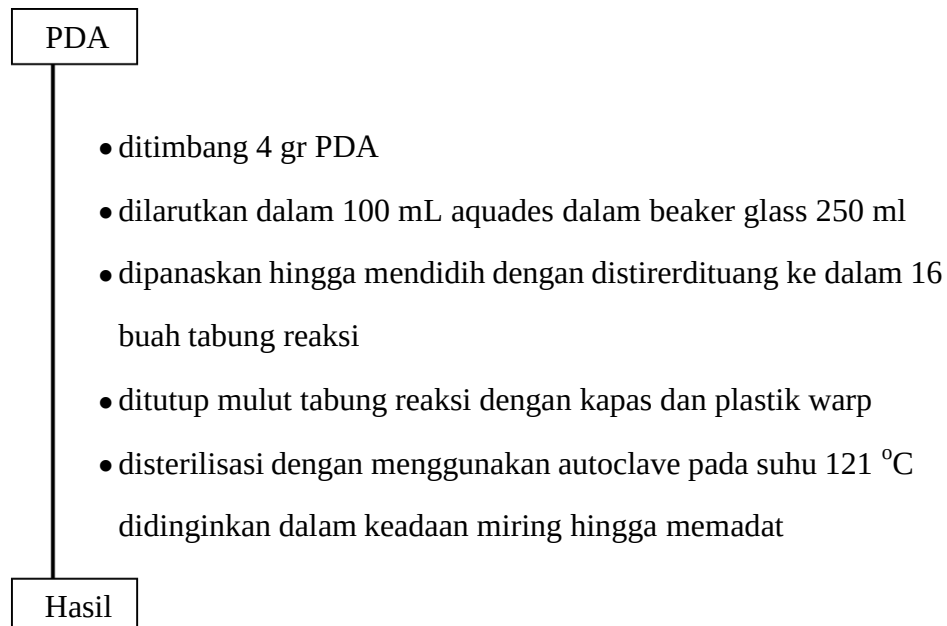
1. Sterilisasi Alat



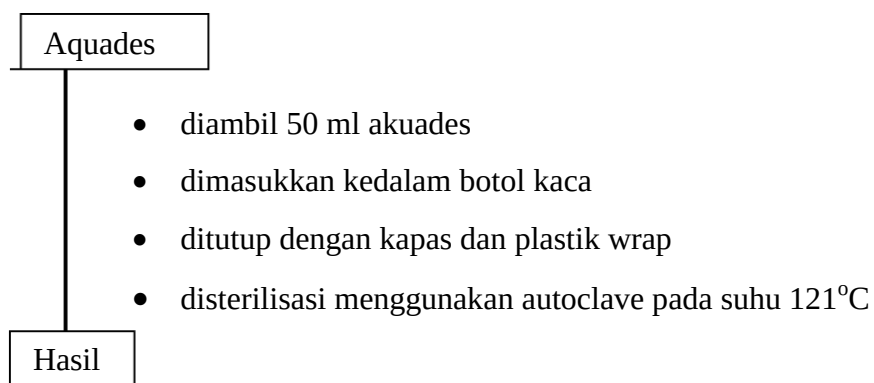
2. Preparasi Sampel



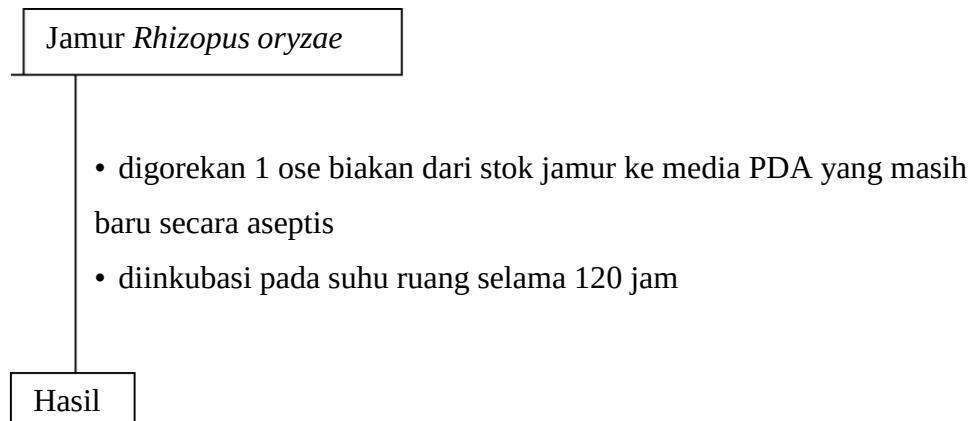
3. Pembuatan Media Potato Dextrosa Agar (PDA)



