

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS
ANTIBAKTERI BEKATUL BERAS MERAH TERFERMENTASI *Rhizopus
oryzae* DALAM MENGHAMBAT BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN
*Escherichia coli***

SKRIPSI

**Oleh:
AISYAH AINUR RACHMA
NIM. 17630083**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS
ANTIBAKTERI BEKATUL BERAS MERAH TERFERMENTASI *Rhizopus
oryzae* DALAM MENGHAMBAT BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN
*Escherichia coli***

SKRIPSI

**Oleh:
AISYAH AINUR RACHMA
NIM. 17630083**

**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
2022**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS
ANTIBAKTERI BEKATUL BERAS MERAH TERFERMENTASI *Rhizopus
oryzae* DALAM MENGHAMBAT BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN
*Escherichia coli***

SKRIPSI

**Oleh:
AISYAH AINUR RACHMA
NIM. 17630083**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 9 November 2022**

Pembimbing I



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

Pembimbing II



**Susi Nurul Khalifah, M.Si
NIP. 19851020 201903 2 012**

**Mengetahui,
Ketua Program Studi**



**Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810814 200801 2 010**

**PENGARUH LAMA FERMENTASI TERHADAP AKTIVITAS
ANTIBAKTERI BEKATUL BERAS MERAH TERFERMENTASI *Rhizopus
oryzae* DALAM MENGHAMBAT BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN
*Escherichia coli***

SKRIPSI

Oleh:
AISYAH AINUR RACHMA
NIM. 17630083

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 9 November 2022

Penguji Utama : Ahmad Ghanaim Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

Ketua Penguji : Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P
NIDT. 19760105 20180201 2 248

Sekretaris Penguji : Dr. Akyunul Jannah, S.Si.,M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Anggota Penguji : Susi Nurul Khalifah, M.Si
NIP. 19851020 201903 2 012

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi



Rachmawati Angsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

...

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Aisyah Ainur Rachma
NIM : 17630083
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Antibakteri Bekatul Beras Merah Terfermentasi *Rhizopus oryzae* dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai 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 konsekuensi atas perbuatan tersebut.

Malang, 23 Desember 2022

Yang membuat pernyataan,



Aisyah Ainur Rachma
NIM. 17630083

HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orang tua saya, Bapak Dhany Satria Indra P. dan Ibu Dwi Pujiastuti yang senantiasa memberikan nasihat, dukungan, doa-doa, perhatian dan kasih sayang yang tiada henti kepada penulis. Kepada kedua adik penulis, M. Fikri Hakim dan Aliya Nurul Haq yang telah menghibur dan memberi dukungan. Kepada seluruh dosen Prodi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, khususnya pembimbing saya Ibu Dr. Akyunul Jannah S. Si, M. P dan Ibu Dr. Anik Maunatin S. T, M. P yang telah membimbing dan memberikan ilmu-ilmu yang berharga kepada penulis, serta kepada teman-teman penulis yang telah menemani dalam suka dan duka.

MOTTO

“Apapun yang kamu lalui, tetaplah bersabar, lakukan yang terbaik, dan jangan menyerah, karena tidak ada siapapun yang dapat mengubah hidupmu selain Tuhan dan dirimu sendiri.”

“Be Kind, Be Humble, Be Love”

-SM TOWN-

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Yang Maha Penyayang, atas limpahan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya penulis dapat menyusun skripsi yang berjudul **“Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Antibakteri Bekatul Beras Merah Terfermentasi *Rhizopus oryzae* dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”** dengan maksimal, walaupun masih jauh dari kesempurnaan. Semoga apa yang penulis upayakan ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Sholawat serta salam akan selalu tercurah limpahkan kepada junjungan kita Nabi yang Agung dan suri tauladan terbaik yaitu Nabi Muhammad SAW. Selama proses penyusunan skripsi ini penulis mendapat banyak bimbingan, nasihat, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penyusun mengucapkan terima kasih kepada:

1. Orang tua penulis, Bapak Dhany Satria Indra P. dan Ibu Dwi Pujiastuti yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan, serta keluarga besar penyusun.
2. Ibu Rachmawati Ningsih, M. Si selaku ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S. Si, M. P selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi dengan baik.
4. Ibu Dr. Anik Maunatin, S. T, M. P selaku dosen wali dan pembimbing yang telah memberikan ilmu, bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penulis

dalam menyelesaikan studi dan skripsi dengan baik.

5. Ibu Susi Nurul Khalifah, M. Si selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi dengan baik.
6. Bapak dan Ibu dosen Prodi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, dan nasehat yang bermanfaat bagi penulis.
7. Seluruh staf laboran dan administrasi yang telah banyak membantu penulis selama menempuh studi dan menyelesaikan penelitian.
8. Seluruh teman-teman kimia angkatan 2017 (Neon), khususnya teman-teman lab. biokimia dan Sauna
9. Seluruh idol girl group dan boy group K-pop, terkhusus Red velvet, Blackpink, Aespa, TXT, dll yang telah menemani penulis dalam pengerjaan tugas akhir dengan karya-karyanya.

Teriring do'a dan harapan semoga apa yang telah mereka berikan kepada penyusun, mendapatkan balasan yang lebih baik dari Allah SWT. Penulis menyadari atas terbatasnya ilmu yang penyusun miliki naskah skripsi ini tentu jauh dari kesempurnaan. Untuk itu penulis dengan senang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Terlepas dari segala kekurangan, semoga skripsi ini dapat memberikan informasi dan kontribusi positif serta bermanfaat bagi kita semua, Aamiin.

Malang, 15 Oktober 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBARAN PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Batasan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tanaman dalam Perspektif Al-Qur'an	7
2.2 Bekatul.....	9
2.3 Ekstraksi Maserasi.....	13
2.4 Fermentasi	16
2.5 Uji Fitokimia	21
2.5.1 Uji Fenolik	21
2.5.2 Uji Saponin	22
2.5.3 Uji Flavonoid.....	22
2.5.4 Uji Steroid/Triterpenoid	23
2.5.5 Uji Alkaloid	24
2.6 Kapang <i>R. oryzae</i>	25
2.7 Bakteri	28
2.7.1 Bakteri <i>S. aureus</i>	30
2.7.2 Bakteri <i>E. coli</i>	31
2.8 Media.....	32
2.8.1 <i>Potato Dextrose Agar (PDA)</i>	32
2.8.2 <i>Nutrient Agar (NA)</i>	33
2.8.3 <i>Nutrient Broth (NB)</i>	33
2.9 Antibakteri.....	33
2.10 Uji Antibakteri.....	38
2.10.1 Metode Difusi	38
2.10.2 Metode Dilusi	39

BAB III METODE PENELITIAN	41
3.1 Waktu dan Tempat	41
3.2 Alat dan Bahan	41
3.2.1 Alat	41
3.2.2 Bahan	41
3.3 Rancangan Penelitian	42
3.4 Tahapan Penelitian	43
3.5 Prosedur Penelitian.....	43
3.5.1 Sterilisasi Alat.....	43
3.5.2 Stabilisasi Bekatul	44
3.5.3 Pembuatan Media	44
3.5.3.1 <i>Nutrient Agar</i> (NA)	44
3.5.3.2 <i>Nutrient Broth</i> (NB).....	44
3.5.3.3 <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	45
3.5.4 Regenerasi Kapang <i>R. oryzae</i>	45
3.5.5 Regenerasi Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	45
3.5.6 Inokulum Kapang <i>R. oryzae</i>	46
3.5.7 Inokulum Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	46
3.5.8 Fermentasi Bekatul	46
3.5.9 Ekstraksi Bekatul Terfermentasi.....	47
3.5.10 Uji Fitokimia Ekstrak Bekatul Secara Kualitatif	47
3.5.10.1 Uji Fenolik.....	47
3.5.10.2 Uji Saponin.....	47
3.5.10.3 Uji Flavonoid.....	48
3.5.10.4 Uji Steroid/Triterpenoid	48
3.5.10.5 Uji Alkaloid.....	48
3.5.11 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bekatul Terfermentasi	49
3.5.12 Analisis Data.....	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	50
4.1 Preparasi Sampel	50
4.2 Pembuatan Media Potato Dextrose Agar (PDA), Nutrient Agar (NA), dan Nutrient Broth (NB).....	51
4.3 Regenerasi <i>R. oryzae</i>	52
4.4 Pembuatan Inokulum <i>R. oryzae</i>	52
4.5 Regenerasi Bakteri <i>S.aureus</i> dan <i>E.coli</i>	53
4.6 Pembuatan Inokulum <i>S.aureus</i> dan <i>E.coli</i>	54
4.7 Fermentasi Bekatul Beras Merah dengan Variasi Lama Fermentasi	54
4.8. Ekstraksi Bekatul Terfermentasi	57
4.9 Uji Fitokimia Ekstrak Bekatul Secara Kualitatif.....	60
4.9.1 Uji Senyawa Fenolik	62
4.9.2 Uji Senyawa Saponin.....	63
4.9.3 Uji Senyawa Flavonoid	63
4.9.4 Uji Senyawa Steroid/Triterpenoid	65
4.9.5 Uji Senyawa Alkaloid.....	67
4.10 Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bekatul Terfermentasi dengan Metode Difusi Agar	68

BAB V PENUTUP	77
5.1 Kesimpulan.....	77
5.2 Saran.....	77
DAFTAR PUSTAKA	78

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Fase Pertumbuhan Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	29
Tabel 2.2 Kekuatan Daya Hambat Zat Antibakteri	39
Tabel 4.1 Rendemen Ekstrak Bekatul Beras Merah.....	58
Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Bekatul Beras Merah Terfermentasi dan Tanpa Fermentasi.....	61
Table 4.3 Rata-Rata Zona Hambat Uji Antibakteri Ekstrak Bekatul Beras pada Berbagai Variasi Lama Fermentasi (Konsentrasi 500 mg/ml) terhadap <i>S. aureus</i>	72
Table 4.4 Rata-Rata Zona Hambat Uji Antibakteri Ekstrak Bekatul Beras pada Berbagai Variasi Lama Fermentasi (Konsentrasi 500 mg/ml) terhadap <i>E. coli</i>	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bagian-Bagian Padi	9
Gambar 2.2 Skema Senyawa Bioaktif Terikat pada Dinding Sel Tumbuhan	19
Gambar 2.3 Reaksi Degradasi Dinding Sel Tumbuhan	19
Gambar 2.4 Senyawa Fenolik	22
Gambar 2.5 Senyawa Saponin.....	22
Gambar 2.6 Senyawa Flavonoid	23
Gambar 2.7 Senyawa Steroid	23
Gambar 2.8 Senyawa Triterpenoid.....	24
Gambar 2.9 Senyawa Alkaloid.....	25
Gambar 2.10 Kapang <i>R. oryzae</i>	25
Gambar 2.11 Kurva Pertumbuhan Kapang <i>R. oryzae</i>	27
Gambar 2.12 Bakteri <i>S. aureus</i>	30
Gambar 2.13 Bakteri <i>E. coli</i>	32
Gambar 2.14 Pengamatan Zona Hambat Bakteri	39
Gambar 4.1 Hasil Regenerasi Kapang <i>R. oryzae</i>	52
Gambar 4.2 Inokulum <i>R. oryzae</i>	53
Gambar 4.3 Inokulum Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	54
Gambar 4.4 Hasil Fermentasi Bekatul dengan Kapang <i>R. oryzae</i>	57
Gambar 4.5 Ekstrak Bekatul Beras Merah Terfermentasi <i>R. oryzae</i>	60
Gambar 4.6 Reaksi Senyawa Fenolik.....	62
Gambar 4.7 Reaksi Senyawa Saponin.....	63
Gambar 4.8 Reaksi Senyawa Flavonoid.....	65
Gambar 4.9 Reaksi Senyawa Steroid dengan Pereaksi Liebermann-Burchard.....	66
Gambar 4.10 Reaksi Senyawa Terpenoid dengan Pereaksi Liebermann-Burchard	67
Gambar 4.11 Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Meyer	68
Gambar 4.12 Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Dragendorff	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Tahapan Penelitian.....	95
Lampiran 2. Diagram Alir.....	96
Lampiran 3. Pembuatan Larutan dan Reagen	106
Lampiran 4. Data Hasil Penelitian	109
Lampiran 5. Data SPSS Rendemen Ekstrak.....	111
Lampiran 6. Data SPSS Zona Hambat Antibakteri <i>S. aureus</i>	112
Lampiran 7. Data SPSS Zona Hambat Antibakteri <i>E. coli</i>	113
Lampiran 8. Dokumentasi Penelitian	114

ABSTRAK

Rachma, Aisyah Ainur. 2022. **Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Antibakteri Bekatul Beras Merah Terfermentasi *Rhizopus oryzae* dalam Menghambat Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***. Proposal Penelitian. 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: Susi Nurul Khalifah, M. Si

Kata Kunci: Bekatul, fermentasi, *Rhizopus oryzae*, antibakteri

Bekatul merupakan hasil samping dari proses penggilingan padi yang kaya akan nutrisi dan senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan lain sebagainya. Pada bekatul beras berpigmen seperti bekatul beras merah lebih kaya kandungan senyawa bioaktifnya karena terdapat senyawa antosianin. Banyaknya komponen bioaktif yang terdapat pada bekatul beras merah menjadikannya berpotensi sebagai antibakteri. Fermentasi dengan kapang *Rhizopus oryzae* dapat meningkatkan kandungan senyawa aktif pada bekatul. Tujuan dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh variasi lama fermentasi terhadap daya aktivitas antibakteri dari bekatul beras merah yang difermentasi dengan *Rhizopus oryzae*. Bekatul beras merah varietas Inpari 24 dipreparasi dan difermentasi dengan variasi lama fermentasi 3, 4, 5, dan 6 hari pada suhu 37° C. Bekatul hasil fermentasi diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol p.a. Ekstrak bekatul yang didapat selanjutnya dianalisis aktivitas antibakterinya dengan metode difusi agar. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Hasil rata-rata rendemen ekstrak terbesar diperoleh pada ekstrak dengan variasi fermentasi 6 hari sebesar 14,96 %. Hasil rata-rata zona hambat antibakteri terbesar adalah pada ekstrak dengan variasi fermentasi 5 hari, yaitu 2,53 mm untuk *S. aureus* dan 3,9 mm untuk *E. coli*. Hasil skrining fitokimia ekstrak bekatul terfermentasi 5 hari menunjukkan positif senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid dengan intensitas tinggi, serta positif steroid dengan intensitas rendah. Berdasarkan hasil uji statistik *One way* (ANOVA) didapatkan bahwa variasi lama fermentasi memberikan pengaruh nya terhadap zona hambat yang dihasilkan pada uji aktivitas antibakteri *S. aureus* dan *E.coli*.

ABSTRACT

Rachma, Aisyah Ainur. 2022. **Effect of Fermentation Time on Antibacterial Activity of *Rhizopus oryzae* Fermented Red Rice bran in Inhibiting *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.** Research proposal. Chemistry Study Program, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang. Advisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P; Advisor II: Susi Nurul Khalifah, M.Si

Keyword: Rice Bran, fermentation, *Rhizopus oryzae*, antibacterial

Rice bran is a by-product of the rice milling process which is rich in nutrients and bioactive compounds such as flavonoids, alkaloids, triterpenoids, and others. Pigmented rice bran such as red rice bran contains more abundant bioactive compounds because there are anthocyanin compounds. The abundance of bioactive components found in red rice bran can be used as an antibacterial. Fermentation with *Rhizopus oryzae* can increase the content of active compounds in rice bran. The purpose of the study was to determine the effect of variations in fermentation time on the antibacterial activity of red rice bran fermented with *Rhizopus oryzae*. Red rice bran variety Inpari 24 was prepared and fermented with variations in fermentation time of 3, 4, 5, and 6 days at 37° C. Fermented rice bran was extracted by maceration method using ethanol p.a solvent. The bran extract obtained was then analyzed for its antibacterial activity using the agar diffusion method. The test bacteria used were *S. aureus* and *E. coli*.

The average yield of the largest extract was obtained from the extract with a 6-day fermentation variation of 14.96%. The average result of the largest antibacterial inhibition zone was in the 5-day fermentation variation extract with an inhibition zone of 2.53 mm for *S. aureus* and 3.9 mm for *E. coli*. The results of phytochemical screening of fermented bran extract for 5 days were positive for phenolic compounds, flavonoids, and terpenoids with high intensity, and positive for steroids with low intensity. Based on the results of the One way statistical test (ANOVA) it was found that the variation in fermentation time had an effect on the inhibition zone produced in the antibacterial activity test of *S. aureus* and *E. coli*.

ملخص البحث

رحمة، عائشة عيّنور. ٢٠٢٢. تأثير زمن التخمير على النشاط المضاد للبكتيريا لنخالة الأرز البني *Rhizopus oryzae* في تثبيط بكتيريا العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) و الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*). البحث الجامعي . برنامج دراسة الكيمياء بكلية العلوم والتكنولوجيا مولانا مالك إبراهيم الدولة الإسلامية جامعة مالانج. المستشار الأول: الدكتور أعين الجنة ؛ المستشار الثاني: سوسي نور الخليفة ، الماجستير

الكلمات المفتاحية: نخالة الأرز ، التخمير مضاد للجراثيم، *Rhizopus oryzae*

نخالة الأرز هي منتج ثانوي لعملية طحن الأرز وهي غنية بالمواد المغذية والمركبات النشطة بيولوجيًا مثل الفلافونويد والفويدات و triterpenoids وما إلى ذلك. تعتبر نخالة الأرز الملونة مثل نخالة الأرز البني أكثر ثراءً في المركبات النشطة بيولوجيًا لأنها تحتوي على مركبات الأنتوسيانين. العديد من المكونات النشطة بيولوجيًا الموجودة في نخالة الأرز البني تجعلها محتملة كمضاد للبكتيريا. يمكن أن يؤدي التخمير بالفطر *Rhizopus oryzae* إلى زيادة محتوى المركبات النشطة في نخالة الأرز. كان الغرض من الدراسة هو تحديد تأثير التغيرات في وقت التخمير على النشاط المضاد للبكتيريا لنخالة الأرز البني المخمر مع *Rhizopus oryzae*. نخالة الأرز البني من صنف Inpari ٢٤ المحضر والمخمر مع التنوعات وقت التخمير ٣ و ٤ و ٥ و ٦ أيام عند ٣٧ درجة مئوية. نخالة الأرز المخمرة المستخلص بطريقة النقع باستخدام الإيثانول كمذيب تم تحليل مستخلص النخالة الناتج عن نشاطه المضاد للبكتيريا من خلال طريقة انتشار أجار. وكانت بكتيريا الاختبار المستخدمة هي العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) و الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)

تم الحصول على متوسط إنتاج أكبر مستخلص من المستخلص مع زمن تخمير 6 أيام بنسبة ١٤,٩٦٪. كان متوسط إنتاج أكبر منطقة تثبيط مضاد للبكتيريا في المستخلص مع زمن تخمير لمدة 5 أيام ، وهو ٢,٥٣ ملليمتر للعنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) و ٣,٩٠ ملليمتر للإشريكية القولونية (*Escherichia coli*). كانت نتائج الفحص الكيميائي النباتي لمستخلص النخالة المخمرة لمدة 5 أيام إيجابية للمركبات الفينولية والفلافونويد والتربينويدات بكثافة عالية وإيجابية للسيتروبيدات منخفضة الشدة. بناءً على نتائج الاختبار الإحصائي أحادي الاتجاه (ANOVA) ، وجد أن الاختلاف في وقت التخمير له تأثير على منطقة التثبيط الناتجة في اختبار النشاط المضاد للبكتيريا العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*) و الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Bekatul (*Bran*) adalah suatu lapisan dari kulit beras yang diperoleh dari hasil samping penggilingan beras atau penumbukan gabah menjadi beras (Astawan *et.al*, 2010). Persentase bekatul yang diperoleh dari proses penggilingan padi bisa mencapai 8-12 % (Utami, 2009). Indonesia merupakan salah satu negara penghasil bekatul tertinggi. Menurut Berita Resmi Statistik No.77/10/Th.XXIV, produksi beras di Indonesia tahun 2021 mencapai 55, 27 ton gabah kering giling yang mana mengalami kenaikan 1,14 % dibanding tahun 2020.

