

**PENENTUAN SENYAWA FENOLIK DAN UJI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PADA DEDAK PADI TERFERMENTASI
OLEH *Saccharomyces cerevisiae***

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar sarjana (S.Si.)
Program Studi Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia Yogyakarta**



Diajukan oleh :

SRI RUBIATI

No. Mahasiswa : 16612083

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2021

**PENENTUAN SENYAWA FENOLIK DAN UJI AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PADA DEDAK PADI TERFERMENTASI
OLEH *Saccharomyces cerevisiae***

SKRIPSI

yang diajukan oleh :

SRI RUBIATI

No Mhs : 16612083

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 23 Februari 2021

Dewan Penguji :

1. Dr. Tatang Shabur Julianto, S.Si., M.Si. (.....)
2. Dr. Habibi Hidayat, S.Pd., M.Si. (.....)
3. Dr. Maisari Utami, S.Si. (.....)

Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D.
NIK : 006120101

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sri Rubiati

NIM : 16612083

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya dengan judul Penentuan Senyawa Fenolik dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Dedak Padi Terfermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae* bersifat asli dan tidak berisi material yang telah diterbitkan sebelumnya kecuali referensi yang disebutkan di dalam skripsi ini. Apabila terdapat kontribusi dari penulis lain, maka penulis tersebut secara eksplisit telah disebutkan didalam skripsi ini. Apabila kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan di proses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan penuh tanggung jawab.

Yogyakarta, 23 Februari 2021

Yang Menyatakan,



Sri Rubiati

NIM. 16612083

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb

Dengan rasa syukur kehadiran Allah Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Penentuan Senyawa Fenolik dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Dedak Padi Terfermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*”. Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada *Akhiirul anbiyaa’ Nabiyallah* Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan seluruh pengikutnya hingga akhir zaman.

Dalam penulisan Proposal Skripsi ini mungkin tidak akan dapat terselesaikan tanpa adanya bimbingan, nasihat, bantuan, saran, serta motivasi dan dukungan yang diberikan kepada penulis, oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Allah SWT
2. Fathul Wahid, S.T., M.Sc., Ph.D., selaku Rektor Universitas Islam Indonesia.
3. Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
4. Dr. Dwiarso Rubiyanto, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
5. Dr. Tatang Shabur Julianto, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah banyak meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penulis selama melakukan perencanaan, penelitian hingga penulisan skripsi ini.
6. Kedua orang tua yang senantiasa mendo’akan dan memberi dukungan baik moril dan material serta semua keluarga yang selalu mendukung.
7. Ika dan Suci yang telah membantu dan mendampingi selama proses penelitian.
8. Tika, Sukma, Dhea, Wiwik, Sri serta teman-teman Kimia B 2016 yang telah memberikan dukungan dan motivasi serta mendampingi selama perkuliahan.

9. Semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan kepada penulis, yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, semoga Allah membalas kebaikannya.

Dengan tersusunnya Skripsi ini mudah-mudahan dapat bermanfaat bagi semua pembaca umumnya, khususnya bagi penulis selaku penyusun dan umumnya bagi semua kalangan masyarakat. Skripsi ini mungkin jauh dari kesempurnaan oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan sekali saran dan kritik dari pihak pembaca yang sifatnya membangun.

Wassalamualaikum Wr, Wb

Yogyakarta, 23 Februari 2020

Penulis

PENENTUAN SENYAWA FENOLIK DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA DEDAK PADI TERFERMENTASI OLEH *Saccharomyces cerevisiae*

Sri Rubiati

No. Mahasiswa : 16612083

INTISARI

Telah dilakukan penentuan senyawa fenolik dan uji aktivitas antioksidan pada dedak padi yang terfermentasi oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan senyawa fenolik yang dihasilkan oleh proses fermentasi serta melakukan uji aktivitas antioksidannya. Proses fermentasi menggunakan variasi waktu 2,5 dan 7 hari. Hasil fermentasi dianalisis dengan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS). Senyawa fenolik terdapat pada fermentasi hari ke-2 dengan nama senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol. Penentuan senyawa aktivitas antioksidan ekstrak dedak padi yang mengandung senyawa fenolik dengan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan aktivitas antioksidan asam askorbat sebagai pembanding. Aktivitas antioksidan asam askorbat sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 16,984 ppm dan ekstrak dedak padi yang mengandung senyawa fenolik memiliki nilai IC_{50} sebesar 38,001 ppm yang menunjukkan aktivitas antioksidan kuat.