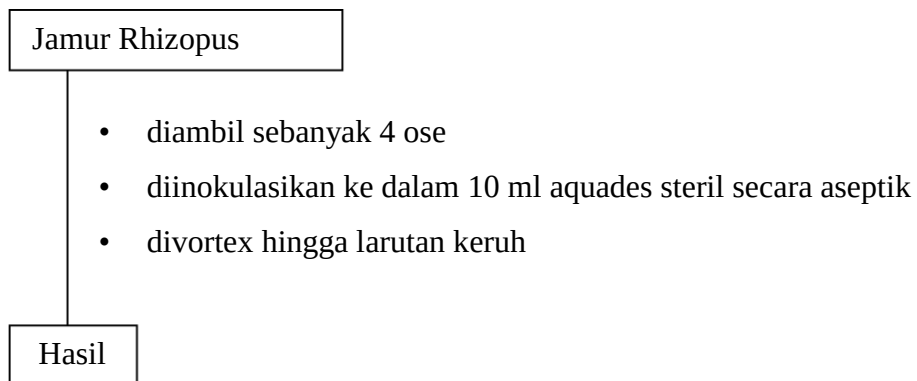
4. Pembuatan Aquades Steril



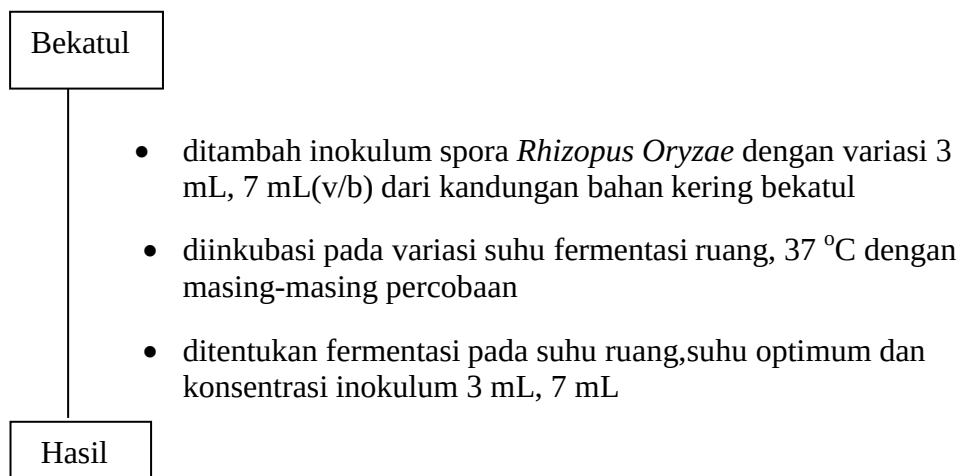
5. Regenerasi *Rhizopus oryzae*



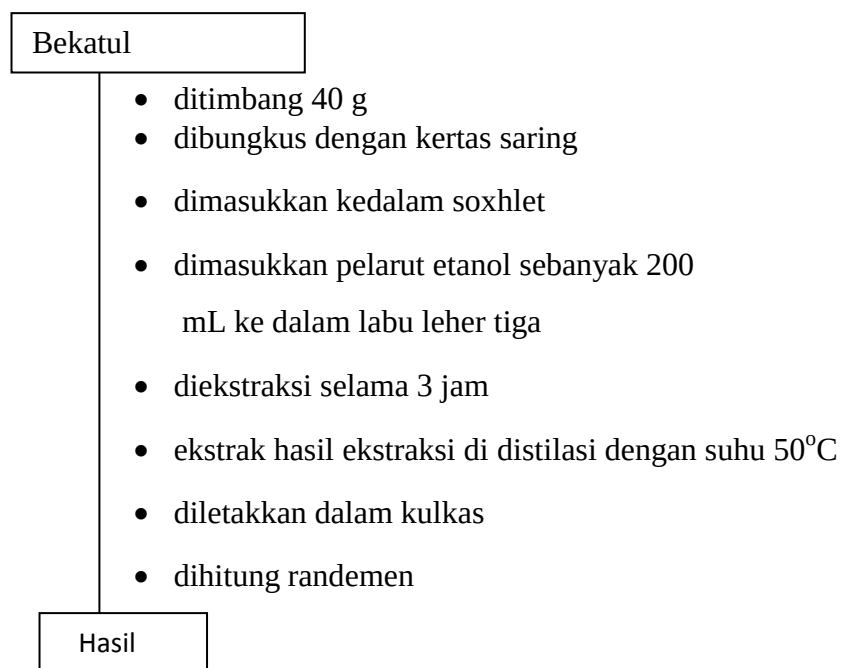
6. Pembuatan Inokulum *Rhizopus oryzae*



7. Fermentasi Bekatul Oleh *Rhizopus oryzae*

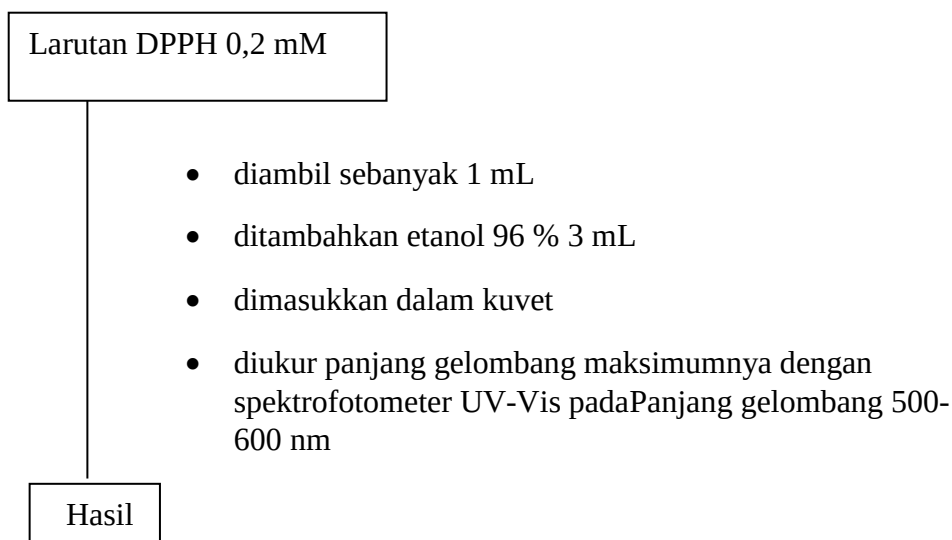


8. Ekstraksi Ekstrak Bekatul Terfermentasi Oleh *Rhizopus oryzae*



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

a. Penentuan Panjang gelombang



b. Pengukuran aktivitas antioksidan pada sampel

Larutan DPPH 0,2 mM

- diambil 1 mL
- dimasukkan dalam tabung reaksi
- ditambahkan 96% 3 mL
- diinkubasi selama 30 menit dalam suhu 37°C
- dimasukkan dalam kuvet hingga penuh
- diukur pada yang didapatkan dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjanggelombang yang diperoleh dari tahap sebelumnya

Hasil

- disiapkan tabung reaksi
- dimasukkan 3 mL larutan sampel kedalam tabung
- ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL
- diinkubasi selama 30 menit dalam suhu 37°C
- dimasukkan kedalam kuvet hingga penuh
- Diukur pada yang didapatkan dengan spektrofotometer
- Dihitung nilai (%) aktivitas

$$\% \text{ ak. antiosidan} = \frac{\text{Serapan kontrol} - \text{Serapan sampel}}{\text{Serapan kontrol}} \times 100\%$$

Serapan kontrol

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan

1.3.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM dalam 10 ml ethanol 96%

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

$$\text{DPPH} = \frac{10 \text{ ml} \times 0,2 \text{ M}}{1000 \text{ ml}}$$

$$= 0,002 \text{ mmol}$$

$$\begin{aligned} \text{Mg DPPH} &= 0,002 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH} \\ &= 0,002 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\ &= 0,7866 \text{ mg} \end{aligned}$$

DPPH sebanyak 0,7866 mg dilarutkan kedalam etanol 96% didalam labu takar 10 ml dan ditandabatkan, kemudian dihomogenkan

1.3.2 Randemen Ekstrak Bekatul

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{berat ekstrak} \times 100\%}{\text{berat sampel}}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Ekstrak Bekatul 1} &= \frac{5,1 \times 100\%}{40} \\ &= 12,75\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Ekstrak Bekatul 2} &= \frac{5,4 \times 100\%}{40} \\ &= 13,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Ekstrak Bekatul 3} &= \frac{5,5 \times 100\%}{40} \\ &= 13,75 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Ekstrak Bekatul 4} &= \frac{5,9 \times 100\%}{40} \\ &= 14,75 \end{aligned}$$