Jenis padi di Indonesia bermacam-macam, ada padi dengan beras putih, padi dengan beras merah, dan padi dengan beras hitam (Pradani *et.al*, 2021). Beras putih adalah beras yang banyak dikonsumsi sebagai makanan pokok utama. Namun saat ini, banyak masyarakat Indonesia yang beralih ke beras merah sebagai sumber karbohidrat karena gizi-nya lebih melimpah dibandingkan beras putih. Meningkatnya konsumsi beras merah di Indonesia menyebabkan bekatul yang dihasilkan dari hasil samping penggilingannya juga melimpah. Namun, hingga saat ini pemanfaatan bekatul beras merah oleh masyarakat Indonesia hanya sebatas untuk pakan ternak. Faktanya bekatul beras merah sebenarnya sangat baik dikonsumsi oleh manusia karena memiliki kandungan senyawa bioaktif.

Bekatul mengandung senyawa bioaktif seperti γ -oryzanol, asam ferulat, asam kafeat, triclin, asam kumarat, dan karotenoid yang baik untuk kesehatan tubuh (Tuarita, 2017). Bekatul beras berpigmen seperti bekatul beras merah mengandung senyawa antosianin yang melimpah. Menurut Nomer *et.al* (2019), senyawa antosianin kaya akan manfaat bagi kesehatan tubuh karena memiliki

aktivitas sebagai antiinflamasi, antioksidan, antikanker, dan antibakteri. Beberapa unit fitokimia yang terkandung dalam bekatul telah diuji lebih lanjut untuk pengembangan *nutraceutical* untuk kanker, diabetes tipe 2, obesitas, regulasi metabolisme lipid, dan proses pengaturan imun (Zarei *et.al*, 2017). Senyawa fenolik yang terdapat pada bekatul diketahui juga dapat menghambat aktivitas dari beberapa bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Hikmah, 2018).

Melimpahnya manfaat dari bekatul adalah salah satu bukti bahwa Allah SWT menciptakan segala sesuatu di bumi sebagai nikmat untuk manusia. Semua yang diciptakan Allah pasti memiliki fungsi dan manfaat bagi kehidupan. Manusia diberikan akal untuk memikirkan bagaimana cara memanfaatkan nikmat-nikmat Allah dengan sebaik-baiknya. Allah SWT berfirman dalam Q.S. Ali Imran ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ۚ ۱۹۰ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقَعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ۱۹۱

“*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 menjelaskan bahwa segala sesuatu yang diciptakan Allah di dunia tidaklah sia-sia. Manusia sebagai makhluk yang berakal ditugaskan untuk berpikir, belajar, meneliti, berinovasi, dan memanfaatkan sebaik mungkin sumber daya yang ada di dunia sebagai bentuk rasa syukur kepada Allah SWT. Seperti halnya bekatul yang merupakan hasil samping dari penggilingan padi dan

seringkali dianggap limbah oleh masyarakat ternyata kaya akan senyawa bioaktif sehingga baik bagi kesehatan manusia dan dapat digunakan sebagai antibakteri.

Antibakteri merupakan suatu zat yang dapat mempengaruhi kelangsungan hidup bakteri dengan cara menghambat pertumbuhannya atau dengan cara membunuhnya (Abidin, 2018). Perolehan senyawa antibakteri dapat dilakukan secara alami atau melalui modifikasi molekul biosinetik (Awaliah, 2020). Menurut Kristiani *et.al* (2015), senyawa bahan alam yang berpotensi sebagai senyawa antibakteri adalah senyawa fenolik, polifenol, flavon, flavonoid, tanin, kumarin, terpenoid, alkanoid, lektin, dan polipeptida. Senyawa bioaktif pada bekatul yang diduga memiliki aktivitas antibakteri adalah senyawa fenolik seperti alkaloid, saponin, tanin, dan steroid (Hikmah, 2018). Sari *et.al* (2018), melaporkan bahwa penambahan ekstrak dedak padi dengan konsentrasi 10% pada sabun cair, dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 21 mm. Konsentrasi, jenis, dan banyaknya kandungan senyawa bioaktif dalam ekstrak menjadi salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kemampuan antibakteri dalam memberikan daya hambat terhadap bakteri merugikan (Sari, 2018). Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk memperkaya kandungan senyawa bioaktif suatu bahan adalah dengan fermentasi.

Fermentasi pada bekatul adalah suatu proses yang dapat dilakukan dalam rangka meningkatkan senyawa bioaktif pada bekatul dengan melibatkan bantuan dari mikroorganisme (Kurniati, 2017). Senyawa bioaktif pada bekatul tersedia dalam bentuk terikat dengan matriks dinding sel bekatul, sehingga diperlukan proses fermentasi bekatul untuk membebaskan senyawa bioaktif agar dapat diekstrak. Selama proses fermentasi bekatul, asam fenolat meningkat karena

adanya peristiwa pemecahan kompleks senyawa penyusun dinding sel kulit padi dengan lignin oleh mikroorganisme (Endrawati *et.al*, 2017). Faizah *et.al* (2020), menyatakan bahwa fermentasi bekatul selama 72 jam dapat meningkatkan total senyawa fenolik hingga 19,76%.

Mikroorganisme yang membantu proses fermentasi memiliki banyak jenis, salah satunya adalah kapang. Fermentasi menggunakan kapang dapat meningkatkan pencernaan nutrisi pada bekatul dan meningkatkan ketersediaan senyawa bioaktif pada bekatul (Faizah *et.al*, 2020). Menurut Martins *et.al* (2011), kapang memiliki dua sistem enzim ekstraseluler yaitu, hidrolitik yang menghasilkan hidrolase untuk mendegradasi polisakarida, dan sistem enzim lignolitik oksidatif yang mampu mendegradasi lignin dan cincin fenil pada dinding sel tumbuhan, sehingga kandungan fenolik bebas meningkat.

Jenis kapang yang dapat digunakan untuk proses fermentasi bekatul ada berbagai macam, salah satunya adalah kapang *Rhizopus oryzae*. Kelebihan dari *Rhizopus oryzae* dalam fermentasi bekatul yaitu dapat menghasilkan enzim lipase intraseluler dan ekstraseluler, memiliki aktivitas amilase tinggi untuk *amyloprocess* (Yosi, *et.al*. 2014), serta memiliki kemampuan untuk menghidrolisis serat selulosa menjadi rantai oligosakarida sederhana, sehingga senyawa bioaktif yang terdapat diantara serat selulosa bekatul mudah terlepas (Wahzudin, 2020). Kapang *Rhizopus oryzae* mampu menghasilkan enzim protease yang dapat mengubah protein menjadi suatu peptida yang bersifat bioaktif sehingga dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri dan antibiotik (Endrawati, *et.al*, 2017).

Kemampuan suatu antibakteri bergantung pada total senyawa bioaktif yang terkandung dalam suatu bahan (Wiyanto, 2010). Semakin tinggi konsentrasi dan komposisi senyawa bioaktif pada ekstrak tumbuhan, maka aktivitas antibakteri-nya akan semakin besar (Haslina *et.al*, 2017). Waktu fermentasi menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kadar senyawa bioaktif pada bahan sehingga berpengaruh terhadap kadar senyawa bioaktif pada ekstrak dan aktivitasnya sebagai antibakteri. Menurut Kurniati (2017), bekatul yang difermentasi dengan *Rhizopus oryzae* CCT 1217 selama 120 jam dapat meningkatkan senyawa fenolik hingga 112% dibandingkan fermentasi selama 96 jam. Bekatul terfermentasi *Rhizopus oryzae* dengan lama fermentasi 5 hari mampu meningkatkan aktivitas antioksidan hingga 13,37% dibandingkan bekatul tanpa fermentasi (Fikriyah, 2018). Menurut penelitian Jannah *et.al* (2020), hasil skrining fitokimia dan zona hambat antibakteri ekstrak etanol bekatul terfermentasi 5 hari memiliki intensitas yang besar dibandingkan ekstrak bekatul tanpa fermentasi, dimana zona hambat terhadap bakteri *Salmonella typhi* ekstrak bekatul terfermentasi 5 hari dapat mencapai 13,03 mm.

Penelitian yang membahas mengenai aktivitas antibakteri bekatul beras merah masih sangat jarang untuk saat ini. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai bekatul beras merah yang difermentasi dengan variasi lama fermentasi menggunakan kapang *Rhizopus oryzae* dan diuji aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Hal ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi terhadap aktivitas antibakteri dari bekatul beras merah yang difermentasi dengan *Rhizopus oryzae*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam meningkatkan upaya kesehatan bagi masyarakat Indonesia.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh variasi lama fermentasi terhadap aktivitas antibakteri bekatul beras merah yang difermentasi dengan *Rhizopus oryzae* dalam menghambat aktivitas bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*?

1.3. Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh variasi lama fermentasi terhadap aktivitas antibakteri bekatul beras merah yang difermentasi dengan *Rhizopus oryzae* dalam menghambat aktivitas bakteri *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.4. Batasan Penelitian

1. Sampel yang digunakan adalah bekatul beras merah varietas Inpari 24.
2. Bakteri uji yang digunakan adalah *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
3. Analisis aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar.

1.5. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai pengaruh variasi lama fermentasi terhadap aktivitas antibakteri bekatul beras merah terfermentasi *Rhizopus oryzae* dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman dalam Perspektif Al-Qur'an

Tanaman merupakan salah satu nikmat yang diciptakan Allah SWT untuk manusia. Allah SWT menciptakan dunia ini lengkap dengan semua sumber dayanya, baik yang bersifat biotik maupun abiotik. Salah satu sumber daya biotik adalah tanaman dengan berbagai macam jenis yang dapat dimanfaatkan untuk kehidupan manusia. Semua yang diciptakan Allah SWT di dunia ini tidaklah sia-sia. Semuanya memiliki tujuan dan manfaat masing-masing seperti halnya bekatul. Bekatul merupakan bagian dari tanaman padi yang biasa dianggap limbah oleh masyarakat sehingga penggunaannya masih belum maksimal. Hal ini sangat disayangkan karena jika dikaji lebih lanjut, bekatul merupakan bahan yang sangat bermanfaat bagi kehidupan karena memiliki kandungan gizi yang tinggi. Allah SWT berfirman dalam Q.S. Asy-Syu'ara ayat 7:

۷—أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: *“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?”*

Menurut tafsir Kemenag (2010), ayat tersebut berisi perintah Allah SWT kepada manusia untuk belajar dari alam, untuk menggunakan akalanya sebaik mungkin untuk berpikir, mengkaji, meneliti, dan memanfaatkan segala sumber daya yang ada di dunia ini. Allah SWT menjadikan hamparan bumi banyak ditumbuhi tumbuhan dengan berbagai jenis dan khasiat, salah satunya sebagai obat. Bekatul memiliki kandungan senyawa bioaktif yang melimpah sehingga dapat berpotensi sebagai obat. Senyawa bioaktif yang terkandung dalam bekatul

diketahui memiliki aktivitas antibakteri sehingga dapat menghambat bakteri patogen yang dapat merugikan manusia. Wasito (2008) melaporkan, pada sebuah hadits Rasulullah SAW bersabda:

" فِي الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ شِفَاءٌ مِنْ كُلِّ دَاءٍ إِلَّا السَّامَ "

Artinya: “*Dalam habbat al-Saudaa terdapat penawar untuk setiap penyakit, kecuali al-Saam (mati)*” (H.R. Bukhari).

Hadits tersebut menjelaskan bahwa setiap penyakit kecuali kematian memiliki obat untuk mengatasinya. Tanaman biji-bijian seperti habattussauda dapat menjadi penawar berbagai penyakit karena mengandung banyak senyawa bioaktif yang baik bagi tubuh (Amanulloh *et.al*, 2019). Hal tersebut juga didukung oleh Rizal (2020) yang mengatakan bagian tumbuhan seperti buah, biji, daun, bunga, batang, dan akar dapat digunakan sebagai sumber obat untuk manusia.

Allah SWT berfirman dalam 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 (الأنعام: ٩٩)

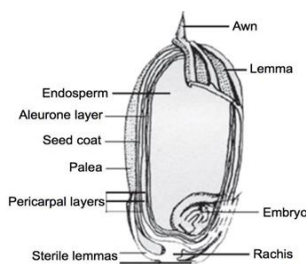
Artinya: “*Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai 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.*

Menurut Shihab (2006) ayat tersebut menjelaskan tentang kuasa Allah SWT yang menurunkan hujan sehingga berbagai jenis tumbuhan seperti zaitun dan delima yang serupa dan tidak serupa (memiliki ciri morfologi masing-masing) tumbuh dengan baik. Husni (2017) menambahkan bahwa ayat tersebut

memerintahkan manusia untuk mengkaji lebih dalam tentang morfologi tumbuhan, seperti zaitun dan delima yang bentuk daunnya memiliki kemiripan tetapi rasa, kandungan, dan sifat buahnya berbeda. Begitu juga dengan bekatul, selain terdapat bekatul beras putih, terdapat juga bekatul dari beras berpigmen seperti bekatul beras merah dan hitam. Meskipun semuanya merupakan bekatul beras, tetapi kandungan senyawa fenolik pada bekatul dari beras berpigmen lebih tinggi daripada bekatul beras putih (Tuarita *et.al*, 2017).

2.2. Bekatul

Bekatul (*Rice bran*) merupakan hasil samping dari penggilingan padi yang letaknya diantara butir beras dan kulit padi yang berwarna coklat (Sukma *et.al*, 2010). Terdapat dua tahapan pada proses penggilingan gabah, dimana pada tahap pertama terjadi proses pemisahan kulit luar dan biji padi menghasilkan beras coklat dan sekam. Sedangkan pada tahap kedua, terjadi proses penggilingan beras coklat menjadi beras putih dan menghasilkan hasil samping berupa bekatul (Putrawan *et.al*, 2017). Dedak padi terdiri atas perikarp dan lembaga, sedangkan bekatul terdiri atas kulit ari (aleurone) dan sejumlah kecil endosperma (Nurtiana *et.al*, 2018). Di Indonesia, pada umumnya proses penggilingan padi hanya berlangsung sekali saja, sehingga hasil samping dari proses tersebut bercampur menjadi satu dan disebut dedak padi atau bekatul padi saja (Nadiyah *et.al*, 2005). Berikut adalah **Gambar 2.1** yang menunjukkan struktur dari padi.



Gambar 2.1 Bagian-bagian padi (Tuarita *et.al*, 2017)

Menurut data dari Badan Pusat Statistik (2020), Indonesia mengalami luas panen padi pada tahun 2020 sebesar 10,79 juta hektar dengan produksi sebesar 55,16 ton gabah kering giling. Jika hasil tersebut dikonversikan menjadi beras, maka dapat diperkirakan jumlah konsumsi beras penduduk Indonesia mencapai 31,63 juta ton. Nilai tersebut merupakan jumlah yang sangat besar, sehingga dapat dipastikan bahwa bekatul yang dihasilkan dari proses produksi beras di Indonesia sangat melimpah keberadaannya. Menurut Estiasih *et.al* (2021) sekitar 8% dari berat padi adalah bekatul, sehingga banyaknya bekatul di Indonesia dapat mencapai 2.152.800 ton. Namun, melimpahnya jumlah bekatul yang terdapat di Indonesia tidak diimbangi dengan pemanfaatannya secara maksimal. Pemanfaatan bekatul selama ini hanya sebatas sebagai pakan ternak. Padahal jika dilihat kandungan gizi dan komposisi kimianya, bekatul sangat potensial dimanfaatkan secara optimal meskipun bekatul merupakan hasil samping proses penggilingan beras (Nadiyah *et.al*, 2005).

Menurut Luthfianto *et.al* (2017), bekatul kaya akan komponen gizi, yaitu protein (13,11-17,19%), lemak (2,52-5,05%), karbohidrat (67,58-72,74%) dan serat kasar (370,91-387,3%). Nurtiana *et.al* (2018) menyebutkan bekatul memiliki serat pangan tidak terlarut 21,17% dan serat pangan larut sebesar 2,17% dimana kandungan serat pangan tersebut lebih tinggi daripada sumber serat pangan lain seperti bekatul jagung, bekatul gandum, bekatul *rye*, sayuran, dan buah-buahan. Bekatul juga merupakan sumber mineral yang baik, dimana setiap 100 g nya mengandung kalsium 500-700 mg, magnesium 600-700 mg, dan fosfor 1.000-2.200 mg (Ulfa, 2016).

Senyawa bioaktif pada bekatul juga beragam, diantaranya komponen fenolik (1,96-6,65%), γ -oryzanol (1,52-9,12 mg/g), α -tokoferol (41,36-43,57 μ g/g) flavonoid (0,66-1,93 mg GAE/100 g), riboflavin (0,4 mg/ 100 g), niasin (43 mg/100 g), dan antosianin (109,5-256,6 mg/100 g) (Kusnandar et.al, 2020). Senyawa polifenol yang diketahui dapat mencegah penyakit kardiovaskular, antiinflamasi, dan bersifat antioksidan juga terdapat pada bekatul (Ghasemzadeh et.al, 2015). Fikriya (2018), menyebutkan bahwa senyawa golongan fenolik pada bekatul seperti asam galat, *caffeic*, vanilin, *syringic*, *p-coumaric*, *chlorogenic*, *p-hydroxybenzoic*, *protocatechuic*, dan asam ferulat dapat berperan sebagai antioksidan. Banyaknya kandungan senyawa bioaktif membuat bekatul sangat berpotensi untuk menunjang kesehatan manusia sebagai antioksidan, antidiabetes, antihiperkolesterol, antikanker (Hartati et.al, 2015), mencegah penyakit jantung dan penyakit Alzheimer (Wijayanti et.al, 2019).

Kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid dan fenol pada bekatul juga diketahui dapat berperan sebagai antibakteri (Hikmah, 2018). Daya penghambatan senyawa bioaktif pada bekatul terhadap bakteri patogen tergolong sangat kuat. Thushara et.al (2019) melaporkan bahwa varietas beras tradisional Sri Lanka dengan *pericarp* merah memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap bakteri gram positif. Pada penelitian yang dilakukan Arphan et.al (2013), minyak dari bekatul memiliki kemampuan penghambatan terhadap bakteri *E. coli* dengan diameter zona hambatan hingga 25 mm. Hasil tersebut lebih besar dibandingkan diameter zona hambatan yang dihasilkan oleh gentamycin yaitu sebesar 20 mm. Sedangkan terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, minyak bekatul menghasilkan diameter zona penghambatan sebesar 18 mm. Badrunnisa et.al (2013) melaporkan

bahwa *oxylipins* yang diproduksi dari reaksi enzimatik dari enzim lipoksigenase dari bekatul menggunakan substrat minyak bekatul, menghasilkan diameter zona hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* hingga 4,4 cm.

Bekatul merupakan lapisan tengah yang terdiri dari lapisan aleuron, *nucleus*, *pericarp*, dan testa pada padi, dimana pada lapisan tersebut banyak terkandung senyawa bioaktif (Akbar, 2021). Pigmen warna pada beras bewarna juga terdapat pada lapisan *pericarp* atau lapisan terluar bekatul (Estiasih *et.al*, 2021). Menurut Suhery *et.al* (2016), perbedaan varietas/ jenis beras dan tempat tumbuh berpengaruh terhadap kadar komponen bioaktif bekatul. Wahyuningsih (2017), menyebutkan bahwa bekatul dapat diklasifikasikan menjadi tiga jenis, yaitu bekatul beras putih, bekatul beras merah, dan bekatul beras hitam. Di Indonesia, setidaknya terdapat dua jenis beras yang sering dimanfaatkan yaitu beras putih dan beras merah. Bekatul dari beras berpigmen diketahui lebih banyak mengandung senyawa bioaktif dari pada bekatul beras putih (Friedman, 2013). Hal ini dikarenakan terdapat senyawa antosianin dan proantosianidin pada beras berpigmen (Safrida *et.al*, 2020).

Senyawa antosianin merupakan pigmen yang memberi warna merah, biru, keunguan pada tumbuhan (Wenas, 2021). Antosianin telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan antibakteri (Paramita *et.al*, 2015). Senyawa antosianin pada tumbuhan biasanya sering hadir disertai dengan senyawa lain seperti flavonoid, karotenoid, antoxantin, dan betasianin (Indrasari *et.al*, 2010). Menurut riset yang dilakukan Janarny *et.al* (2020) dengan sampel beras merah dan beras putih dengan varietas berbeda, didapatkan total kandungan senyawa bioaktif dari bekatul beras putih varietas Bw 367 dan Bg 352

masing- masing untuk senyawa fenolik adalah 5,33 mg GAE/g FW dan 4,43 mg GAE/g FW; total flavonoid sebesar 5,20 mg RE/g FW dan 2,11 mg RE/g FW; dan total antosianin sebesar 0,10 mg cy-3- g E/g FW dan 0,52 mg cy-3- g E/g FW. Sedangkan untuk ekstrak bekatul beras merah varietas Bg 406 dan H4 didapatkan total kandungan senyawa bioaktif masing- masing untuk senyawa fenolik sebesar 26,88 mg GAE/g FW dan 28,96 mg GAE/g FW; total flavonoid sebesar 18,44 mg RE/g FW dan 41,11 mg RE/g FW; dan total antosianin sebesar 9,55 mg cy-3- g E/g FW dan 2,97 mg cy-3- g E/g FW.

2.3. Ekstraksi Maserasi

Ekstraksi adalah suatu teknik pemisahan yang digunakan untuk memisahkan senyawa target dari campurannya dengan pelarut yang sesuai (Faradisa, 2008). Prinsip ekstraksi adalah “*like dissolved like*” dimana senyawa polar hanya dapat larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa non polar hanya dapat larut dalam pelarut non polar (Hammado *et.al*, 2013). Ekstraksi senyawa bioaktif pada tumbuhan bertujuan untuk memperoleh senyawa bioaktif tertentu dari tumbuhan dengan melarutkannya pada pelarut yang memiliki kepolaran yang sama (Kiswando, 2011). Metode yang sering digunakan untuk mengekstrak senyawa bioaktif pada tumbuhan adalah metode maserasi (Ningsih *et.al*, 2020).

Maserasi adalah salah satu metode ekstraksi yang digunakan untuk mendapatkan senyawa target dari suatu bahan dengan cara merendam bahan yang akan diekstrak selama beberapa waktu dengan pelarut tertentu (Yulianingtyas *et.al*, 2016). Maserasi dengan pengadukan secara kontinu disebut maserasi kinetik, sedangkan maserasi dengan perulangan penambahan pelarut setelah proses penyaringan maserat pertama disebut remaserasi (Purnamasari, 2021). Pada saat proses maserasi berlangsung, pelarut akan menembus dinding sel

tumbuhan dan masuk ke dalam rongga-rongga sel untuk mengambil senyawa bioaktif yang diinginkan, selanjutnya terjadi perbedaan konsentrasi di dalam sel dan di luar sel sehingga senyawa bioaktif larut dalam pelarut dan larutan yang pekat dengan senyawa bioaktif akan didesak keluar digantikan dengan pelarut yang lebih encer (Hasanah, 2018). Peristiwa tersebut terjadi berulang kali hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di dalam dan diluar sel (Damarini, 2011). Keuntungan dari metode maserasi adalah prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak adanya proses pemanasan sehingga senyawa bioaktif tidak akan terurai (Puspitasari *et.al*, 2017).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi maserasi yaitu waktu maserasi dan ukuran partikel (Ramadhani *et.al*, 2020). Bila waktu maserasi yang diterapkan terlalu singkat maka senyawa bioaktif yang berhasil diekstrak jumlahnya terlalu sedikit, sedangkan jika terlalu lama maka akan menyebabkan kerusakan pada senyawa bioaktif yang diekstrak. Ukuran partikel juga merupakan faktor yang dapat mempengaruhi hasil maserasi, karena semakin kecil ukuran suatu partikel bahan maka luas bidang kontak antara pelarut dan bahan akan semakin besar sehingga senyawa bioaktif yang terekstrak akan semakin besar. Suhu pada proses maserasi juga perlu diperhatikan. Kelarutan senyawa aktif akan meningkat dengan bertambahnya suhu, tetapi suhu yang terlalu tinggi juga dapat menyebabkan kerusakan pada senyawa yang diekstrak (Chairunnisa *et.al*, 2019). Volume pelarut juga harus diperhatikan dalam proses ekstraksi maserasi, jika pelarut yang digunakan terlalu sedikit maka ekstraksi tidak akan maksimal dan jika pelarut terlalu banyak maka pergerakan cairan dalam sel akan tidak lancar akibat telah didominasi oleh pelarut (Sari, 2020).

Pemilihan pelarut menjadi faktor yang penting dalam proses maserasi, dimana pelarut yang digunakan haruslah dapat menyari senyawa target dengan maksimal, mempunyai titik didih rendah, harganya murah, tidak toksik, dan memiliki kepolaran yang sama dengan senyawa target (Dewatisari, 2020). Salah satu pelarut yang sering digunakan untuk ekstraksi adalah etanol. Juliantari *et.al* (2018) melaporkan bahwa untuk ekstraksi ampas kopi bubuk robusta dengan pelarut etanol 90% menggunakan maserasi pada 60 °C, diperoleh ekstrak dengan total rendemen dan total fenolik tertinggi yaitu 7,87% dan 11052,83 mg GAE/ 100 g. Penelitian Wahyuni *et.al* (2020) mengatakan bahwa ekstraksi daun bambu duri dengan pelarut etanol 96% dengan suhu ekstraksi 45 °C dan waktu ekstraksi 36 jam menghasilkan rendemen tertinggi yaitu 10,69% dengan total senyawa fenolik sebesar 81,22 mg GAE/ g.

Menurut Sari (2008), etanol atau alkohol 95-96% (v/v) yang dikenal juga sebagai etanol berhidrat dibagi menjadi tiga jenis, yaitu *technical/ raw sprit grade* (untuk bahan bakar spirtus, pelarut, desinfektan, dan minuman), *industrial grade* (untuk bahan baku industri dan pelarut), dan *potable grade* (untuk minuman berkualitas tinggi). Widarta *et.al* (2014) juga melaporkan bahwa ekstraksi bekatul beras merah dengan pelarut etanol 96% yang diasamkan dengan HCl 37% hingga pH 1 memiliki nilai antosianin, nilai fenolik, dan aktivitas antioksidan yang tinggi, masing-masing sebesar 5,45 mg/ 100 g bekatul; 743,51 mg/ 100 g bekatul; dan 92,19%. Hal tersebut membuktikan bahwa etanol merupakan pelarut yang baik untuk ekstraksi senyawa bioaktif. Wanna *et.al* (2015) juga menyebutkan bahwa etanol merupakan salah satu pelarut yang paling efektif untuk ekstraksi antioksidan dan antibakteri.

2.4. Fermentasi

Fermentasi merupakan suatu proses untuk menghasilkan produk dengan kualitas nutrisi dan karakteristik tekstur, aroma, dan rasa yang lebih baik dibandingkan bahan baku asal dengan memanfaatkan aktivitas mikroorganisme tertentu (Kurniati, 2011). Pada awalnya, istilah fermentasi digunakan untuk menjelaskan proses konversi glukosa menjadi etanol dalam kondisi anaerob, namun seiring berkembangnya teknologi, istilah fermentasi berkembang menjadi kegiatan merombak senyawa organik yang dilakukan dengan bantuan mikroorganisme (Jannah, 2010). Jenis mikroorganisme yang digunakan untuk proses fermentasi dapat berupa kapang atau khamir, bakteri, atau campuran berbagai mikroorganisme (Suryani *et.al*, 2017). Menurut Murtini *et.al* (2016), terdapat dua jenis metode fermentasi yaitu *solid-state fermentation* (SSF) dan *submerged fermentation* (SmF).

Manfaat dari proses fermentasi salah satunya dapat meningkatkan nilai nutrisi dan pencernaan serat kasar suatu bahan akibat adanya aktivitas enzim yang dihasilkan mikroorganisme (Supartini *et.al*, 2011). Lokapirnasari *et.al* (2012) melaporkan pada penelitiannya bahwa pencernaan serat kasar ayam pedaging meningkat dengan adanya penambahan fermentasi bekatul dengan inokulum *Enterobacter cloacae* WPL 111 15% pada pakan. Rata-rata pencernaan serat kasar ayam pedaging dengan penambahan bekatul terfermentasi pada pakan adalah 94,50 sedangkan pencernaan serat kasar ayam pedaging tanpa penambahan bekatul terfermentasi adalah 92,95. Proses fermentasi dapat pula mengubah sifat fisikokimia dan fungsional suatu bahan seperti yang dilaporkan pada penelitian Aini *et.al* (2016), bahwa tepung jagung terfermentasi *Lactobacillus casei* selama 60 jam memiliki sifat fungsional terbaik (dilihat dari sifat gelatinisasinya) yaitu

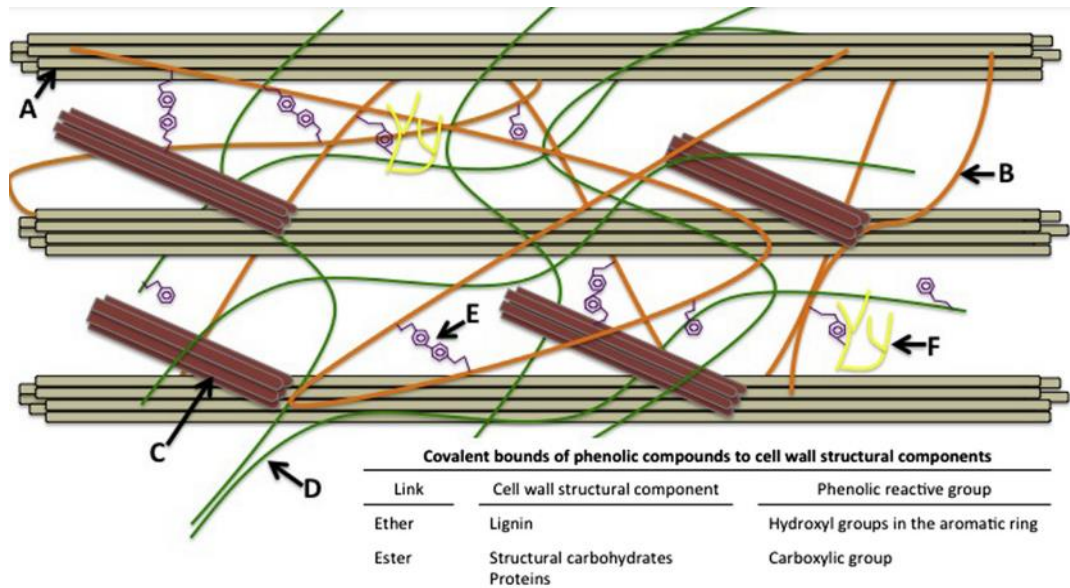
suhu awal gelatinisasi 72 °C, suhu puncak gelatinisasi 74 °C, memiliki kandungan protein hingga 8,27% dan kadar amilosa 33,1%.

Fermentasi diketahui juga dapat meningkatkan kandungan senyawa bioaktif suatu bahan. Senyawa bioaktif seperti fenolik pada tumbuhan terdapat dalam bentuk bebas ataupun terikat pada dinding sel tumbuhan (Suryanto *et.al*, 2020). Senyawa fenolik bebas dapat diekstrak dengan pelarut. Sedangkan senyawa fenolik terikat yang merupakan senyawa kovalen yang terikat dengan matriks tanaman, tidak dapat diekstrak dengan air ataupun campuran air dan pelarut organik (Suryanto *et.al*, 2020). Menurut Mahardani *et.al* (2021), aktivitas mikroorganisme selama fermentasi dapat mendegradasi struktur dinding sel sehingga senyawa bioaktif yang terjebak di dalamnya dapat keluar. Penelitian Faizah (2020) melaporkan bahwa bekatul Inpari 24 terfermentasi selama 72 jam mengandung total fenolik sebesar 3,94 mg GAE/ g dan kadar γ -oryzanol sebesar 12,93 mg/ g, sedangkan bekatul Inpari 24 non fermentasi hanya mengandung total fenolik dan kadar γ -oryzanol sebesar 3,29 mg GAE/ g dan 11,21 mg/ g.

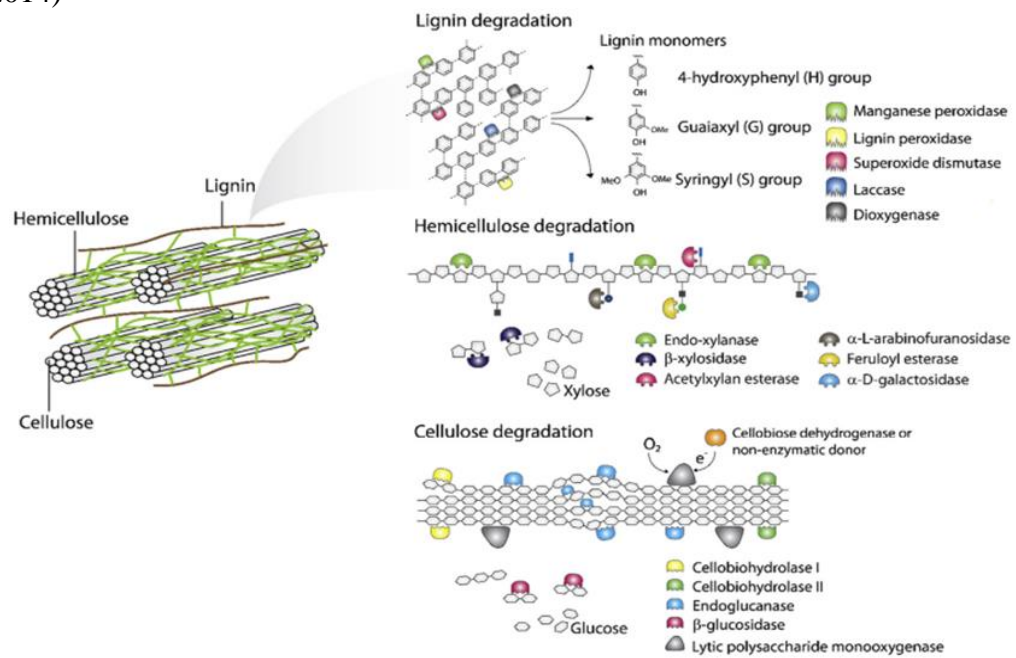
Pasaribu (2007) mengatakan bahwa peran mikroorganisme dalam fermentasi adalah sebagai penghasil enzim untuk memecah serat kasar. Fermentasi dengan kapang *Aspergillus Niger* dapat menurunkan kadar serat kasar pada bekatul dengan baik karena adanya aktivitas enzim selulase yang dapat menghidrolisis lignoselulosa (Ikhwanuddin, 2018). Terdapat banyak jenis mikroorganisme yang dapat mendegradasi selulosa, namun hanya beberapa mikroorganisme saja yang dapat menghasilkan enzim selulase dalam jumlah yang signifikan untuk menghidrolisis kristal selulosa, salah satu mikroorganisme tersebut adalah kapang (Seftian *et.al*, 2012). Hal ini Lie *et.al* (2015) juga

melaporkan dalam penelitiannya mengenai peningkatan nilai nutrisi pada limbah padat kelapa sawit dengan dosis *Trichoderma reesei* 0,4% selama 6 hari menghasilkan penurunan serat kasar dari 24,94% menjadi 16,59% dan peningkatan kadar protein hingga 22,4%.

Menurut Wahzudin (2020), jika kadar serat kasar menurun maka nilai nutrisi akan meningkat dikarenakan adanya hidrolisis serat selulosa menjadi oligosakarida yang lebih sederhana, sehingga senyawa-senyawa bioaktif yang terikat di antara selulosa akan bebas dan nilai nutrisi bahan akan meningkat. Senyawa bioaktif terikat pada tumbuhan merupakan senyawa bioaktif tak larut yang terlibat interaksi kovalen dengan komponen dinding sel (Acosta *et.al*, 2014). Senyawa aktif seperti asam hidroksisinat dan hidroksibenzoat pada tumbuhan, terlibat ikatan eter dan ester dengan lignin melalui gugus hidroksil dalam cincin aromatik dan ikatan ester dengan karbohidrat dan protein melalui gugus karboksilat (Alrosan *et.al*, 2022). Ketika fermentasi berlangsung, mikroorganisme akan menghasilkan enzim yang dapat memutus ikatan ester sehingga senyawa aktif akan bebas dan dapat terekstrak oleh pelarut (Alrosan *et.al*, 2022). Berikut adalah **Gambar 2.2** skema dari senyawa bioaktif terikat yang terdapat pada dinding sel tumbuhan dan **Gambar 2.3** reaksi degradasi dinding sel tumbuhan.