Kata kunci : Dedak, *Saccharomyces cerevisiae*, GC-MS, DPPH, IC_{50}

**DETERMINATION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND
ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST ON FERMENTED RICE
BRAN BY *Saccharomyces cerevisiae***

Sri Rubiati

Student Number : 16612083

ABSTRACT

The determination of phenolic compounds and antioxidant activity tests on rice bran fermented by *Saccharomyces cerevisiae* has been carried out. This study aims to determine the phenolic compounds produced by the fermentation process and to test their antioxidant activity. The fermentation process uses a time variation of 2,5 and 7 days. The fermentation results were analyzed by *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS). Phenolic compounds are found on the 2nd day of fermentation with the name of 2,6-Tert-Butyl-4-Methylphenol compounds. Determination of the compound antioxidant activity of rice bran extract containing phenolic compounds using the *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) method with the antioxidant activity of ascorbic acid as a comparison. The antioxidant activity of ascorbic acid was very strong with an IC₅₀ value of 16,984 ppm and the rice bran extract containing phenolic compounds had an IC₅₀ value of 38,001 ppm which showed strong antioxidant activity.

Keywords: Bran, *Saccharomyces cerevisiae*, GC-MS, DPPH, IC₅₀

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	vi
ABSTRACT	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
BAB III DASAR TEORI	9
3.1 Dedak.....	9
3.2 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11
3.3 Fermentasi.....	15
3.4 Senyawa Fenolik.....	18
3.5 Aktivitas Antioksidan.....	21
3.6 Spektrofotometri UV-Vis.....	25
3.7 <i>Gas Chromatography – Mass Spectroscopy</i> (GC-MS).....	28
BAB IV METODE PENELITIAN	32
4.1 Alat dan Bahan.....	32
4.1.1 Alat.....	32
4.1.2 Bahan.....	32
4.2 Prosedur Kerja.....	32

4.2.1 Sterilisasi Alat	32
4.2.2 Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	33
4.2.3 Pembuatan Media <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB)	33
4.2.4 Isolasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	33
4.2.5 Preparasi Sampel Dedak.....	35
4.2.6 Fermentasi Dedak Padi.....	36
4.2.7 Ekstraksi Dedak Terfermentasi	36
4.2.8 Identifikasi Senyawa dengan <i>Gas Chromatography–Mass Spectroscopy</i> (GC-MS)	36
4.2.9 Uji Aktivitas antioksidan.....	37
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	41
5.1 Sterilisasi	41
5.2 Media Pertumbuhan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	42
5.3 Inokulasi <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	43
5.4 Fermentasi Dedak Padi oleh <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	48
5.5 Uji Aktivitas Antioksidan.....	56
5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH	57
5.5.2 Pengukuran Kurva Standar DPPH.....	59
5.5.3 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dedak	60
BAB VI PENUTUP	68
6.1 Kesimpulan.....	68
6.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	80