Keterangan:

Bekatul 1= Suhu ruang, inokulum 3 mL

Bekatul 2= Suhu ruang, inokulum 7 mL

Bekatul 3= Suhu 37⁰C, inokulum 3 mL

Bekatul 4= Suhu 37⁰C, inokulum 7 mL

1.3.3 Perhitungan Aktivitas Antioksidan (%)

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Serapan kontrol} - \text{Serapan sampel}}{\text{Serapan kontrol}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} V1T1 &= \frac{(0,2314+0,2321+0,2319) - (0,1311+0,1418+0,1508)}{(0,2314+0,2321+0,2319)} \times 100\% \\ &= 39,0741\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V2T1 &= \frac{(0,8617+0,8590+0,8598) - (0,6206+0,5578+0,5087)}{(0,8617+0,8590+0,8598)} \times 100\% \\ &= 34,6262\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V1T2 &= \frac{(0,4914+0,4134+0,4016) - (0,1128+0,1090+0,1091)}{(0,4914+0,4134+0,4016)} \times 100\% \\ &= 74,5040\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V2T2 &= \frac{(1,6884+0,7057+0,6697) - (0,1014+0,0967+0,0985)}{(1,6884+0,7057+0,6697)} \times 100\% \\ &= 88,5278\% \end{aligned}$$

Keterangan:

V1T1= Suhu ruang, inokulum 3 mL

V2T1= Suhu ruang, inokulum 7 mL

V1T2= Suhu 37⁰C, inokulum 3 mL

V2T2= Suhu 37⁰C, inokulum 7 mL

Lampiran 4. Data SPSS

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
Suhu	1	Suhu Ruang	6
	2	Suhu 37C	6
Inokulum	1	3 ml	6
	2	7 ml	6

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Aktivitas_antioksidan

Suhu	Inokulum	Mean	Std. Deviation	N
Suhu Ruang	3 ml	39.074	4.189	3
	7 ml	34.626	6.439	3
	Total	36.850	5.435	6
Suhu 37C	3 ml	74.504	2.237	3
	7 ml	88.528	4.761	3
	Total	81.516	8.370	6
Total	3 ml	56.789	19.637	6
	7 ml	61.577	29.954	6
	Total	59.183	24.277	12

Levene's Test of Equality of Error Variances^{a,b}

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Aktivitas_antioksidan	Based on Mean	.786	3	8	.534
	Based on Median	.408	3	8	.752
	Based on Median and with adjusted df	.408	3	6.018	.753
	Based on trimmed mean	.759	3	8	.548

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

a. Dependent variable: Aktivitas_antioksidan

b. Design: Intercept + Suhu + Inokulum + Suhu * Inokulum

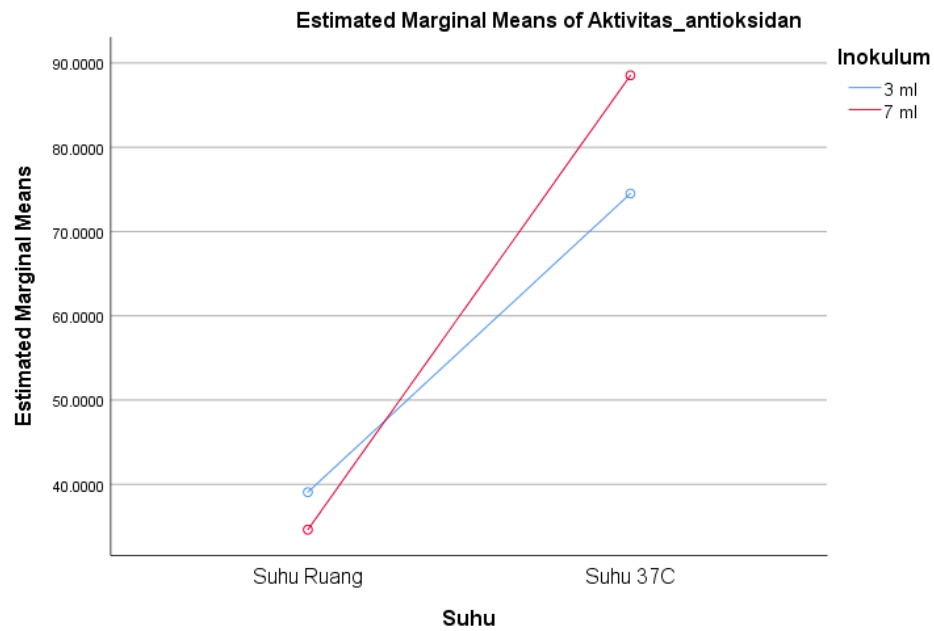
Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Aktivitas_antioksidan