Gambar 2.2 Skema dinding sel tumbuhan. (A) Selulosa, (B) Hemiselulosa, (C) Protein struktural, (D) Pektin, (E) Senyawa bioaktif, (F) Lignin (Acosta *et.al*, 2014)



Gambar 2.3 Reaksi degradasi dinding sel tumbuhan (Champreda *et.al*, 2019)

Fermentasi perlu memerhatikan beberapa faktor agar prosesnya dapat berjalan lancar dan produk yang didapat sesuai dengan keinginan. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi adalah lama fermentasi, konsentrasi inokulum, substrat, suhu, oksigen, dan pH (Fikriyah, 2018). Menurut Sukma *et.al* (2010), banyaknya inokulum harus diperhatikan saat proses fermentasi karena

semakin banyak inokulum yang diberikan maka semakin banyak pula produk yang terbentuk. Akan tetapi banyaknya inokulum juga membutuhkan nutrisi yang semakin banyak karena jika kekurangan nutrisi maka akan berakibat pada terhambatnya metabolisme mikroorganisme.

Lama fermentasi juga mempengaruhi produk akhir yang dihasilkan, Bintari *et.al* (2008) menyatakan bahwa jika fermentasi terlalu lama maka dapat menyebabkan degradasi protein lebih lanjut sehingga terbentuk ammonia dan terjadi peningkatan pH. Jika pH meningkat, maka pertumbuhan mikroorganisme akan menurun bahkan terhenti. Penelitian Fikriyah (2018) melaporkan bahwa fermentasi bekatul selama 5 hari dengan perbandingan substrat dan bekatul 1:1 menghasilkan kenaikan aktivitas antioksidan sebesar 13,37% dimana jumlah ini lebih besar daripada kenaikan aktivitas antioksidan dengan variasi lama fermentasi 3 hari atau 4 hari dan dengan perbandingan konsentrasi substrat dan bekatul 1:2 atau 1:3.

Media atau substrat juga mempengaruhi proses fermentasi, dimana substrat yang digunakan haruslah dapat memenuhi semua kebutuhan nutrisi mikroorganisme (Novia, 2012). Suhu inkubasi atau suhu saat fermentasi haruslah diperhatikan saat melakukan fermentasi karena berkaitan dengan pertumbuhan optimum mikroorganisme yang digunakan, jika suhu terlalu tinggi atau terlalu rendah maka akan menghasilkan produk dengan kualitas yang kurang baik (Latumahina *et.al*, 2017). Begitu juga dengan pH, kondisi pH media perlu diperhatikan karena berpengaruh pada kondisi optimum jenis mikroorganisme yang tumbuh dimana rata-rata pH optimum mikroorganisme adalah pH 3-6 (Ferdaus *et.al*, 2008). Hal lain yang tak kalah penting adalah suplai oksigen, jika

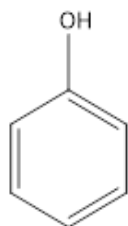
suplai oksigen saat fermentasi terbatas maka akan berdampak pada berkurangnya pertumbuhan sel-sel mikroorganisme (Ferdiansyah, 2017).

2.5 Uji Fitokimia

Uji skrinning fitokimia merupakan salah satu uji yang dilakukan untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terdapat dalam suatu sampel secara kualitatif. Pengujian kandungan senyawa bioaktif secara kualitatif dapat dilakukan dengan mengamati perubahan warna atau terbentuknya endapan ketika diberikan suatu reagen tertentu (Vifta *et.al*, 2018). Bekatul merupakan bahan yang kaya akan senyawa bioaktif. Pada pengujian fitokimia yang dilakukan Jannah *et.al* (2020), diperoleh jenis senyawa bioaktif yang terdapat pada bekatul adalah alkaloid, steroid, triterpenoid, flavonoid, dan fenolik.

2.5.1 Uji Fenolik

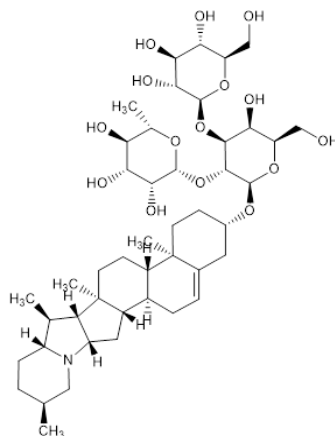
Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder terbesar yang terdapat pada tumbuhan. Menurut Hanin *et.al* (2017), senyawa fenolik terdapat diseluruh bagian tumbuhan. Senyawa fenolik mengandung cincin aromatik benzen berjumlah satu atau lebih dan dianggap sebagai antioksidan paling melimpah (Wardani *et.al*, 2020). Senyawa fenolik juga sering digunakan sebagai antibakteri (Ikalinus *et.al*, 2015). Fenol ditambah FeCl_3 menghasilkan warna merah, ungu, biru, atau hitam pekat disebabkan karena FeCl_3 bereaksi dengan gugus $-\text{OH}$ aromatis (Habibi *et.al*, 2018). Berikut adalah struktur dari senyawa fenolik.



Gambar 2.4 Senyawa Fenolik (Al-Khaled *et.al*, 2012)

2.5.2 Uji Saponin

Saponin adalah glikosida, yaitu campuran karbohidrat sederhana dengan aglikon. Berdasarkan hasil glikolisisnya, saponin dibedakan menjadi karbohidrat dan sapogenin. Sapogenin terdapat dua jenis yaitu, saponin steroid dan saponin triterpenoid (Appelbaum *et.al*, 1979). Saponin memiliki kemampuan membentuk buih di dalam air dikarenakan saponin memiliki struktur glikosil sebagai gugus polar, sedangkan gugus steroid dan triterpenoid-nya berperan sebagai bagian non polar yang bersifat aktif permukaan sehingga dapat membentuk misel dalam air yang tampak seperti busa (Habibi *et.al*, 2018).

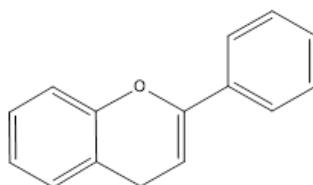


Gambar 2.5 Senyawa Saponin (Ku-Vera *et.al*, 2020)

2.5.3 Uji Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang berpotensi sebagai antioksidan dan memiliki aktivitas sebagai obat. Senyawa ini dapat ditemukan

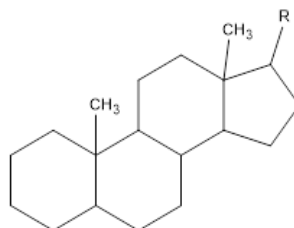
dalam setiap bagian tumbuhan. Flavonoid terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan dengan cincin piran heterosiklik. Beberapa jenis-jenis flavonoid yaitu flavon, flavonol, flavanon, antosianin, dan kalkon (Alfaridz, 2018). Pada identifikasi senyawa flavonoid dengan logam Mg dan HCl, warna merah hingga jingga yang dihasilkan adalah akibat adanya terbentuknya senyawa flavilium (Afriani *et.al*, 2016). Berikut adalah struktur dari flavonoid.



Gambar 2.6 Senyawa Flavonoid (Pandey *et.al*, 2009)

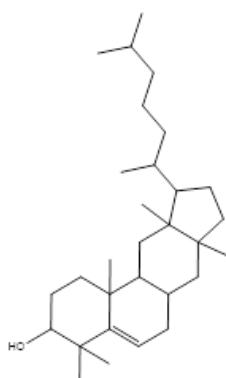
2.5.4 Uji Steroid/Triterpenoid

Steroid adalah terpenoid lipid yang memiliki empat cincin kerangka dasar karbon yang menyatu. Steroid berperan penting terhadap menjaga keseimbangan garam, mengendalikan metabolisme dan meningkatkan fungsi organ seksual, dan memperbaiki fungsi biologis lainnya (Nola *et.al*, 2021). Senyawa steroid banyak terdapat dalam tumbuhan biasanya berperan sebagai pelindung terhadap serangga (Mariyah *et.al*, 2020). Hasil positif uji steroid dengan reagen Liebermann-Burhard akan menghasilkan warna hijau kebiruan (Shofa, 2020). Berikut adalah struktur dari steroid.



Gambar 2.7 Senyawa Steroid (Greaves *et.al*, 2014)

Triterpenoid merupakan turunan terhidrogenasi dan teroksidasi dari senyawa terpen. Triterpenoid terdiri dari unit isoprena yang memiliki rantai terbuka atau siklik, dan dapat mengandung ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil, dan gugus fungsi lainnya (Nola *et.al*, 2021). Hasil positif uji Triterpenoid dengan reagen Liebermann-Burhard akan menghasilkan cincin kecoklatan diantara dua pelarut (Meydia *et.al*, 2016). Berikut adalah struktur inti dari triterpenoid.

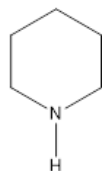


Gambar 2.8 Senyawa Triterpenoid (Robinson, 1995)

2.5.5 Uji Alkaloid

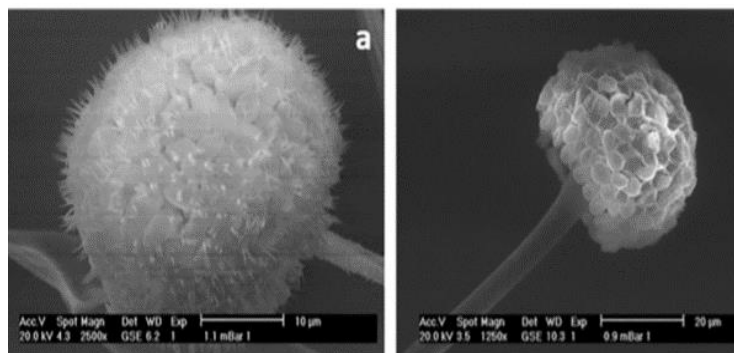
Alkaloid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang melimpah pada tumbuhan. Struktur dasar alkaloid memiliki paling sedikit satu buah atom nitrogen yang terdapat pada cincin heterosiklik dan bersifat basa (Hammado *et.al*, 2013). Alkaloid bersifat non polar karena memiliki berbagai macam substituen seperti gugus fenol, amina, amida, dan metoksi (Simaremare, 2014). Senyawa alkaloid memiliki banyak manfaat sebagai anti malaria, anti mikroba, anti diabet, dan anti diare (Ningrum *et.al*, 2016). Prinsip pengujian fitokimia dengan pereaksi Dragendorff dan Meyer pada alkaloid adalah terjadinya pergantian ligan, dimana atom nitrogen yang terdapat pada alkaloid akan

menggantikan posisi ion iod yang ada pada pereaksi sehingga terbentuk endapan (Puspitasari *et.al*, 2013). Berikut adalah struktur dari alkaloid.



Gambar 2.9 Senyawa Alkaloid (Robinson, 1995)

2.6. Kapang *R. oryzae*



Gambar 2.10 Kapang *R. oryzae* (Hernández *et.al*, 2017)

Kapang merupakan fungi berfilamen dan multiseluler dimana bagian tubuhnya berupa thallus yang dapat dibedakan menjadi dua bagian yaitu spora dan miselium (Maulidar, 2017). Kapang adalah salah satu mikroorganisme yang dapat digunakan untuk proses fermentasi. Salah satu jenis kapang yang sering digunakan adalah *R. oryzae*. Kapang *R. oryzae* memiliki koloni berwarna putih sampai abu dengan rhizoid berwarna coklat dan bercabang, memiliki spora bulat atau setengah bulat dan memiliki stolon licin yang berwarna coklat kekuningan (Ade, 2013). Berikut merupakan klasifikasi kapang *R. oryzae* (Ade, 2013):

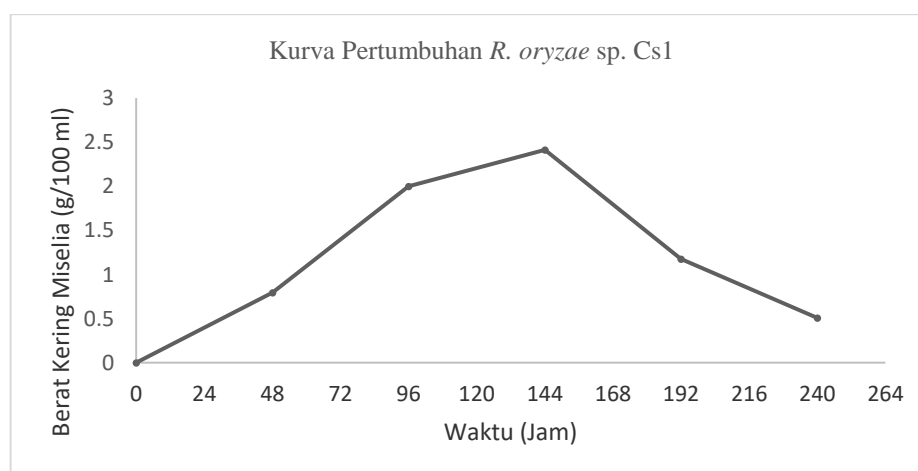
Kingdom : Myceteae
Devisi : Zygomycota
Kelas : Zygomycetes
Ordo : Mucorales
Famili : Mucoraceae
Genus : Rhizopus
Spesies : *Rhizopus oryzae*

Fermentasi dengan kapang *R. oryzae* memiliki beberapa keuntungan, diantaranya memiliki bentuk filamen sehingga mudah dipisahkan dari campuran hasil, tidak perlu nutrisi yang spesifik, tidak toksik, dan dapat tumbuh dalam media dengan nutrisi tinggi maupun limbah seperti bekatul (Dewinta, 2018). Menurut Souza *et.al* (2019), fermentasi bekatul beras dengan kapang *R. oryzae* menyediakan kompleks enzim yang mampu meningkatkan kadar senyawa fenolik pada ekstrak, terutama dipengaruhi oleh aktivitas selulase dan endoglukanase kapang yang melepaskan senyawa fenolik terikat. Kapang *R. oryzae* selain dapat menghasilkan enzim selulase dan endoglukanase, diketahui juga dapat menghasilkan enzim amilase dan protease. Souza *et.al* (2019) juga mengatakan bahwa, dibutuhkan lebih dari satu enzim untuk mendegradasi matriks lignoselulosa pada bekatul padi dan melepaskan senyawa fenolik terikat. Enzim amilase, selulase, dan protease pada *R. oryzae* akan bekerja secara sinergis dalam mendegradasi komponen dinding sel sehingga pelepasan senyawa fenolik berjalan maksimal.

Menurut Ardiansyah *et.al* (2020), selama fermentasi dengan *R. oryzae* juga terjadi aktivitas enzim lipase kapang yang mendegradasi lemak pada substrat menjadi asam lemak dan gliserol, Asam lemak yang terbentuk akan bereaksi dengan senyawa alkohol membentuk senyawa ester yang menghasilkan aroma khas bekatul fermentasi. Kapang *R. oryzae* diketahui juga menghasilkan enzim

fitase yang dapat mendegradasi zat anti-nutrien asam fitat yang terdapat banyak pada limbah pertanian sehingga nilai nutrisi pada bekatul dapat meningkat. Menurut Kanti (2017) kapang *R. oryzae* menghasilkan enzim fitase yang dapat mendegradasi asam fitat hingga 1686,75-1989,75 mg/ liter. Ketika nutrisi seperti senyawa bioaktif pada bekatul meningkat maka diharapkan pemanfaatan bekatul sebagai antibakteri akan lebih maksimal.

Setiap mikroorganisme memiliki kondisi tertentu untuk tumbuh secara maksimal. Menurut Pagarra (2009), kapang atau khamir merupakan organisme mesofilik sehingga rata-rata dapat tumbuh baik pada suhu kamar yaitu 35-37 °C. Kapang *Rhizopus sp.* dapat tumbuh pada kisaran pH 3,4-6. Hikmah (2018) pada penelitiannya melaporkan bahwa bekatul terfermentasi *R. oryzae* pada pH 5 dan suhu 37 °C mampu menghasilkan zona hambat terbaik sebagai antibakteri dibandingkan variasi pH 4 dan 6 serta variasi suhu 30 dan 44 °C, dimana penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* sebesar 13,90 mm dan *E. coli* sebesar 11,60 mm. Kurva pertumbuhan kapang *R. oryzae* adalah sebagai berikut.



Gambar 2.11 Kurva Pertumbuhan Kapang *R. oryzae* (Melgar *et.al*, 2013)

Berdasarkan kurva pertumbuhan pada **Gambar 2.11**, strain *R. oryzae* sp. Cs1 mengalami fase adaptasi atau fase lag pada waktu inkubasi 0-48 jam. Ciri-ciri fase lag adalah tidak terjadi peningkatan sel tetapi yang meningkat hanya ukurannya saja (Tyas, 2020). Namun, bila lingkungan pertumbuhannya sama dengan lingkungan sebelumnya, kemungkinan tidak diperlukan waktu adaptasi (Wuryanti, 2008). Fase logaritmik atau fase eksponensial terjadi pada waktu inkubasi 48-96 jam. Pada fase logaritmik, pertumbuhan sel kapang berlangsung dengan sangat cepat (Afni, 2013). Pada waktu inkubasi 96-144 jam terjadi fase stationer yang merupakan fase dimana jumlah sel yang hidup dan yang mati sama (Efendi *et.al*, 2017). Fase kematian dipercepat berlangsung pada waktu inkubasi diatas 144 jam.

2.7. Bakteri

Menurut Kurniawan (2019) bakteri adalah mikroorganisme prokariotik yang dapat bersifat menguntungkan bagi kesehatan inangnya atau dapat juga memberikan dampak kurang menguntungkan dengan cara menimbulkan penyakit dan bersifat patogen. Bakteri diklasifikasikan berdasarkan pewarnaan Gram menjadi bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif (Ningtyas, 2012). Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang mengandung 40-50% peptidoglikan, lapisan tipis asam teikoat dan asam teikuronat yang bermuatan negatif. Sedangkan bakteri Gram negatif, pada lapisan luar dindingnya terdapat 5-20% peptidoglikan. Bakteri gram negatif memiliki lapisan lipopolisakarida, tetapi bakteri Gram positif tidak memilikinya (Haslina, 2017). Aji (2020) menyatakan bahwa bakteri Gram positif apabila dilakukan pewarnaan Gram maka akan

menunjukkan warna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif akan menunjukkan warna merah saat pewarnaan Gram.

Menurut Rimadhini *et.al* (2020), setiap mikroorganisme memiliki kecepatan pertumbuhan yang berbeda-beda bergantung pada perbedaan anatomi dan mekanisme pertumbuhannya. Pada bakteri terdapat beberapa fase pertumbuhan yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian (Mardalena, 2016). Wahyuningsih *et.al* (2018) mengatakan bahwa fase lag terjadi ketika bakteri memasuki media yang berbeda dari media sebelumnya. Bakteri sedang beradaptasi saat fase lag agar dapat bertahan hidup di lingkungan baru.