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur anatomi beras	2
Gambar 2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada mikroskop cahaya perbesaran 1000. 11	
Gambar 3. Contoh senyawa fenilpropanoid.....	20
Gambar 4. Reaksi penggabungan pembentukan dan penggabungan radikal fenoksil	21
Gambar 5. Struktur DPPH.....	24
Gambar 6. Reduksi DPPH oleh senyawa antioksidan.	25
Gambar 7. Skema spektrofotometer UV-Vis	28
Gambar 8. Koloni <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada media PDA.....	44
Gambar 9. Kultur <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada media PDB sebelum shaker (a), Kultur <i>Saccharomyces cerevisiae</i> pada media PDB setelah shaker (b)	45
Gambar 10. Pengenceran bertingkat <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	46
Gambar 11. Fermentasi hari ke 2 (a), hari ke 5 (b), hari ke 7 (c).....	50
Gambar 12. Mekanisme degradasi selulosa, CBH (cellobiohidrolase atau $\text{exo-}\beta\text{-glucanase}$), EG (endo- $\beta\text{-glucanase}$), βG ($\beta\text{-glucosidase}$)	50
Gambar 13. Representasi struktur senyawa fenolik dalam tumbuhan	51
Gambar 14. Kromatogram GC-MS ekstrak dedak terfermentasi hari ke 2.....	53
Gambar 15. Spektra senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol	53
Gambar 16. Struktur senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol	54
Gambar 17. Struktur 3D senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol	54
Gambar 18. Kromatogram GC-MS ekstrak dedak terfermentasi hari ke 5.....	54
Gambar 19. Kromatogram GC-MS ekstrak dedak terfermentasi hari ke 7.....	55
Gambar 20. Panjang gelombang maksimum	58
Gambar 21. Kurva standar DPPH	59
Gambar 22. Kurva hubungan % inhibisi antioksidan terhadap konsentrasi asam askorbat.....	61
Gambar 23. Reaksi penghambat radikal DPPH	62
Gambar 24. Mekanisme reaksi yang terjadi antara vitamin C (asam askorbat) dengan DPPH	63

Gambar 25. kurva hubungan % inhibisi antioksidan terhadap konsentrasi ekstrak dedak.....	64
Gambar 26. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan.....	66
Gambar 27. Mekanisme senyawa fenolik dalam meredam radikal bebas	66
Gambar 28. Mekanisme reaksi senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metifenol dengan DPPH dalam meredam radikal bebas	67



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Komposisi zat gizi pada setiap bagian beras per 100 gram.	9
Tabel 2. Hasil absorbansi seri pengenceran dan Mcfarland.....	47
Tabel 3. McFarland scale value	48
Tabel 4. Tabel Hasil GC-MS ekstrak dedak hari ke 2	53
Tabel 5. Tabel Hasil GC-MS ekstrak dedak hari ke 5	55
Tabel 6. Tabel Hasil GC-MS ekstrak dedak hari ke 7	55
Tabel 7. Hasil absorbansi larutan standar DPPH	59
Tabel 8. Hasil absorbansi asam askorbat	60
Tabel 9. Hasil absorbansi blanko	60
Tabel 10. Hasil perhitungan antioksidan asam askorbat.....	61
Tabel 11. Hasil Absorbansi ekstrak dedak.....	64
Tabel 12. Hasil perhitungan antioksidan sampel ekstrak dedak	65

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Kerja	81
Lampiran 2. Dokumentasi	89
Lampiran 3. Perhitungan	93
Lampiran 4. Hasil Spektrofotometri UV-vis	99
Lampiran 5. Hasil Analisis GC-MS	105



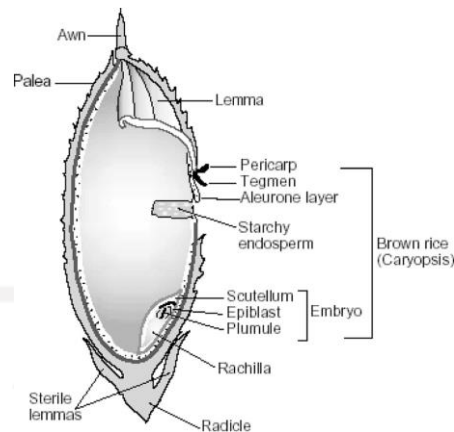
BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produksi padi di Indonesia memiliki produktifitas yang cukup besar. Setiap tahunnya produksi padi hampir mengalami peningkatan. Menurut Badan Pusat Statistik mengungkapkan bahwa produksi padi pada tahun 2012 diperkirakan sebesar 68,96 juta ton Gabah Kering Giling (GKG) atau mengalami kenaikan sebesar 3,20 juta ton (4,87 persen) dibandingkan 2011. Dengan kondisi produksi padi yang selalu meningkat seperti ini dapat membawa dampak yang baik bagi masyarakat Indonesia. Di sisi lain, dengan besarnya jumlah produksi padi maka mengakibatkan bertambah besar juga hasil sisa dari penggilingan padi menjadi beras. Hasil penggilingan ini menghasilkan produk samping seperti menir, beras pecah, sekam, dan dedak (dedak padi). Menir dan beras pecah dapat digiling menjadi tepung sebagai bahan berbagai kue dan makanan lainnya. Sekam dapat dimanfaatkan untuk bahan bakar serta kompos. Sementara itu dedak saat ini baru dimanfaatkan untuk pakan ternak dan belum banyak digunakan sebagai sumber pangan manusia (Hapsari, dkk., 2013).