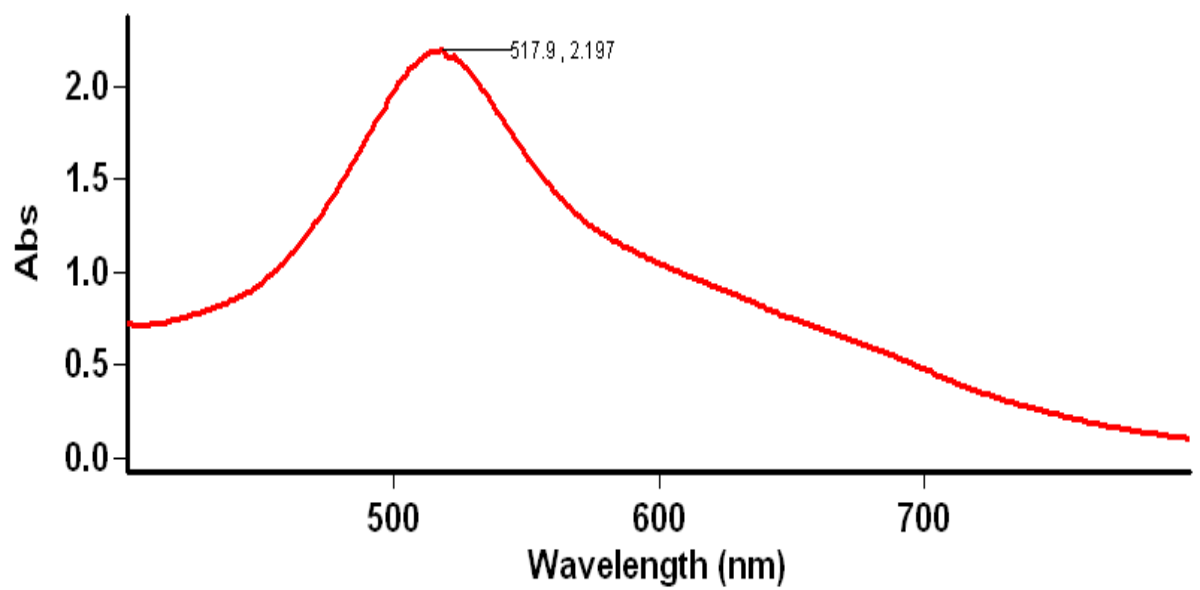
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6309.763 ^a	3	2103.254	97.064	.000
Intercept	42031.636	1	42031.636	1939.743	.000
Suhu	5985.088	1	5985.088	276.209	.000
Inokulum	68.772	1	68.772	3.174	.113
Suhu * Inokulum	255.903	1	255.903	11.810	.009
Error	173.349	8	21.669		
Total	48514.749	12			
Corrected Total	6483.112	11			

a. R Squared = .973 (Adjusted R Squared = .963)

Profile Plots



Lampiran 5. Panjang Gelombang



Lampiran 6. Data Absorbansi

		Triplo			Rata-Rata
		1	2	3	
V1T1	Kontrol	0.2314	0.2321	0.2319	0.2318
	Sampel	0.1311	0.1418	0.1508	0.1412333
	%	43.34486	38.90564	34.97197	39.074157
V2T1	Kontrol	0.8617	0.859	0.8598	0.8601667
	Sampel	0.6206	0.5578	0.5087	0.5623667
	%	27.97958	35.06403	40.83508	34.626227
V1T2	Kontrol	0.4914	0.4134	0.4016	0.4354667
	Sampel	0.1128	0.109	0.1091	0.1103
	%	77.04518	73.63328	72.83367	74.504042
V2T2	Kontrol	1.6884	0.7057	0.6697	1.0212667
	Sampel	0.1014	0.0967	0.0985	0.0988667
	%	93.99431	86.29729	85.29192	88.527843