Fase selanjutnya adalah fase log atau fase eksponensial dimana laju pertumbuhan bakteri pada fase ini bergantung pada kesediaan nutrisi di lingkungan. Ketika nutrisi pada media semakin menipis dan terjadi penambahan jumlah produk samping lain yang menghambat pertumbuhan bakteri, maka pertumbuhan bakteri mulai memasuki fase stasioner. Saat fase stasioner, laju pertumbuhan biakan adalah nol karena jumlah sel yang membelah dan jumlah sel yang mati hampir sama tetapi proses biosintesis tetap berlangsung. Fase kematian terjadi ketika nutrisi pada media sudah tidak ada lagi (Ferdaus *et.al*, 2008). Berikut adalah **Tabel 2.1** yang menunjukkan rentang waktu pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* pada berbagai fase pertumbuhan (Pragita *et. al*, 2021).

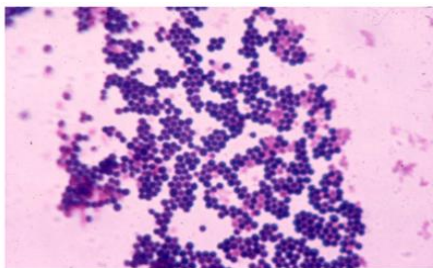
Tabel 2.1 Fase Pertumbuhan Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

Jenis Mikroba	Waktu (jam)			
	Fase Lag	Fase Log	Fase Stasioner	Fase Kematian
<i>S. aureus</i>	0	3-21	24-36	39
<i>E. coli</i>	0-3	6-24	27-39	42

2.7.1. Bakteri *S. aureus*

S. aureus merupakan bakteri Gram positif yang memiliki bentuk seperti bola dengan diameter sekitar 1 μm , tidak bergerak dan tidak membentuk spora, serta dapat tumbuh pada kondisi aerob maupun anaerob (Fazriyanti, 2015). Bakteri *S. aureus* dapat bertahan hidup pada suhu tinggi maupun suhu rendah dan merupakan patogen yang menyebabkan keracunan makanan (Novelia *et.al*, 2020). Menurut Aryahidayani (2020), pertumbuhan yang baik untuk *S. aureus* adalah pada suhu 37 °C dan media yang dipakai harus mengandung protein karena bakteri ini tidak dapat hidup pada media tanpa protein. Bakteri *S. aureus* sangat toleran terhadap garam (NaCl 10-20%) dan nitrit, serta dapat bertahan pada larutan gula sukrosa 50-60% (Mutmainah, 2015). Berikut adalah klasifikasi bakteri *S. aureus* menurut Sari (2017).

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Baciliales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>



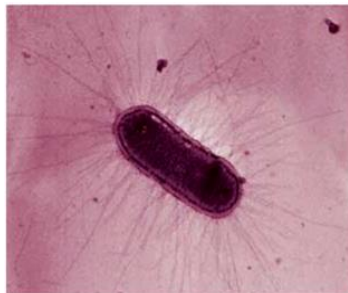
Gambar 2.12 Bakteri *S.aureus* (Asadi *et.al*, 2017)

2.7.2. Bakteri *E. coli*

Menurut Maulydia (2019), *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang dan biasa hidup pada saluran pencernaan hewan atau manusia. Bakteri ini memiliki ukuran sel dengan lebar sekitar 1,10-1,50 μm dan panjang 2-6 μm , tersusun tunggal, dan tidak berkapsul. Bakteri *E. coli* dapat hidup pada suhu 10-40 °C dengan suhu optimum 37 °C, dapat tumbuh dengan baik pada hampir semua media isolasi bakteri, memiliki pH optimum 7-7,5, dapat hidup di tempat lembab, dan akan mati dalam perlakuan pasteurisasi (Lubis, 2015).

Bakteri *E. coli* adalah floranormal dalam usus akan tetapi bakteri ini akan menjadi patogen (menyebabkan infeksi) apabila terdapat pada jaringan diluar saluran pencernaan seperti sistem urinaria, saluran empedu, dan paru-paru (Widyastuti *et.al*, 2016). Suryati *et.al* (2017) menyampaikan bahwa bakteri *E. coli* juga merupakan penyebab penyakit diare dan infeksi saluran kemih. Tanda-tanda yang timbul apabila terjadi infeksi oleh *E. coli* adalah peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses (Poeloengan *et.al*, 2010). Berikut adalah klasifikasi bakteri *E. coli* menurut Sari (2017).

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2.13 Bakteri *E. coli* (Kaper *et.al*, 2004)

2.8. Media

Media merupakan suatu bahan yang kaya akan nutrisi-nutrisi dan digunakan untuk menumbuhkan mikroba. Syarat-syarat media pertumbuhan, yaitu media harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan dan mudah digunakan oleh mikroba, tidak mengandung zat-zat yang menghambat pertumbuhan mikroba, harus steril, dan memiliki tekanan osmose, tegangan permukaan serta pH yang sesuai dengan kondisi optimum mikroba (Abidin, 2018). Menurut Sulaiman (2014), media pertumbuhan bakteri dapat dikelompokkan berdasarkan kriteria seperti sumber nutrisinya, status fisiknya, atau tujuan kultivasinya.

2.8.1. *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) merupakan suatu media yang umum digunakan untuk pertumbuhan jamur di laboratorium. Media ini memiliki pH 4,5-5,6 dan merupakan media semi sintetik karena tersusun atas bahan sintetik (agar dan *dextrose*) dan bahan alami (kentang) (Octavia *et.al*, 2017). Kentang digunakan sebagai sumber karbohidrat, vitamin, dan nutrisi lain yang dapat dimanfaatkan oleh kapang, sedangkan *dextrose* berfungsi sebagai sumber

karbohidrat sederhana yang dapat langsung digunakan. Agar pada media berfungsi untuk memadatkan media (Azzahra *et.al*, 2020).

2.8.2. Nutrient Agar (NA)

Media *Nutrient Agar* (NA) merupakan media yang paling umum digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Media ini berbentuk serbuk berwarna putih kekuningan dan apabila digunakan akan berbentuk padatan karena terdapat kandungan agar di dalamnya (Thohari *et.al*, 2019). Berdasarkan komposisinya, media NA termasuk ke dalam media semi alami karena tersusun dari bahan alami dan terdapat penambahan bahan sintetik. Media NA dibuat dari campuran ekstrak daging, pepton, dan penambahan beberapa nutrisi lain serta menggunakan agar sebagai pematat (Rossita *et.al*, 2017).

2.8.3. Nutrient Broth (NB)

Media *Nutrient Broth* (NB) merupakan media cair yang digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri (Hamad *et.al*, 2017). Media NB dapat digunakan untuk menumbuhkan berbagai jenis mikroba. Menurut Ohta *et.al* (1980), media NB mengandung sumber nutrisi berupa pepton, ekstrak daging, sejumlah NaCl, dan air. Konsentrasi zat organik pada media NB diketahui 16 kali lebih tinggi daripada medium albumin.

2.9. Antibakteri

Senyawa antibakteri merupakan senyawa yang dapat mengganggu atau menghambat pertumbuhan dan metabolisme suatu bakteri (Purnamaningsih *et.al*,

2017). Suatu zat dapat dikatakan memiliki aktivitas antibakteri apabila memiliki kemampuan penghambatan terhadap bakteri tertentu dalam pemberian konsentrasi rendah (Pratiwi, 2019). Ginting (2018) mengatakan bahwa suatu zat antibakteri hanya dapat digunakan apabila memiliki sifat toksik selektif yang berarti dapat membunuh bakteri patogen tetapi tidak bersifat racun bagi penderitanya. Pada tanaman terdapat beberapa senyawa yang bersifat sebagai antibakteri diantaranya adalah fitoaleksin, asam organik, minyak esensial, fenolik, dan beberapa kelompok pigmen tanaman atau senyawa sejenisnya (Putri, 2018). Sifat antibakteri dibagi menjadi dua yaitu, bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri patogen) dan bakteriosidal (membunuh bakteri patogen) (Awaliah, 2020). Senyawa antibakteri memiliki cara kerja yang berbeda-beda. Berikut adalah beberapa cara kerja antibakteri dalam menghambat aktivitas bakteri patogen:

1. Denaturasi protein

Kelompok senyawa seperti halogen dan halogenator, turunan alkohol, peroksida, turunan fenol, senyawa merkuri, dan senyawa amonium kuartener bekerja sebagai antiseptik dan desinfektan dengan cara konjugasi dan denaturasi protein sel bakteri (Nurhayati, 2011). Senyawa terpenoid juga memiliki aktivitas antibakteri dengan cara merusak protein yang terdapat pada dinding sel bakteri sehingga mengakibatkan transport antar sel terganggu dan berujung pada kematian sel (Agusta, 2016). Wiyanto (2010), mengatakan bahwa senyawa fenolik bekerja sebagai antibakteri dengan cara merusak membrane sitoplasma dan denaturasi protein sel bakteri.

2. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

Kuinolon, rifampisin, trimethoprim, *sulfonamide* dan *trimetrexate* adalah contoh senyawa yang bersifat antibakteri dan bekerja dengan cara mengikat dan menghambat enzim DNA girase atau RNA *polymerase* bakteri dan memblokir heliks DNA sehingga metabolisme asam nukleat terganggu (Nurhayati, 2011). Sedangkan mekanisme penghambatan pada saat sintesis protein berkaitan dengan terikatnya senyawa antibakteri dengan sub unit 30S ribosom bakteri (beberapa juga ada yang terikat pada subunit 50S ribosom) dan menghambat translokasi peptidil- tRNA dari situs A ke situs P sehingga menyebabkan terjadinya kesalahan pembacaan mRNA, akibatnya bakteri tidak dapat mensintesis protein untuk pertumbuhannya (Maradona, 2013).

3. Mengganggu metabolisme sel mikroba

Zat kimia tertentu diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia pada sel bakteri sehingga mengakibatkan gangguan pada metabolisme sel (Rahmadani, 2015). Penghambatan kerja enzim intraseluler dapat mengganggu metabolisme sel (Hau *et.al*, 2017). Senyawa seperti logam berat, golongan tembaga, perak, dan air raksa dapat menghambat pertumbuhan mikroba pada konsentrasi rendah (Hikmah, 2018).

4. Mengganggu tegangan permukaan dan permeabilitas dinding sel

Senyawa saponin bersifat antibakteri dengan cara menurunkan tegangan permukaan sel bakteri. Jika tegangan permukaan terganggu maka senyawa antibakteri dapat dengan mudah masuk ke dalam sel dan mengganggu metabolisme sel. Sedangkan senyawa flavonoid bersifat antibakteri dengan cara mengganggu permeabilitas dinding sel bakteri (Karlina *et.al* 2013).

5. Menghambat sintesis dinding sel

Senyawa antibakteri dapat menghambat sintesis dinding sel bakteri dengan cara merusak lapisan peptidoglikan bakteri gram positif maupun gram negatif (Maradona, 2013). Alkaloid sebagai antibakteri bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel (Nababan *et.al*, 2020). Senyawa alkaloid dapat menyebabkan koagulasi protein bakteri sehingga mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri dan menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh (Mulyatni *et.al*, 2012).

Aktivitas suatu antibakteri juga dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu:

1. Konsentrasi antibakteri

Kemampuan zat antibakteri dalam memberikan penghambatan terhadap bakteri patogen bergantung pada konsentrasi dan kandungan senyawa aktif di dalamnya (Wiyanto, 2010). Penelitian Sari *et.al* (2018) menyatakan bahwa penambahan konsentrasi 10% minyak dedak padi pada sabun cair mampu meningkatkan penghambatan terhadap bakteri *S. aureus* dengan perolehan zona hambat sebesar 21 mm. Sedangkan sabun cair tanpa penambahan minyak dedak padi hanya memperoleh zona hambat sebesar 10 mm. Peningkatan tersebut jauh lebih besar dibandingkan penambahan minyak dedak padi konsentrasi 2, 4, 6, dan 8%. Hal ini dikarenakan kandungan senyawa aktif yang melimpah pada minyak dedak padi seperti yang dilaporkan Setyoaji *et.al* (2019), bahwa minyak dedak padi kaya akan kandungan bahan aktif seperti fenol yang memiliki kemampuan antioksidan dan antibakteri. Konsentrasi senyawa antibakteri semakin tinggi maka aktivitas antibakteri juga semakin meningkat (Haslina *et.al*, 2017).

2. Suhu

Kandungan senyawa bioaktif yang diberi peningkatan suhu pemanasan dapat meningkatkan aktivitas senyawa tersebut, namun bila suhu yang diberikan terlalu tinggi maka akan merusak struktur senyawa bioaktif dan mempengaruhi kinerjanya (Yuliantari, 2017). Penelitian Khumaira *et.al* (2020) melaporkan bahwa meningkatnya suhu pemanasan pada ekstrak rumput laut coklat dapat meningkatkan diameter zona hambat yang terbentuk terhadap bakteri *S. aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Suhu pemanasan 70 °C menghasilkan diameter zona hambat terbesar dibandingkan suhu pemanasan 50 °C dan 60 °C yaitu sebesar 4,31 mm untuk bakteri *S. aureus* dan 8,30 mm untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

3. Jumlah dan jenis bakteri

Jumlah bakteri mempengaruhi aktivitas senyawa antibakteri, dimana saat jumlah bakteri semakin meningkat maka waktu yang diperlukan untuk membunuhnya pun semakin banyak pula (Hikmah, 2018). Perbedaan sifat daya hambat antibakteri juga dipengaruhi oleh jenis bakteri. Hal ini dikarenakan masing-masing bakteri memiliki perbedaan kepekaan terhadap zat antibakteri disebabkan struktur dan komposisi sel yang berbeda-beda (Muharni *et.al*, 2017).

4. pH

Naufalin *et.al* (2006), menyebutkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat dan etanol bunga kecombrang pada pH 4 (asam) lebih tinggi dibandingkan pada pH 8-9 (basa). Hal ini dikarenakan pada kondisi pH rendah, sel-sel bakteri akan mengalami stress dan menjadi lebih sensitif terhadap antibakteri. Selain itu,

senyawa fenolik yang terdapat pada ekstrak tanaman akan semakin efektif pada pH rendah.

2.10. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui keefektifan suatu zat antibakteri dalam menghambat bakteri uji (Kholifah, 2018). Pengujian dilakukan dengan cara mengukur pertumbuhan bakteri terhadap gen antibakteri (Pratiwi, 2019). Menurut (Prasetyo, 2020), terdapat dua metode untuk menguji daya antibakteri suatu ekstrak yaitu dengan metode difusi atau metode dilusi.

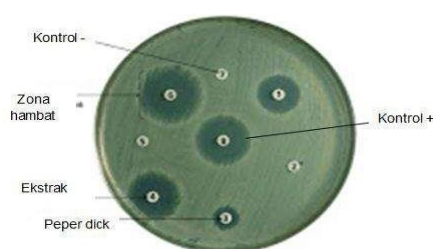
2.10.1 Metode Difusi

Jenis metode difusi yang dapat digunakan untuk uji aktivitas antibakteri yaitu difusi cakram atau *disk diffusion* (Kirby-Bauer), *ditch-plate technique*, *cup-plate technique*, *e-test*, dan *gradient-plate technique* (Putri, 2018). Metode difusi cakram merupakan metode yang sering digunakan untuk menguji seberapa rentan suatu bakteri uji terhadap antibakteri. Hasil yang didapat dari metode ini adalah akan diketahui apakah suatu bakteri bersifat rentan, intermediet, atau bahkan bersifat resisten terhadap antimikroba (Salsabila, 2020). Pada metode difusi cakram, digunakan cakram kertas saring (*paper disk*) yang berperan sebagai tempat menampung zat yang berpotensi sebagai antibakteri. Kertas saring yang telah diberi zat antibakteri akan diletakkan pada media agar yang telah diinokulasikan bakteri uji. Selanjutnya, media agar tersebut akan diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu yang sesuai dengan keadaan optimum bakteri uji (Maulid, 2016).

Hasil yang akan diperoleh dari metode difusi cakram yaitu terbentuknya zona bening yang mengelilingi kertas cakram (Permatasari, 2020). Zona bening tersebut menunjukkan tidak adanya bakteri uji pada daerah tersebut (Rizky, 2018). Diameter zona hambat yang terbentuk akan digunakan untuk mengukur kekuatan antibakteri dalam menghambat bakteri uji (Hikmah, 2018). Prinsip dari metode difusi adalah pengukuran potensi suatu antibakteri berdasarkan terbentuknya diameter zona hambat bakteri karena adanya difusi zat antibakteri ke dalam media agar yang mengandung bakteri uji di dalamnya (Putri, 2018). Kekuatan daya hambat suatu zat antibakteri dapat dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk seperti yang tertera pada **Tabel 2.2** berikut (Afni *et.al*, 2015):

Tabel 2.2 Kekuatan daya hambat zat antibakteri

Diameter Zona Hambat	Kategori Penghambatan
>20 mm	Sangat kuat
11-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
5 mm atau kurang	Lemah



Gambar 2.14 Pengamatan zona hambat bakteri (Hasanah, 2018)

2.10.2 Metode Dilusi

Metode dilusi dapat digunakan untuk mengetahui potensi suatu antibakteri dalam menghambat aktivitas bakteri tertentu dengan cara menentukan konsentrasi

hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) (Fatisa, 2013). Tujuan dari metode dilusi adalah mengetahui seberapa banyak jumlah zat antibakteri yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji (Nuraina, 2015). Terdapat dua jenis metode dilusi yaitu:

1. Pengenceran serial dalam tabung (dilusi cair)

Prinsip dari metode dilusi ini adalah menggunakan satu seri tabung reaksi yang telah diisi media cair, biakan bakteri uji, dan zat antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Tabung reaksi dengan media cair di dalamnya, masing-masing diisikan zat antibakteri yang telah diencerkan secara berseri, kemudian diinokulasikan bakteri uji dan dilakukan inkubasi pada waktu tertentu dan suhu optimum bakteri uji. Aktivitas zat antibakteri akan dinyatakan sebagai kadar hambat minimum (KHM) (Prayoga, 2013).

2. Dilusi padat

Metode dilusi padat digunakan untuk menentukan kadar bakterisidal minimum (KBM). Metode ini dilakukan dengan menginokulasikan bakteri uji pada media agar yang mengandung antibakteri (Fitriana *et.al*, 2019). KBM adalah konsentrasi terendah dari antibakteri yang mampu membunuh hingga 99,9% bakteri uji pada waktu tertentu dan KBM dikatakan efektif apabila tidak terdeteksi pertumbuhan bakteri uji pada media (Sari, 2020).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2021 hingga Juni 2022. Tempat berlangsungnya penelitian adalah Laboratorium Riset Biokimia dan Bioteknologi Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Adapun alat-alat yang dibutuhkan pada penelitian ini yaitu seperangkat alat gelas, ayakan 90 mesh, timbangan analitik, oven, *aluminium foil*, *stirrer*, *hot plate*, *autoclave*, spatula, rak tabung reaksi, jarum ose, cawan petri, penjepit kayu, *shaker*, *micro pipet*, inkubator, *plastic wrap*, kapas steril, pinset, jangka sorong, lampu bunsen, korek api, vortex, LAF (*Laminar Air Flow*), tisu, *blue tip*, kertas cakram, kertas saring, dan *rotary evaporator vacuum*.