Selama ini yang terjadi di masyarakat dedak padi banyak digunakan sebagai pakan ternak, karena di dalam dedak padi terkandung nilai gizi yang tinggi, yaitu: air (2,49%), protein (8,77%), lemak (1,09%), abu (1,60%), serat (1,69%), karbohidrat (84,36%), kalori (382,32 kal) dan sangat layak untuk dikonsumsi. Kandungan gizi dalam dedak ini memiliki manfaat yang baik bagi tubuh (Hartanto, 2010). Dedak jagung juga kaya hara. Adapun kandungan haranya adalah 1% air; 356 kalori; 9% protein; 8,5% lemak; 64,5% karbohidrat; 200 mg Ca; 10 mg Fe; 500 mg P; 51 mg/100 g bahan vitamin A; 1,2 mg vitamin B dan 89 % vitamin C (Isnawati dan Mahanani, 2003).



Gambar 1. Struktur anatomi beras (Rathna, 2019)

Sebutir beras utuh mempunyai tiga bagian penting, yaitu endosperma, dedak, dan lembaga. Endosperma terdiri dari lapisan aleuron dan bagian berpati. Penyosohan beras utuh akan menghasilkan beras sosoh, dedak dan bekatul (Astawan dan Leomitro, 2009). Dedak terdiri dari lapisan sebelah luar butiran padi dengan sejumlah lembaga biji sementara bekatul adalah lapisan dalam butiran padi dan termasuk sebagian kecil endosperm berpati. Namun, karena alat penggilingan padi tidak dapat memisahkan antara dedak dan bekatul maka dedak dan bekatul bercampur menjadi satu dan disebut dedak atau bekatul saja (Hadipernata, 2007).

Pada dedak kaya akan zat-zat gizi yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Pada dedak dan bekatul dapat ditemukan serat pangan, asam lemak tidak jenuh, sterol, protein dan juga mineral. Dedak padi (rice bran) merupakan sisa dari penggilingan padi, yang dimanfaatkan sebagai sumber energi pada pakan ternak dengan kandungan serat kasar berkisar 6-27 % (Putrawan dan Soerawidjaja, 2007). Dedak padi sendiri dapat di ekstrak menjadi minyak yang biasa disebut dengan minyak dedak padi (Crude Rice Bran Oil). Minyak dedak padi merupakan salah satu jenis minyak yang memiliki kandungan nutrisi tinggi serta berbagai macam asam lemak, senyawa-senyawa biologis aktif dan senyawa-senyawa antioyidan seperti: oryzanol, tokoferol, tokotrienol, fitosterol, polifenol dan squalene (Goffman, 2003).

Permasalahan penggunaan dedak sebagai bahan pangan adalah fungsionalitas dari senyawa bioaktif dari dedak yang disebabkan oleh bentuknya yang terikat pada

matriks senyawa lain yaitu lignin (Zhang, dkk, 2010). Proses fermentasi dapat digunakan untuk melepas ikatan fitokimia sehingga dapat meningkatkan bentuk bebasnya dan bioavailabilitasnya (Rashid, dkk, 2015). Proses fermentasi juga dapat memperbaiki stabilitas, palatabilitas, dan nilai gizi dedak (Ryan, dkk, 2011). Fermentasi kapang dapat meningkatkan availabilitas senyawa bioaktif pada dedak yang disebabkan oleh kemampuan kapang dalam mendegradasi matriks lignoselulosa dan polisakarida secara enzimatik (Schmidt dan Furlong, 2012).