Absorbansi DPPH Sampel Minyak Bekatul 1

Tanggal Analisa : 26 Agustus 2021

Advanced Reads Report

Report time 8/26/2021 10:35:45 AM

Method

Batch name D:\Hilmiyah\Absorbansi DPPH Sampel Minyak Bekatul
(26-08-2021).BAB

Application Advanced Reads 3.00 (339)

Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50

Instrument version no. 3.00

Wavelength (nm) 517.9

Ordinate Mode	Abs
Ave Time (sec)	0.1000
Replicates	3
Sample averaging	OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1057)	517.9

Analysis

Collection time 8/26/2021 10:35:45 AM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.2315
					0.2312
		0.2314	0.0002	0.08	0.2314
Ulangan 1					0.1300
					0.1327
		0.1311	0.0014	1.06	0.1307
Kontrol					0.2320
					0.2320
		0.2321	0.0001	0.05	0.2322
Ulangan 2					0.1418
					0.1415
		0.1418	0.0003	0.22	0.1421

Kontrol				0.2319
				0.2320
	0.2319	0.0000	0.02	0.2319
Ulangan 3				0.1497
				0.1520
	0.1508	0.0012	0.77	0.1507

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Absorbansi DPPH Sampel Minyak Bekatul 2

Tanggal Analisa : 23 Juli 2021

Advanced Reads Report

Report time	7/23/2021 1:35:00 PM
Method	
Batch name	D:\Hilmiyah\Absorbansi DPPH Sampel Minyak Bekatul (23-07-2021).BAB
Application	Advanced Reads 3.00 (339)
Operator	Rika

Instrument Settings

Instrument	Cary 50
Instrument version no.	3.00
Wavelength (nm)	517.9
Ordinate Mode	Abs
Ave Time (sec)	0.1000

Replicates 3

Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1067)	517.9

Analysis

Collection time 7/23/2021 1:35:00 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.8626
					0.8610
		0.8617	0.0008	0.10	0.8615
Ulangan 1					0.6157
					0.6098
		0.6206	0.0140	2.25	0.6364
Kontrol					0.8585
					0.8594
		0.8590	0.0005	0.05	0.8591
Ulangan 2					0.5568
					0.5554
		0.5578	0.0031	0.55	0.5613
Kontrol					0.8596

				0.8600
	0.8598	0.0002	0.03	0.8596
Ulangan 3				0.5044
				0.5115
	0.5087	0.0038	0.74	0.5102

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Absorbansi DPPH Sampel Minyak Bekatul 3&4

Tanggal Analisa : 13 Agustus 2021

Advanced Reads Report

Report time	8/13/2021 10:13:37 AM
Method	
Batch name	D:\Hilmiyah\Absorbansi DPPH Sampel Minyak Bekatul 1 (13-08-2021).BAB
Application	Advanced Reads 3.00 (339)
Operator	Rika

Instrument Settings

Instrument	Cary 50
Instrument version no.	3.00
Wavelength (nm)	517.9
Ordinate Mode	Abs
Ave Time (sec)	0.1000
Replicates	3

Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1220)	517.9

Analysis

Collection time 8/13/2021 10:13:37 AM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.4817
					0.4911
		0.4914	0.0098	2.00	0.5014
Ulangan 1					0.1126
					0.1123
		0.1128	0.0006	0.51	0.1134
Kontrol					0.4204
					0.4081
		0.4134	0.0064	1.54	0.4116
Ulangan 2					0.1092
					0.1091
		0.1090	0.0002	0.21	0.1088

Kontrol				0.4011
				0.4022
	0.4016	0.0006	0.15	0.4014
Ulangan 3				0.1091
				0.1090
	0.1091	0.0001	0.06	0.1091
Kontrol				1.6762
				1.7085
	1.6884	0.0175	1.04	1.6804
Ulangan 1				0.1016
				0.1015
	0.1014	0.0002	0.20	0.1012
Kontrol				0.6989
				0.7066
	0.7057	0.0064	0.90	0.7116
Ulangan 2				0.0967
				0.0968
	0.0967	0.0001	0.06	0.0967
Kontrol				0.6679
				0.6685
	0.6697	0.0026	0.39	0.6727

Ulangan 3				0.0984
				0.0986
	0.0985	0.0001	0.12	0.0985

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

1.7.1 Preparasi Sampel



1.7.2 Regenerasi Jamur *Rhizopus oryzae*



1.7.3 Fermentasi Bekatul



1.7.4 Ekstraksi Ekstrak Bekatul



1.7.5 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH



1.7.6 Pengukuran Panjang Gelombang