3.2.2. Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah sampel berupa bekatul beras merah varietas Inpari 24 yang diperoleh dari daerah Trawas, Mojokerto. *Rhizopus oryzae* (diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang), *S. aureus* dan *E. coli* (diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Nutrient*

Agar (NA), media *Nutrient Broth* (NB), etanol 96%, aquades, HCl 37%, DMSO, antibiotik kloramfenikol, dan NaCl 0,9%.

3.3. Rancangan Penelitian

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas antibakteri pada bekatul beras merah adalah metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak bekatul beras merah yang didapat setelah proses ekstraksi akan diuji aktivitas antibakteri-nya terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan metode difusi agar. Faktor lama fermentasi (F) dilakukan dengan lima variasi yaitu 3, 4, 5, dan 6 hari. Berikut adalah variasi lama fermentasi yang digunakan pada penelitian ini:

- Kontrol
- Fermentasi 3 hari (F3)
- Fermentasi 4 hari (F4)
- Fermentasi 5 hari (F5)
- Fermentasi 6 hari (F6)

Rangkaian dari proses penelitian yang akan dilakukan adalah bekatul beras merah yang telah melalui proses preparasi, ditambahkan aquades dengan perbandingan 1:1 dan ditambahkan inokulum jamur yang sudah dipersiapkan sebanyak 10%. Selanjutnya akan dilakukan proses fermentasi dengan variasi lama fermentasi 3, 4, 5, dan 6 hari pada suhu 37°C. Penelitian ini akan menggunakan variasi perlakuan lama fermentasi pada bekatul beras merah dan perlakuan tanpa fermentasi yang berfungsi sebagai kontrol, sehingga akan diperoleh total 5 perlakuan. Bekatul yang telah difermentasi akan diambil ekstraknya dengan

metode maserasi menggunakan pelarut etanol p.a. Ekstrak bekatul yang didapat selanjutnya dianalisis aktivitas antibakterinya dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

3.4. Tahapan Penelitian

Adapun tahapan-tahapan yang dilakukan pada penelitian ini adalah:

1. Sterilisasi alat.
2. Stabilisasi bekatul.
3. Pembuatan media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Nutrient Agar* (NA), dan media *Nutrient Broth* (NB).
4. Regenerasi kapang *Rhizopus oryzae*, bakteri *S. aureus*, dan bakteri *E. coli*.
5. Pembuatan Inolukum *Rhizopus oryzae*, bakteri *S. aureus*, dan bakteri *E. coli*.
6. Fermentasi bekatul beras merah dengan variasi lama fermentasi.
7. Ekstraksi senyawa antibakteri bekatul terfermentasi.
8. Uji fitokimia senyawa metabolit sekunder secara kualitatif.
9. Uji aktivitas antibakteri bekatul terfermentasi dengan metode difusi agar.
10. Analisis Data

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Sterilisasi Alat (Ola, 2017)

Tahap sterilisasi alat bertujuan untuk mensterilkan alat-alat yang akan digunakan pada penelitian dari berbagai kontaminan. Alat-alat yang digunakan

untuk penelitian ini dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan. Selanjutnya, alat-alat tersebut disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.5.2. Stabilisasi Bekatul (Izzani, 2020) dan (Nasir *et.al*, 2009)

Sampel bekatul beras merah diayak dengan ayakan 90 *mesh*. Stabilisasi dilakukan pada 100 g sampel bekatul yang dibungkus *aluminium foil* dengan suhu stabilisasi 110°C selama 15 menit. Bekatul yang telah distabilisasi didinginkan pada suhu ruang dan disimpan sampel kering untuk analisis selanjutnya.

3.5.3. Pembuatan Media

3.5.3.1. Nutrient Agar (NA) (Sari, 2020)

Serbuk NA ditimbang sebanyak 2 g kemudian dilarutkan dan dihomogenkan dalam 100 ml aquades dengan keadaan bibir erlenmeyer tertutup *aluminium foil*. Proses homogenisasi dilakukan menggunakan *stirrer* dengan pemanasan di atas *hot plate* hingga suspensi mendidih. Selanjutnya, suspensi dituangkan ke dalam tabung reaksi secara aseptik dan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Suspensi didiamkan dalam keadaan miring hingga terbentuk media padat miring.

3.5.3.2. Nutrient Broth (NB) (Aji, 2020)

Serbuk NB ditimbang sebanyak 0,8 g kemudian dilarutkan dan dihomogenkan dalam 100 mL aquades dengan keadaan bibir erlenmeyer tertutup *aluminium foil*. Proses homogenisasi dilakukan menggunakan *stirrer* dengan pemanasan di atas *hot plate* hingga suspensi mendidih. Selanjutnya, suspensi

dituangkan ke dalam tabung reaksi, ditutup rapat dengan *plastic wrap* dan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.5.3.3. *Potato Dextrose Agar (PDA)* (Wahzudin, 2020)

Bubuk PDA ditimbang sebanyak 4 g kemudian dilarutkan dan dihomogenkan dalam 100 ml aquades dengan keadaan bibir erlenmeyer tertutup *aluminium foil*. Proses homogenisasi dilakukan menggunakan *stirrer* sembari dipanaskan di atas *hot plate* hingga suspensi mendidih. Suspensi dituang ke dalam 16 tabung reaksi berbeda, masing-masing diisi suspensi sebanyak 6 mL. Bibir tabung reaksi tersebut ditutup dengan kapas steril dan *plastic wrap*. Selanjutnya, dilakukan sterilisasi suspensi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Suspensi didiamkan dalam keadaan miring hingga memadat.

3.5.4. Regenerasi Kapang *R. oryzae* (Estikomah, 2020) (Kurniati, 2011)

Sebanyak 1 ose *R. oryzae* yang diambil dari kultur murni, digoreskan secara aseptik pada media PDA miring yang sudah disterilisasi. Selanjutnya, kapang yang telah ditanamkan pada media diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari. Koloni-koloni kapang akan terbentuk dan siap dipanen.

3.5.5 Regenerasi Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* (Muharni et.al, 2017)

Sebanyak 1 ose bakteri uji diambil dari kultur murni. Digoreskan secara aseptik kultur murni tersebut pada media NA yang sudah disterilisasi. Selanjutnya, bakteri yang telah ditanamkan pada media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.5.6. Inokulum Kapang *Rhizopus oryzae*

Kapang yang telah tumbuh memenuhi media PDA pada cawan petri ditambahkan 50 mL aquades steril. Selanjutnya, dikikis miselia kapang secara halus dengan preparat steril secara aseptis hingga seluruhnya terkikis. Disaring suspensi dengan kassa steril dan diletakkan pada *beaker glass* steril.

3.5.7. Inokulum Bakteri *S.aureus* dan *E. coli* (Muharni *et.al*, 2017) (Hikmah, 2018)

Sebanyak 1 ose bakteri uji diambil dari media NA dan dimasukkan ke dalam 12 ml media NB. Selanjutnya, dilakukan pengocokan dengan *shaker incubator* pada suhu ruang dengan kecepatan 120 rpm selama 24 jam. Pengocokan dilakukan agar bakteri uji terhomogenkan dalam media NB.

3.5.8. Fermentasi Bekatul dengan Variasi Lama Fermentasi dan Jenis Bekatul (Fikriyah, 2018) (Jannah *et.al*, 2020)

Sampel bekatul 20 gram dicampurkan dengan aquades steril dengan perbandingan (bekatul : aquades) 1:1. Inokulum kapang *Rhizopus oryzae* ditambahkan ke dalam bekatul sebanyak 10% (v/b) dari kandungan bahan kering sampel secara aseptis dan dikocok dengan spatula steril. Dilakukan inkubasi sampel pada suhu 37°C dengan variasi lama inkubasi 3, 4, 5, dan 6 hari. Selanjutnya, hasil yang diperoleh dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 24 jam.

3.5.9. Ekstraksi Bekatul Terfermentasi (Jannah *et.al*, 2020) (Hikmah, 2018)

Ekstraksi bekatul terfermentasi dilakukan dengan metode maserasi. Bekatul terfermentasi dilarutkan dalam pelarut etanol p.a sebanyak 60 ml. Sampel dan pelarut dishaker dengan *shaker incubator* kecepatan 150 rpm selama 5 jam pada suhu kamar. Filtrat dipisahkan dari ampas dengan cara disaring dengan pompa vakum dan filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum*. Ekstrak pekat kemudian dioven pada suhu 40°C untuk menghilangkan pelarut yang kemungkinan masih tersisa.

3.5.10. Uji Fitokimia Ekstrak Bekatul Secara Kualitatif

Uji fitokimia secara kualitatif yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji fenolik, saponin, flavonoid, steroid/terpenoid, dan alkaloid.

3.5.10.1 Uji Fenolik

Ekstrak kental bekatul terfermentasi dimasukkan ke tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan metanol. Larutan yang terbentuk kemudian ditambahkan FeCl_3 1% sebanyak 2-3 tetes. Hasil positif ditandai dengan terjadi perubahan warna menjadi hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat (Putri *et.al*, 2018).

3.5.10.2 Uji Saponin

Ekstrak kental bekatul terfermentasi dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan aquades sebanyak 10 mL dan dikocok selama 1 menit. Jika terbentuk busa, maka ditambahkan HCl 1 N sebanyak 2 tetes dan terbentuknya busa terus diamati hingga 30 detik.

3.5.10.3 Uji Flavonoid

Ekstrak kental bekatul terfermentasi dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan metanol 50% panas sebanyak 1-2 ml. Logam Mg ditambahkan sedikit ke dalam larutan, dilanjutkan dengan HCl pekat yang ditambahkan sebanyak 4-5 tetes. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga.

3.5.10.4 Uji Steroid/Terpenoid

Ekstrak kental bekatul terfermentasi dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya, H₂SO₄ pekat ditambahkan sebanyak 1-2 mL ke dalam larutan dengan cara dialirkan melalui dinding tabung reaksi. Hasil positif steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan, sedangkan bila terbentuk cincin coklat atau violet pada perbatasan dua pelarut, maka mengindikasikan positif triterpenoid.

3.5.10.5 Uji Alkaloid

Ekstrak kental bekatul terfermentasi dimasukkan ke tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 mL HCl 2 % kemudian larutan dibagi menjadi 2 tabung reaksi. Tabung reaksi pertama diberikan 2-3 tetes reagen Dragendorff dan tabung kedua diberikan 2-3 tetes reagen Meyer. Hasil positif uji alkaloid dengan reagen Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan jingga, sedangkan pada uji alkaloid dengan reagen Meyer, hasil positif apabila terjadi endapan putih sampai kekuningan.

3.5.11. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bekatul Terfermentasi (Hikmah, 2018)

Ekstrak bekatul terfermentasi diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan metode difusi agar. Pertama-tama, media NA dipanaskan hingga mencair, kemudian didinginkan hingga suhunya mencapai 40°C. Dituangkan secara aseptik 100 mikrolite masing-masing bakteri uji ke dalam cawan petri. Selanjutnya, media NA cair dituangkan ke dalam cawan petri yang telah berisi inokulum bakteri uji. Campuran dihomogenkan dan didiamkan hingga memadat. Disiapkan kertas cakram untuk direndam dalam ekstrak bekatul terfermentasi yang telah ditambahkan DMSO dengan perbandingan 1:1. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol 200 mg yang dilarutkan dalam DMSO, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO tanpa penambahan apapun. Kertas cakram dilektakkan pada permukaan media NA menggunakan pinset steril dengan sedikit ditekan, Selanjutnya, direkatkan dengan *plastic wrap* dan dilakukan inkubasi pada media dengan kertas cakram pada suhu 37°C selama 24 jam sampai muncul daerah hambatan. Zona hambat yang terbentuk diukur dengan penggaris atau jangka sorong dan dihitung luasnya.

$$\text{Luas zona hambat} = \text{Diameter zona bening} - \text{Diameter cakram}$$

3.5.12. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa nilai aktivitas antibakteri ekstrak bekatul terfermentasi. Data tersebut selanjutnya akan diuji statistik dengan analisis varian (ANOVA) *One way* dengan SPSS 25. *One way* anova merupakan uji hipotesis yang menggunakan varian dan data analisis hasil pengamatan terhadap satu faktor.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat pengaruh variasi lama fermentasi terhadap aktivitas antibakteri bekatul beras merah terfermentasi *R. oryzae*. Variasi lama fermentasi 5 hari menunjukkan hasil rata-rata aktivitas antibakteri terbesar pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing sebesar 2,53 mm dan 3,90 mm, dimana aktivitas antibakteri tersebut dikategorikan sebagai zona hambat lemah. Hasil analisis statistik *One way* (ANOVA) didapatkan bahwa variasi lama fermentasi berpengaruh nyata terhadap hasil zona hambat uji antibakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian serupa dengan menggunakan penambahan buffer pH 5 saat fermentasi untuk memaksimalkan proses fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, R. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) dan Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Lampung: Fakultas Tarbiyah dan Keguruan UIN Raden Intan Lampung.
- Ade, F. Y. (2013). Isolasi dan Identifikasi Jamur-Jamur Pendegradasi Amilosa Pada Empelur Tanaman Sagu (*Metroxylon sagu* Rottb.). *Jurnal Ilmiah Edu Research*, 2(1), 27–34.
- Afni, Nur. (2013). Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Produksi Kandidat Antibiotika dari Isolat Bakteri Simbion dari Ganggang Hijau *Caulerpa racemosa*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
- Afni, N., Said, N., Yuliet. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Pasta Gigi Ekstrak Biji Pinang (*Areca catechu* L .) Terhadap *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus*. *GALENKA Journal of Pharmacy*, 1(1), 48–58.
- Afriani, N., Idiawati, N., & Alimuddin, A. H. (2016). Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) terhadap Larva *Artemia salina*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(1), 58–64.
- Agusta, W. T. (2016). Optimasi Formula Sabun Cair Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) dengan Variasi Konsentrasi Virgin Coconut Oil (Vco) dan Kalium Hidroksida (Koh). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 3(1).
- Aini, N., Wijonarko, G., & Sustriawan, B. (2016). Sifat Fisik, Kimia, dan Fungsional Tepung Jagung yang Diproses Melalui Fermentasi. *Jurnal Agritech*, 36(02), 160. <https://doi.org/10.22146/agritech.12860>.
- Aji, W. K. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Markisa Kuning (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* D.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Akbar, A. A. (2021). Efektifitas Minuman Bekatul Terhadap Kadar LDL dan HDL Siswa Sekolah Dasar Yang Obesitas. *J-KESMAS: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 7(1), 21-29.
- Alfaridz, F. (2018). Review jurnal: Klasifikasi dan aktivitas farmakologi dari senyawa aktif flavonoid. *Farmaka*, 16(3).
- Al-Khalid, T., & El-Naas, M. H. (2012). Aerobic biodegradation of phenols: A comprehensive review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 42(16), 1631–1690. <https://doi.org/10.1080/10643389.2011.569872>
- Amanulloh, M., & Krisdayanti, E. (2019). Jintan Hitam sebagai Imunomodulator dan Anti Inflamasi pada Pasien Asma. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 1(1), 115–120. <https://doi.org/10.37287/jppp.v1i1.32>

- Anggraini, W., Nisa, S. C., Ramadhani Da, R., & Ma'arif ZA, B. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96 % Buah Blewah (*Cucumis melo L. var. cantalupensis*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 5(1), 61–66.
- Appeabaum, S. W., & Birk, Y. (1979). Saponin didalam A Rosental. *Herbevores. Academic Press. Hal*, 539-561.
- Ardiansyah, A., Sabilla, D., David, W., Handoko, D. D., & Budijanto, S. (2020). Perubahan Aktivitas Antioksidan dan Profil Sensori Bekatul Fermentasi dari Varietas Sintanur dan Inpari 24. *Agritech*, 40(2), 150–160.
- Arphan, D., Praveen, J., & Ajay, S. (2013). Antibacterial Activity of Rice Bran Oil. *Recent Research in Science and Technology*. 5(2), 18–19.
- Aryahidayani, W. (2020). Aktivitas Bunga dan Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Varietas “Bangkok” dan “California” dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen. *Skripsi*. Jakarta: Program Studi Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- As-Sa'di, Syaikh Abdurrahman Bin Nashir. (2007). Tafsir Al-Quran Surat: An-Nisa s/d Al-An'am Jilid 2. Jakarta: Pustaka Sahifa
- Asadi, S., & Jamali, M. (2017). Assessment the Frequency of *Staphylococcus aureus* Golden Methicillin- Resistant (MRSA) and Vancomycin-Resistant VRSA in Determining the MIC Using E-Test. *Immunological Disorders and Immunotherapy*, 02(01). <https://doi.org/10.35248/2593-8509.17.2.112>
- Astawan, M., & Febrinda, A. E. (2010). Potensi Dedak dan Bekatul Beras Sebagai *Ingredient* Pangan dan Produk Pangan Fungsional. *Pangan*, 19(1), 14–21.
- Awaliah, H. (2020). Aktivitas Biji Pepaya (*Carica papaya L.*) Varietas ‘Bangkok’ dan ‘California’ dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Patogen. *Skripsi*. Jakarta: Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Azzahra, N., Jamilatun, M., & Aminah, A. (2020). Perbandingan Pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada Media Instan Modifikasi *Carrot Sucrose Agar* dan *Potato Dextrose Agar*. *Jurnal Mikologi Indonesia*, 4(1), 168–174. doi: 10.46638/jmi.v4i1.69
- Badan Pusat Statitik. (2020). Luas Panen dan Produksi Padi di Indonesia 2019-2020. Jakarta: Badan Pusat Statistik Indonesia.
- Badan Pusat Statistik. (2021). Luas Panen dan Produksi Padi 2021 (Angka Sementara). Berita Resmi Statistik No.77/10/Th.XXIV, 15 Oktober 2021
- Badrunnisa, S. (2013). Isolation of Oxylipin from Rice Bran as Antibacterial Principle against *Pseudomonas Aeruginosa*. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB)*, 1(1), 1–7.
- Benabda, O., M'Hir, S., Kasmi, M., Mnif, W., & Hamdi, M. (2019). Optimization of Protease and Amylase Production by *Rhizopus oryzae* Cultivated on Bread Waste Using Solid-State Fermentation. *Journal of Chemistry*, 2019.