Pada limbah pertanian penanganan, fermentasi menggunakan bakteri asam laktat dapat meningkatkan komposisi kimia dan bioaktivitas dari substrat dengan menghasilkan enzim yang mendegradasi dinding sel tanaman. Sejumlah penelitian fermentasi telah dilakukan pada dedak padi. Fermentasi dedak padi yang dihasilkan metabolit aktif biologis seperti lipid, protein, vitamin B, dan asam amino esensial, asam fenolik, asam ferulat, asam vanilat, asam protokatekuat, γ -oryzanol, asam fitat, dan inositol (Junnu, dkk., 2012). Senyawa fenolik seperti asam ferulat seringkali tidak tersedia secara biologis sehingga fermentasi dapat membantu peningkatan potensi antioksidan. Beberapa mikroba seperti *Rhizopus oryzae*, *Saccharomyces boulardii*, *Aspergillus oryzae*, *Issatchenkia orientalis*, dan *Bacillus sp* mampu menghidrolis ikatan ester antara asam lemak dan polisakarida pada dinding sel tanaman, sehingga memaksimalkan kadar asam ferulat selama proses fermentasi (Hedge, 2006). Proses fermentasi umumnya digunakan untuk produksi produk nilai tambah dan dapat diterapkan dalam makanan, kesehatan dan kosmetik industri (Pourali, dkk., 2009).

Penelitian-penelitian dedak selama ini didominasi pada pemanfaatan minyak dedak (rice bran oil) dan upaya menstabilkannya. Menurut pemanfaatan dedak sebagai produk komersial dewasa ini baru terbatas pada pembuatan minyak. Padahal dedak masih memiliki potensi lain yang belum banyak diungkap antara lain asam fenolat (Hadipernata, 2007).

Dedak mengandung berbagai macam komponen bioaktif seperti fitosterol, tokoferol, tokotrienol, dan juga oryzanol. Komponen bioaktif yang terdapat pada dedak ini sangat bagus untuk kesehatan, misalnya dapat menurunkan kandungan

kolesterol dan sebagai sumber antioksidan. Senyawa antioksidan alami secara umum merupakan turunan dari senyawa fenolik atau polifenolik. Ekstrak dedak mengandung beberapa jenis senyawa polifenol sebagai sumber antioksidan, seperti asam fitat, asam ferulat dan oryzanol (Iqbal, 2005). Dedak kaya akan antioksidan, sehingga berpotensi sebagai penangkal radikal bebas. Radikal bebas merupakan suatu molekul yang orbit terluarnya memiliki satu atau lebih atom yang tidak berpasangan, yang bersifat sangat labil dan reaktif (Soeksmanto, dkk, 2007).

Radikal bebas dalam tubuh bersifat sangat reaktif dan berinteraksi secara destruktif melalui reaksi oksidasi dengan bagian tubuh maupun sel-sel tertentu yang tersusun atas lemak, protein, karbohidrat, DNA, dan RNA sehingga dapat memicu berbagai macam penyakit berbahaya seperti jantung koroner, kanker dan penuaan dini. Sehingga, dibutuhkan antioksidan untuk mengatasi radikal bebas (Reynertson, 2007). Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi resiko terhadap penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung koroner (Prakash, 2001).

Antioksidan diklasifikasikan menjadi dua macam yaitu: antioksidan endogen (berasal dari dalam tubuh) dan antioksidan eksogen (berasal dari luar tubuh). Penambahan antioksidan sintetik seperti butil hidroksi anisol (BHA) dan butil hidroksi toluene (BHT) pada berbagai produk kosmetik, obat, makanan maupun minuman, memberikan efek toksik dan karsinogenik pada tubuh manusia sehingga dilakukan usaha untuk mencari antioksidan alami yang berasal dari tumbuhan yang dianggap lebih baik dan lebih aman dari antioksidan sintetik, khususnya apabila ditinjau dari segi kesehatan (Osawa, dkk, 1992). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan senyawa fenolik yang dihasilkan oleh proses fermentasi, serta melakukan uji aktivitas antioksidannya.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat diperoleh suatu rumusan masalah yaitu :