<https://doi.org/10.1155/2019/3738181>

- Bintari, S. H., P. Anisa Dyah, J. Veronika Eka, & R. Rivana Citra. (2008). Efek Inokulasi Bakteri *Micrococcus luteus* Terhadap Pertumbuhan Jamur Benang dan Kandungan Isoflavon pada Proses Pengolahan Tempe. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v1i1.43>.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., Suhendra, L. (2019) Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana L.*) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551-560.
- Champreda, V., Mhuantong, W., Lekakarn, H., Bunternngsook, B., Kanokratana, P., Zhao, X. Q., ... & Eurwilaichitr, L. (2019). Designing cellulolytic enzyme systems for biorefinery: from nature to application. *Journal of bioscience and bioengineering*, 128(6), 637-654.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eleventh Edition. CLSI document M02-A11.
- Damarini, M. R. (2011). Pengaruh Lama Proses Dan Kecepatan Putar pada Maserasi Daging Buah Asam Jawa (*Tamarindus Indica L.*). *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Dewatisari, W. F. (2020). Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata Prain.*) Menggunakan Metode Maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Era Pandemi COVID-19*, 127-132.
- Dewinta, N. P. M. (2018). Optimasi Fermentasi Padat Menggunakan *Rhizopus oryzae* dalam Pembuatan Pakan Ikan Apung Tanpa Proses Sterilisasi. *Skripsi*. Jakarta: Program Studi Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Dwicaahyani, T., Sumardianto, & Rianingsih, L. (2018). Uji Bioaktivitas ekstrak Teripang Keling *Holothuria atra* sebagai Antibakter *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pengolahan Dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), 15–24.
- Efendi, Y., Yusra, & Efendi, V. O. (2017). Optimasi Potensi Bakteri *Bacillus subtilis* Sebagai Sumber Enzim Protease. *Jurnal Akuatika Indonesia*, 2(1), 87-94.
- Endrawati, D., & Kusumaningtyas, E. (2017). Beberapa Fungsi *Rhizopus sp* dalam Meningkatkan Nilai Nutrisi Bahan Pakan. *Wartazoa*, 27(2), 81-88.
- Ergina, S. N., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *J. Akad. Kim*, 3(3), 165–172.
- Estiasih, T., Ahmadi, K., & Santoso, V. (2021). Senyawa Bioaktif dan Potensi

- Bekatul Beras (*Oryza sativa*) sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Teknologi Pangan : Media Informasi dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*, 12(1), 30-43. <https://doi.org/10.35891/tp.v12i1.2308>
- Estikomah, S. A. (2020). Pemanfaatan *Rhizopus oryzae* dalam Pengembangan Produk Olahan Susu (Keju) Halal Berbasis Bioteknologi. *Pharmasipha*, 4(2), 34–38.
- Faizah, F., Kusnandar, F., & Nurjanah, S. (2020). Senyawa Fenolik, Oryzanol, dan Aktivitas Antioksidan Bekatul yang Difermentasi dengan *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 31(1), 86–94. <https://doi.org/10.6066/jtip.2020.31.1.86>.
- Faradisa, M. (2008). Uji Efektivitas Antimikroba Senyawa Saponin dari Batang Tanaman Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi Linn*). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fatima, Y. (2013). Daya Antibakteri Ekstrak Kulit dan Biji Buah Pulasan (*Nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* secara in Vitro. *Jurnal Peternakan*, 10(1), 31–38.
- Fazriyanti, N. (2015). Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Madu dan Lama Fermentasi terhadap pH, Total Asam, Gula Reduksi dan Potensi Antibakteri Kefir Air Leri. *Skripsi: Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Ferdaus, F., Wijayanti, M. O., Retnonigtyas, E. S., & Irawati, W. (2008). Pengaruh pH, Konsentrasi Substrat, Penambahan Kalsium Karbonat dan Waktu Fermentasi terhadap Perolehan Asam Laktat dari Kulit Pisang. *Jurnal Widya Teknik*, 7(1), 1–14.
- Ferdiansyah, M. K. (2017). Pengaruh Oksigen Pada Akumulasi *Poly Hydroxy Alkanoates* (PHA). *AGRISAINTEFIKA. Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 1(1), 15. <https://doi.org/10.32585/ags.v1i1.34>
- Fikriyah, Z. (2018). Pengaruh Lama Fermentasi dan Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Antioksidan Bekatul Terfermentasi oleh *Rizhopus oryzae*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., & Fitri, A. S. (2019). Aktivitas Anti Bakteri Daun Sirih: Uji Ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2), 101–108. <https://doi.org/10.30595/st.v16i2.7126>
- Friedman, M. (2013). Rice brans, rice bran oils, and rice hulls: composition, food and industrial uses, and bioactivities in humans, animals, and cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(45), 10626-10641.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., Juraimi, A. S., & Tayebi-Meigooni, A. (2015). Comparative evaluation of different extraction techniques and solvents for the assay of phytochemicals and antioxidant activity of hashemi rice

bran. *Molecules*, 20(6), 10822-10838.

- Ginting, B., Maira, R., . M., Helwati, H., Desiyana, L. S., & Mujahid, R. (2018). Isolation of Essensial Oil of Nutmeg (*Myristica fragrans Houtt*) and Antioxidant Activity Test with DPPH. *Jurnal Natural*, 18(1), 11–17. <https://doi.org/10.24815/jn.v18i1.6604>
- Greaves, R. F., Jevalikar, G., Hewitt, J. K., & Zacharin, M. R. (2015). A guide to understanding the steroid pathway: New insights and diagnostic implications. *Clinical Biochemistry*, 47(15), 5–15. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2014.07.017>
- Habibi, A. I., Firmansyah, R. A., & Setyawati, S. M. (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(1), 1–4.
- Hamad, A., Jumitera, S., Puspawiningtyas, E., & Hartanti, D. (2017). Aktivitas Antibakteri Infusa Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) Pada Tahu dan Daging Ayam Segar. *Inovasi Teknik Kimia*, 2(1), 1–8.
- Hammado, N., & Illing, I. (2013). Identifikasi Senyawa Bahan Aktif Alkaloid pada Tanaman Lahuna (*Eupatorium odoratum*). *Jurnal Dinamika*. 04(2), 1-18.
- Hanin, N. N. F., & Pratiwi, R. (2017). Kandungan Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Paku Laut (*Acrostichum aureum L.*) Fertil dan Steril di Kawasan Mangrove Kulon Progo, Yogyakarta. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 2(2), 51.
- Hartati, S., Marsono, Y., Suparmo, & Santoso, U. (2015). Komposisi Kimia serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Hidrofilik Bekatul Beberapa Varietas Padi. *Agritech*, 35(1), 35–42.
- Hasanah, U. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol 96% Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma longa L.*) dan Pare (*Momordica charantia L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Haslina, & Untari, S. (2017). Pengaruh Waktu Ekstraksi dan Konsentrasi Ekstrak Rambut Jagung (*Corn Silk*) Terhadap pH , Total Fenol Dan Aktivitas Antibakteri. *Pengembangan Rekayasa Dan Teknologi*, 13(2), 58–64.
- Hau, E. E. R., & Rohyati, E. (2017). Aktivitas Antibakteri Nira Lontar Terfermentasi dengan Variasi Lama Waktu Fermentasi Terhadap Bakteri Gram Positif (*Staphylococcus aureus*) dan Gram Negatif (*Escherichia coli*). *Jurnal Kajian Veteriner*, 5(2), 91–98.
- Husni, Hayatul. (2017). Morfologi Tumbuhan Menurut Perspektif Al-Qur'an (Kajian Terhadap Tafsir Thanthâwî Jawharî). *Tesis*. Jakarta: Program Studi Ilmu Agama Islam Institut Ilmu Al-Qur'an (IIQ).
- Heni, Arreneuuz, S., & Zaharah, T. A. (2015). Efektivitas Antibakteri Ekstrak

- Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Katulistiwa*, 4(1), 84–90.
- Hernández, L. L., Ramírez-Toro, C., Ruiz, H. A., Ascacio-Valdés, J. A., Aguilar-Gonzalez, M. A., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2017). *Rhizopus oryzae* – Ancient microbial resource with importance in modern food industry. *International Journal of Food Microbiology*, 257(May), 110–127. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.012>
- Hikmah, J. (2018). Pengaruh pH dan Suhu Terhadap Aktivitas Antibakteri Bekatul Terfermentasi oleh *Rhizopus oryzae*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Huang, Y. P., & Lai, H. M. (2016). Bioactive compounds and antioxidative activity of colored rice bran. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3), 564–574. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.01.004>
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., & Setiasih, N. L. E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71–79.
- Ikhwanuddin, M., Putra, A. N., & Mustahal. (2018). Pemanfaatan Dedak Padi Fermentasi Menggunakan *Aspergillus niger* sebagai Bahan Baku Pakan Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 8(1), 79–87.
- Indrasari, S. D., Wibowo, P., & Purwani, E. Y. (2010). Evaluasi mutu fisik, mutu giling, dan kandungan antosianin kultivar beras merah. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 29(1), 56-62.
- Janarny, G., & Gunathilake, K. D. P. P. (2020). Changes in rice bran bioactives, their bioactivity, bioaccessibility and bioavailability with solid-state fermentation by *Rhizopus oryzae*. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 23, 101510.
- Jannah, A., Barroroh, H., & Maunatin, A. (2020). Potential of extract rice bran fermented by *Rhizopus oryzae* as antibacterial against *Salmonella typhi*. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 456, No. 1, p. 012061). IOP Publishing.
- Jannah, A. M. (2010). Proses Fermentasi Hidrolisat Jerami Padi Untuk Menghasilkan Bioetanol. *Jurnal Teknik Kimia*, 17(1), 44–52.
- Jayanti, R. D., & Leoanggraini, U. (2020). Fermentasi Kitin dari Limbah Cangkang Kepiting Menggunakan Jamur *Rhizopus Oryzae* pada Berbagai Kadar Air. *Fullerene Journal of Chemistry*, 5(1), 10. <https://doi.org/10.37033/fjc.v5i1.144>
- Juliantari, D. N. P., Wrasati, L. P., & Wartini, N. M. (2018). Karakteristik Ekstrak Ampas Kopi Bubuk Robusta (*Coffea canephora*) Pada Perlakuan Konsentrasi Pelarut Etanol dan Suhu Maserasi. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 6(3), 243. <https://doi.org/10.24843/jrma.2018.v06.i03.p08>

- Kanti, A. (2017). Potensi dari Kapang *Aspergillus niger*, *Rhizopus oryzae* dan *Neurospora sitophila* sebagai Penghasil Enzim Fitase dan Amilase pada Substrat Ampas Tahu. *Buletin Peternakan*, 41(1), 26. <https://doi.org/10.21059/buletinpeternak.v41i1.13337>
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. T. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123–140. <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>
- Karlina, C. Y., Ibrahim, M., & Trimulyono, G. (2013). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L .) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*, 2(1), 87–93.
- Kemenag. (2010). *Tumbuhan dalam Perspektif Islam dan Sains*. Jakarta: Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an.
- Kholifah, N. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Ekstrak Etanol Rumput Bambu (*Lophatherum Gracile Brongn*) dan Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma Zedoaria (Berg.) Roscoe*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Khumaira, D. F. (2020). Pengaruh Suhu Berbeda Terhadap Efektifitas Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargasum plagyophyllum*) sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Fakultas Perikanan Dan Kelautan Universitas Riau*.
- Kiswandono, A. A. (2011). Perbandingan Dua Ekstraksi yang Berbeda pada Daun Kelor (*Moringa oleifera, lamk*) terhadap Rendemen Ekstrak dan Senyawa Bioaktif. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*. 1(1), 45-51.
- Kristiani, E. B. E., & Herawati, M. M. (2015). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri In Vitro Ekstrak Heksana-Petroleum Eter Artemisia cina Berg . ex Poljakov., *AGRIC*, 27(1), 30–37.
- Kumayas, A. R., Wewengkang, D. S., & Sudewi, S. (2015). Aktifitas Antibakteri Dan Karakteristik Gugus Fungsi Dari Tunikata Polycarpa Aurata. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(1), 32–44.
- Kurniati, T. (2011). Pengaruh Dosis Inokulum dan Waktu Fermentasi Oleh *Rhizopus oryzae* Terhadap Peningkatan Nilai Gizi Bungkil Biji *Jatropha curcas* L. 5(1–2), 79–90. <https://doi.org/10.14924/dermatol.75.525>
- Kurniati, Y., Budijanto, S., Nuraida, L., Nur, F., & Dewi, A. (2017). Peningkatan Senyawa Fenolik Bekatul dengan SSF (*Solid State Fermentation*) sebagai Pencegah Kanker. *Iptek Tanaman Pangan*, 12(2), 97–104.
- Kurniawan, E., Jekti, D. S. D., & Zulkifli, L. (2019). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Batang Bidara Laut (*Strychnos ligustrina*) Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(1), 61–69. <https://doi.org/10.29303/jbt.v19i1.1040>
- Kusnandar, F., & Nurjanah, S. (2020). Senyawa Fenolik, Oryzanol, dan Aktivitas

- Antioksidan Bekatul yang Difermentasi dengan *Rhizopus oryzae*. *Journal of Food Technology & Industry/Jurnal Teknologi & Industri Pangan*, 31(1).
- Kusumawaty, I., Fardiaz, D., Andarwulan, N., Widowati, S., & Budijanto, S. (2013). Stabilitas Bekatul dengan Ekstruder Ulir Ganda Menggunakan Response Surface Methodology. *J. Pascapanen*, 10(1), 27–37.
- Ku-Vera, J. C., Jiménez-Ocampo, R., Valencia-Salazar, S. S., Montoya-Flores, M. D., Molina-Botero, I. C., Arango, J., Gómez-Bravo, C. A., Aguilar-Pérez, C. F., & Solorio-Sánchez, F. J. (2020). Role of Secondary Plant Metabolites on Enteric Methane Mitigation in Ruminants. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(August). <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00584>
- Latumahina, M., Awan, A., & Rumahlatu, D. (2017). Pengaruh Shuhu dan Lama Fermentasi Terhadap Uji Organoleptik Pada Pembuatan Nata Buah Enau (*Areng pinnata Merr*). *BIOPENDIX: Jurnal Biologi, Pendidikan Dan Terapan*, 4(1), 29–37. <https://doi.org/10.30598/biopendixvol4issue1page29-37>
- Lie, M., Najooan, M., & Wolayan, F. R. (2015). Peningkatan Nilai Nutrien (Protein Kasar dan Serat Kasar) Limbah Solid Kelapa Sawit Terfermentasi dengan *Trichoderma reesei*. *J. LPPM Bidang Sains Dan Teknologi*, 2(1), 34–43.
- Lokapirnasari, W. P., Sari, D. K., S.B, R., Suwarno, Sabdoningrum, E. K., Triana, I. N., Nurhajati, T., & Nazar, D. S. (2012). Potensi Fermentasi Bekatul dengan Bakteri *Enterobacter Cloacae WPL 111* terhadap Kecernaan Serat Kasar pada Ayam Pedaging. *Veterinaria*, 5(3), 173–176.
- Lubis, P. A. H. (2015). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* serta *Salmonella sp.* yang Diisolasi dari Soto Ayam. *Skripsi*. Jakarta: Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Luthfianto, D., Niviyanti, D. R., & Kurniawati, I. (2017). Karakterisasi Kandungan Zat Gizi Bekatul pada Berbagai Varietas Beras di Surakarta. ISSN 2407- 9189.
- Mahardani, O. T., & Yuanita, L. (2021). Efek Metode Pengolahan dan Penyimpanan terhadap Kadar Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan. *UNESA Journal of Chemistry*, 10(1), 64–78.
- Manalu, R. T. (2017). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Asal Indonesia. *Sainstech Farma*, 10(2), 23–28. <https://ejournal.istn.ac.id/index.php/sainstechfarma/article/view/379/307>
- Maradona, D. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Durian (*Durio zibhetinus L.*), Daun Lengkek (*Dinocarpus longan Lour.*), Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Mardalena. (2016). Fase Pertumbuhan Isolat Bakteri Asam Laktat (BAL) Tempoyak Asal Jambi yang Disimpan Pada Suhu Kamar. *Jurnal Sain*

Peternakan Indonesia, 11(1), 58–66.

- Marliana, S. D., Suryanti, V., & Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq . Swartz .) dalam Ekstrak Etanol The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of. *Biofarmasi*, 3(1), 26–31.
- Mariyah, Y. (2020). Uji Fitokimia Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) dengan Pelarut Metanol. *Skripsi. Fakultas Sains Dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Maulid, R. R. (2016). Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan Pelarut Yang Berbeda Secara In Vitro. *Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang*.
- Maulidar. (2017). Isolasi dan Identifikasi Kapang Serasah Daun Tumbuhan di Kawasan Ie Suum Krueng Raya Aceh Besar Sebagai Penunjang Praktikum Mikologi. *Skripsi. Fakultas Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Ar-Raniry Darussalam*.
- Mauliyda, R. (2019). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp* . pada Jajanan Kue Basah yang Dijual Di Lingkungan Kampus UIN Ar-Raniry Banda Aceh. *Skripsi. Banda Aceh: Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh*.
- Melgar, G. Z. F. V. S. de A., Rocha, L. C. da, Fanti, S. C., Sette, L. D., & Porto, A. L. M. (2013). Growth Curves of Filamentous Fungi for Utilization in Biocatalytic Reduction of Cyclohexanones. *Global Journal of Science Frontier Research Chemistry*, 13(5), 12–19.
- Meliawaty, F. (2012). Efisiensi Sterilisasi Alat Bedah Mulut melalui Inovasi Oven dengan Ozon dan Infrared. *Maranatha J. of Medicine and Health*, 11(2), 147–167.
- Moensaku, E., Sine, Y., & Pardosi, L. (2021). Isolasi dan identifikasi kapang *Rhizopus* pada tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L). *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha*, 8(2), 61–69.
- Mpila, D. A., Fatimawali, & Wiyono, W. I. (2012). UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN MAYANA (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) TERHADAP *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* DAN *Pseudomonas aeruginosa* SECARA IN-VITRO. *Pharmacon*, 1(1), 13–21.
- Muharni, Fitriya, & Farida, S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Tanaman Obat Suku Musi di Kabupaten Musi Banyuasin , Sumatera Selatan. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 7(2), 127–135.
- Mulyatni, A. S., Budiani, A., & Taniwiryo, D. (2012). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L .) terhadap *Escherichia coli* , *Bacillus subtilis* , dan *Staphylococcus aureus*. *Menara Perkebunan*, 80(2),

77–84.

- Murtini, E. S., Iqbal Prawira-Atmaja, M., & Sutrisno, A. (2016). Pengaruh Metode Fermentasi Substrat Padat Dan Substrat Terendam Pada Biji Sorgum Terhadap Kualitas Tepung. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 27(1), 59–67. <https://doi.org/10.6066/jtip.2016.27.1.59>
- Mutmainah, S. (2015). Isolasi dan Identifikasi Fungi Endofit Pada Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) Sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nababan, H., Simanjuntak, H. A., & Gurning, K. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Herba Tumbuhan Balsem (*Polygala paniculata L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologica Samudra*, 2(1), 60–65.
- Nadiyah, Krisdianto, & Ajizah, A. (2005). Kemampuan Bakteri *Acetobacter xylinum* Mengubah Karbohidrat pada Limbah Padi (Bekatul) Menjadi Selulosa. *Bioscientiae Journal*, 2(2), 37–47. <http://bioscientiae.tripod.com>
- Nasir S, Fitriyanti, & Kamila H. (2009). Ekstraksi Dedak Padi Menjadi Minyak Mentah Dedak Padi (*Crude Rice Bran Oil*) dengan Pelarut N-Hexane dan Ethanol. *Jurnal Teknik Kimia*, 16(2), 1-10.
- Naufalin, R., Jenie, B. S. L., Kusnandar, F., Sudarwanto, M., & Rukmini, H. S. (2006). Pengaruh pH, NaCl dan Pemanasan terhadap Stabilitas Antibakteri Bunga Kecombrang dan Aplikasinya pada Daging Sapi Giling. In *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* (Vol. 17, Issue 3, pp. 197–203).
- Ningrum, R., Purwanti, E., & Sukarsono. (2016). Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Batang Karamunting (*Rhodomlyrtus tomentosa*) Sebagai Bahan Ajar Biologi *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*, 2(3), 231–236. <https://media.neliti.com/media/publications/118168>.
- Ningsih, A. W., Nurrosyidah, I. H., & Hisbiyah, A. (2020). Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *Journal of Pharmaceutical-Care Anwar Medika*. 2(2), 49-57. <https://doi.org/10.36932/jpcam.v2i2.27>
- Ningtyas, A. I. L. (2012). Antibakteri Ekstrak Etanolik Batang Pisang Kluthuk (*Musa balbisiana Colla*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Surakarta: Diploma 3 Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Nola, F., Putri, G. K., Malik, L. H., & Andriani, N. (2021). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Steroid dan Terpenoid dari 5 Tanaman. *Syntax Idea*, 3(7), 1612. <https://doi.org/10.36418/syntax-idea.v3i7.1307>
- Novelia, K., Purwijantiningsih, E., & Pranata, F. S. (2020). Kualitas dan Aktivitas Antibakteri Cincalok terhadap Bakteri Patogen Selama Waktu Fermentasi. *J.Gipas*, 4(2), 203–215.

- Novia, D. (2012). Pembuatan Yogurt Nabati melalui Fermentasi Susu Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*) Menggunakan Kultur Backslop. *Skripsi*. Depok: Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrinning Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1). <https://doi.org/10.29303/jppipa.v2i1.38>
- Nuraina. (2015). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun *Garcinia Benthami* Pierre dengan Metode Dilusi. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Nurhayati. (2011). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.), Cultivar Umbi Putih Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
- Nurhayati, L. S., Yahdiyani, N., & Hidayatulloh, A. (2020). Perbandingan Pengujian Aktivitas Antibakteri Starter Yogurt dengan Metode Difusi Sumuran dan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 1(2), 41. <https://doi.org/10.24198/jthp.v1i2.27537>
- Nurtiana, W., Budijanto, S., Nuraida, L., & Dewi, F. N. A. (2018). Bekatul Beras sebagai Pencegah Kanker Kolon. *Jurnal Pangan*, 1–11.
- Octavia, A., & Wantin, S. (2017). Perbandingan Pertumbuhan Jamur *Aspergillus flavus* Pada Media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan Media Alternatif dari Singkong (*Manihot esculenta* Crantz). *Jurnal Analis Kesehatan*, 6(2), 625–631. <https://doi.org/10.26630/jak.v6i2.788>
- Octaviani, M., & Syafrina, S. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Sawo (*Manilkara zapota* (L.) Van Royen). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 16(2), 131-136.
- Ohta, H. & Hattori, T. (1980). Bacteria Sensitive to Nutrient Broth Medium in Terrestrial Environment. *Soil Science and Plant Nutrition*, 26(1), 99-107.
- Ola, N. F. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aquous Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap Isolat Bakteri *Escherichia coli* dari Pasien Diare di Rumah Sakit Muhammadiyah Palembang. *Skripsi*. Palembang: Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Palembang.
- Pagarra, H. (2009). Laju Pertumbuhan Jamur *Rhizopus* sp . pada Tempe Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L .). *Bionature*, 10(2), 69–74.
- Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
- Pane, D., & Pakpahan, R. (2019). Fraksi Serat Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) yang Difermentasi dengan Kapang *Neurospora crassa*. *Seminar Nasional Ke-IV Fakultas Pertanian Universitas Samudra “Pertanian*

Berkelanjutan Berbasis Sumber Daya Lokal di Era Revolusi Industri 4.0", 176–186.

- Paramita, N. L. P. V., Rasmita, L. D., IGAARC, P., Utami, N. P. P., Budiningrum, N. W., Suastini, I. G. A. N., ... & Wirasuta, I. M. A. G. (2015). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Ekstrak kaya antosianin dari Kulit Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) dan Kulit Buah Anggur Hitam (*Vitis Vinifera* L.) terhadap Isolat Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Farmasi Udayana*, 5(2), 279747.
- Pasaribu, T. (2007). Produk Fermentasi Limbah Pertanian sebagai Bahan Pakan Unggas di Indonesia. *Wartazoa*, 17(3), 109–116.
- Poeloengan, M., & Praptiwi. (2010). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Gardnia mangostana* Linn). *Media Litbang Kesehatan*, 20(2), 65–69.
- Prabhu, A. A., Mrudula, C. M., dan Rajesh J. (2014). Effect of Yeast Fermentation on Nutraceutical and Antioxidant Properties of Rice Bran. *International Journal of Agricultural and Food Science*, 4 (1): 59-65.
- Pradani, W. A., Harisudin, M., & Khomah, I. (2021). Strategi Pemasaran Bekatul Beras Merah Instan di CV. Pantiboga Natural Food Specialist, Kecamatan Matesih, Kabupaten Karanganyar. *Agriecobis: Journal of Agricultural Socioeconomics and Business*, 4(1), 46-57.
- Pragita, A. S., Shafa, D. P., Nursifah, D., Rumidatul, A., Fadhila, F., & Maryana, Y. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit dan Kayu Sakit Ranting Sengon Terhadap Bakteri dan Jamur. *Jurnal Analis Kesehatan*, 9(2), 41-48.
- Prasetyo, W. S. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kesambi (*Schleichera oleosa* Lour Oken) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella typhi*. *Skripsi*. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Pratiwi, M. N. (2019). Aktivitas Antibakteri Fraksi Buah Jambu Wer (*Prunus persica* (L.) Batsch) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Prayoga, Eko. (2013). Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Purba, S. A. (2017). Analisa Air di PT. Tirta Sukses Perkasa dengan Metode Membran Filter menggunakan Media *Total Plate Count* (TPC) dan *Potato Dextrose Agar* (PDA). *Tugas Akhir*. Medan: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Purnamaningsih, N., Kalor, H., & Atun, S. (2017). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Jurnal*

Penelitian Saintek, 22(2), 140–147.

- Purnamasari, F. (2021). Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *Jurnal Kesehatan*, 4(3), 231-237.
- Puspitasari, A. D., Prayogo, L. S. (2017). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Soxhletasi terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*. 1-8.
- Puspitasari, L., Swastini, D. a., & Arisanti, C. I. . (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 95% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *Garuda Portal*, 961, 5.
- Putrawan, I. D. G. A., Nugroho, R., & Anggara, R. (2017). Ekstraksi Asam Lemak Bebas dari Minyak Dedak Padi Menggunakan Etanol-Air dalam Tangki Pengaduk. *Reaktor*. <https://doi.org/10.14710/reaktor.17.3.166-176>
- Putri, Mirna Tiarani. (2018). Identifikasi Kandungan Senyawa dan Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Skripsi. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta
- Rahmadani, F. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Helicobacter pylori*, *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Jakarta:Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah.
- Rahmadhani, R., Putra, G. P. G., & Suhendra, L. (2020). Karakteristik Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan pada Perlakuan Ukuran Partikel dan Waktu Maserasi. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 8(2), 246-256.
- Rahmi, N., Khairiah, N., Rufida, Hidayati, S., & Muis, A. (2020). Pengaruh Fermentasi terhadap Total Fenolik, Aktivitas Penghambatan Radikal dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tepung Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Willd). *Akta Kimia Indonesia*, 11(1), 9–18.
- Rimadhini, F. N., Sumardianto, & Romadhon. (2020). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Rusip Ikan Teri (*Stolephorus* sp.) dengan Konsentrasi Gula Aren Cair yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, 2(1), 54–63.
- Rizal, S. (2020). Manfaat Islam dan Tumbuhan “Sumber Belajar Anak” dalam Perspektif Islam. *Jurnal Pendidikan Anak Usia Dini*, 1(2), 96–107.
- Rizky, S. A. (2018). Pengaruh Konsentrasi Inokulum dan Lama Fermentasi Terhadap Aktivitas Antibakteri Bakteriosin yang dihasilkan Oleh *Lactobacillus plantarum*. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Robinson, T.(1995). Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Edisi VI, Hal 191-

216, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung.

- Rossita, A. S., Munandar, K., & Komarayanti, S. (2017). Komparasi Media NA Pabrik dengan NA Modifikasi untuk Media Pertumbuhan Bakteri. *Seminar Nasional Biologi, IPA, dan Pembelajarannya I, 1*, 192–201.
- Rusono, N., Suanri, A., Candradijaya, A., Muharam, A., Hadi, I. M. T. P. U., & Maulana, S. H. S. M. (2013). Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional (RPJMN) Bidang Pangan dan Pertanian 2015-2019. Jakarta: Direktorat Pangan dan Pertanian Bappenas.
- Safrida, S., Budijanto, S., Nuraida, L., & Priosoeryanto, B. P. (2020). Potency of Bioactive Compound of Rice Bran for Colon Cancer Prevention. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 16(2), 284-295. <https://doi.org/10.15294/kemas.v16i2.21133>.
- Salsabila, F. S. (2020). Efektivitas Ekstrak Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium Walp.*) Sebagai Antimikroba Terhadap *Salmonella typhi*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sari, D. L. (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak Muda dan Tua (*Annona muricata L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Medan: Program Ekstensi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Sari, E. A. I. (2008). Pengaruh Variasi Fermentasi Substrat dan Lama Fermentasi Terhadap Produksi Alkohol Pisang Klutuk (*Musa branchycarpa*). Skripsi. Malang: Jurusan Biologi Fakultas sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Sari, F., Nugrahani, R. A., Nelfiyanti, N. H. F., & Susanty. (2018). Pengaruh Penambahan Ekstrak Minyak Dedak Padi (*Rice Bran Oil*) Terhadap pH dan Sifat Antimikrobia Sabun Cair. *Seminar Nasional Sains Dan Teknologi 2018 Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta, 1–6*, 1–6.
- Sari, R. P. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tapak Liman Semu (*Pseudelephantopus spicatus*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Skripsi. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Schmidt, C. G., Gonçalves, L. M., Prietto, L., Hackbart, H. S., & Furlong, E. B. (2014). Antioxidant activity and enzyme inhibition of phenolic acids from fermented rice bran with fungus *Rizhopus oryzae*. *Food Chemistry*, 146, 371–377. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.101>
- Seftian, D., Antonius, F., & Faizal, M. (2012). Pembuatan Etanol Dari Kulit Pisang Menggunakan Metode Hidrolisis Enzimatik dan Fermentasi. *Jurnal Teknik Kimia*, 18(1), 10–16.
- Setyoaji, M. I., Subehi, M., & Nugrahani, R. A. (2019). Pembuatan Natrium Alginat dari Alga Coklat (*Phaeophyta*) dan Pengaruh Penambahannya Pada Sifat Antibakterial Sabun Minyak Dedak Padi (*Rice Bran Oil*). *Jurnal*

Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri, 7(3), 370–379.

- Shihab, M. Quraish. (2006). Tafsir Al-Mishbah (Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an). Jakarta: Lentera Hati.
- Shofa, S. A. (2020). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada Nanopartikel Kitosan Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum* L.), Jeringau (*Acorus calamus* L.), Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val.) dan Kombinasinya. *Skripsi.Malang : UIN Maulana Malik Ibrahim*, 1(1), 1–116.
- Simare, E. . (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). *Pharmacy*, 11(01), undefined.
- Souza, Denardi de, T., Leal, C. A., Massarolo, K. C., & Badiale-Fulong, E. (2019). Profile of Phenolic Compounds Released from Rice Bran by *Rhizopus oryzae* and *Trichoderma reesei*: Their Relation with Hydrolases Activity. *Journal of Food Science*, 84(6), 1382–1389. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14646>
- Suhery, W. N., Fernando, A., & Has, N. (2016). Uji aktivitas antioksidan dari ekstrak bekatul padi ketan merah dan hitam (*Oryza sativa* L. var. *Glutinosa*) dan formulasinya dalam sediaan krim. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 13(1), 101-115.
- Sukma, L. N., & Gumilar, G. G. (2010). Pengkayaan Asam Lemak Tak Jenuh pada Bekatul dengan Cara Fermentasi Padat Menggunakan *Aspergillus terreus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, 1(1), 66-72.
- Sulaiman. (2014). Pertumbuhan Bakteri Pengoksidasi Amoniak dari Limbah Cair Pabrik Pupuk Urea dan Pengajarannya di SMA Negeri 15 Palembang. *Skripsi. Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Palembang*.
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 56–62.
- Supartini, N., & Fitasari, E. (2011). Penggunaan Bekatul Fermentasi “*Aspergillus Niger*” dalam Pakan Terhadap Karakteristik Organ Dalam Ayam Pedaging. *Buana Sains*, 11(2), 127–136.
- Suryanto, E., & Taroreh, M. (2020). Aktivitas Antioksidatif dan Anti-Glikasi Ekstrak Fenolik Bebas dan Fenolik Terikat dari Tongkol Jagung. *CHEMISTRY PROGRESS*, 13(2).
- Suryati, N., & Bahar, E. (2017). Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak *Aloe vera* Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In Vitro . *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(3), 518–522.
- Thohari, N. M., Pestariati, & Istanto, W. (2019). Pemanfaatan Tepung Kacang Hijau (*Vigna radiata* L.) Sebagai Media Alternatif NA (*Nutrient Agar*) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Analisis Kesehatan*

Klinikal Sains, 8(2), 725–737. journal.poltekkesdepkes-sby.ac.id

- Thushara, P. A. N., Godakumbura, P. I., & Prashantha, M. A. B. (2019). Agronomic characters and chemical composition of Sri Lankan novel red pericarp rice (*Oryza sativa* L.) variety.
- Tuarita, M. Z., & Sadek, N. F. (2017). Pengembangan Bekatul sebagai Pangan Fungsional: Peluang, Hambatan, dan Tantangan. *Jurnal Pangan*, 26(22).
- Tyas, Sutiara Prihatining. (2020). Optimasi Pertumbuhan Isolat *Actinomyces* (Isolat *TE 235*) dan Uji Aktivitas Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Magelang.
- Ulfa, S. M. (2016). Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dalam Bekatul dengan Menggunakan Variasi Pelarut. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Utami, C. (2009). Studi In Vivo Produk Sereal dari Tepung Bekatul dan Tepung Ubi Jalar sebagai Pangan. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 14(2).
- Vifta, R. L., & Advistasari, Y. D. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*, 1, 8–14.
- Wahyuni, N. M. S., Wrasati, L. P., Hartiati, A. (2020). Pengaruh Perlakuan Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bambu Duri (*Bambusa blumeana*) sebagai Sumber Antioksidan. *Jurnal Ilmiah Teknologi Pertanian Agrotechno*, 5(1), 27-33
- Wahyuningsih, N., & Zulaika, E. (2018). Perbandingan Pertumbuhan Bakteri Selulolitik pada Media *Nutrient Broth* dan *Carboxy Methyl Cellulose*. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 7(2), 7–9. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v7i2.36283>
- Wahzudin, M. M. (2020). Pengaruh Suhu dan Lama Fermentasi Terhadap Peningkatan Minyak Bekatul Terfermentasi *Rhizopus oryzae*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Wanna, A., Singanusong, R., Wichaphon, J., & Klangpetch, W. (2015). Effect of Extraction Solvents on Antioxidant and Antibacterial Activities of Riceberry Bran Extracts. *17th Food Innovation Asia Conference 2015 (FIAC 2015)*, 423–428.
- Wasito, H. (2008). Meningkatkan Peran Perguruan Tinggi melalui Pengembangan Obat Tradisional Untuk Mengentaskan Kemiskinan. *MIMBAR, Jurnal Sosial Dan Pembangunan*, 24(2), 117–128.
- Wardani, Y. K., Kristiani, E. B. E., & Suchayo, S. (2020). Korelasi Antara Aktivitas Antioksidan dengan Kandungan Senyawa Fenolik dan Lokasi Tumbuh Tanaman *Celosia argentea* Linn. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 22(2), 136-142.

- Wenas, D. M. (2021). Kajian Potensi Ekstrak Beras Merah dan Aplikasinya dalam Perawatan Kulit. *SAINSTECH FARMA*, 14(2), 121-126.
- Widarta, I. W. R., & Arnata, I. W. (2014). Stabilitas Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bekatul Beras Merah terhadap Oksidator dan Pemanasan pada Berbagai pH. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 25(2), 193–199. <https://doi.org/10.6066/jtip.2014.25.2.193>
- Widyastuti, Y., Yuliani, N., & W, I. G. A. M. (2016). Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Lidah Buaya (*Aloe vera L*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, 6(1), 33-43.
- Wijayanti, R., & Arniputri, R. B. (2019). Sosialisasi Olahan Limbah Bekatul Organik Sebagai Pangan Fungsional Untuk Meningkatkan Pendapatan Petani. *SENADIMAS*.
- Wiyanto, D. B. (2010). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumput Laut *Kappaphycus alvarezii* dan *Euचेuma denticullatum* Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* dan *Vibrio harveyii*. *Jurnal Kelautan*, 3(1), 1–17.
- Wuryanti. (2008). Pengaruh Penambahan Biotin pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel *Aspergillus niger*. *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 10(2), 46–50.
- Yosi, F., Sandi, S., & Sahara, E. (2014). Analisis Sifat Fisik Bekatul dan Ekstrak Minyak Bekatul Hasil Fermentasi *Rhizopus sp.* dengan Menggunakan Inokulum Tempe. *Jurnal Peternakan Sriwijaya*, 3(1), 7–13. <https://doi.org/10.33230/jps.3.1.2014.1721>
- Yulianingtyas, A., & Kusmartono, B. (2016). Optimasi Volume Pelarut dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). *Jurnal Teknik Kimia*. 10(2), 58-64.
- Yuliantari, N. W. A., Widarta, I. W. R., & Permana, I. D. G. M. (2017). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Menggunakan Ultrasonik. *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 4(1), 35–42.
- Zarei, I., Brown, D. G., Nealon, N. J., & Ryan, E. P. (2017). Rice Bran Metabolome Contains Amino Acids , Vitamins & Cofactors , and Phytochemicals with Medicinal and Nutritional Properties. *Rice*, 10(24), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s12284-017-0157-2>