1. Bagaimana cara fermentasi dedak padi dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* ?

2. Bagaimana cara menganalisis senyawa fenolik pada dedak padi ?
3. Bagaimana menentukan aktivitas antioksidan senyawa fenolik dalam dedak padi yang difermentasi dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui cara fermentasi dedak padi dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*
2. Mengetahui cara menganalisis senyawa fenolik pada dedak padi
3. Mengetahui cara penentuan aktivitas antioksidan senyawa fenolik dalam dedak padi yang difermentasi dengan menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai fermentasi, analisis senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan pada dedak padi
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam upaya peningkatan senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan dedak padi
3. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif penanganan limbah dedak padi dengan proses fermentasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Dedak (bran) adalah hasil samping proses penggilingan. Dedak dapat berasal dari beras, jagung, gandum, kedelai dan lain-lain. (Hadipernata, 2007). Dedak padi kaya akan lipid, protein, vitamin B, dan dietary fiber. Kandungan asam amino esensial dedak antara lain triptofan, histidin, sistein, dan arginin. Beberapa jenis serat pangan yang terkandung pada dedak yakni selulosa, hemiselulosa, pektin, arabinosilan, lignin, dan *β-glucan*. Komponen bioaktif yang memiliki peranan kesehatan, seperti *γ-oryzanol*, asam ferulat, asam kafeat, triclin, asam kumarat, asam fitat, isoform vitamin E (α -tokoferol, γ -tokoferol, tokotrienol), fitosterol (β -sitosterol, stigmasterol, kampesterol), dan karotenoid (α -karoten, β -karoten, lutein, likopen), juga ditemukan pada dedak padi (Martins, 2011). Berbeda dengan dedak sereal lainya, seperti jagung, gandum, dan oat, fraksi lipid dedak padi mengandung rasio isoform vitamin E, *γ-oryzanol*, dan *β-sitosterol* yang unik (Oliveira, 2010)

Salah satu proses pengolahan dedak yang berpotensi meningkatkan komponen bioaktif adalah dengan cara fermentasi. Selama fermentasi mikroba akan memproduksi enzim yang dapat mendegradasi senyawa fenolik terikat membentuk senyawa fenolik bebas, sehingga kadar fenolik meningkat (Rhasid,2011).

Fermentasi merupakan suatu cara untuk mengubah substrat menjadi produk tertentu yang dikehendaki menggunakan bantuan mikroba. Cara meningkatkan kandungan gizi dan komponen bioaktif bahan pangan melalui pemanfaatan mikroba dan metabolitnya merupakan aplikasi pengembangan teknik fermentasi. Selain memiliki peran sebagai memperpanjang umur simpan, fermentasi juga berfungsi meningkatkan nilai gizi, fungsionalitas, karakteristik sensori, dan nilai ekonomis bahan pangan (Robinson, 2003).

Peningkatan yang terjadi pada dedak padi fermentasi adalah meningkatnya kandungan protein kasar. Fermentasi merupakan salah satu teknologi pengolahan

bahan pakan secara biologis yang melibatkan aktifitas mikroorganisme guna memperbaiki gizi bahan berkualitas rendah. Biasanya bahan produk fermentasi relatif bisa bertahan lama. Fermentasi dapat meningkatkan kualitas nutrisi bahan pakan, karena proses fermentasi terjadi perubahan kimiawi senyawa-senyawa organik seperti karbohidrat, lemak, protein, serat kasar dan bahan organik lain baik dalam keadaan aerob maupun anaerob, melalui kerja enzim yang dihasilkan mikroba (Ali, 2019)

Senyawa fenolik pada tanaman secara alami berikatan dengan gula sederhana dalam bentuk glikosida dan terikat dengan lignin sebagai ester (Muntana 2010).. Beberapa mikroba seperti *Rhizopus oryzae*, *Saccharomyces boulardii*, *Aspergillus oryzae*, *Issatchenkia orientalis*, dan *Bacillus sp* mampu menghidrolis ikatan ester antara asam lemak dan polisakarida pada dinding sel tanaman, sehingga memaksimalkan kadar asam ferulat selama proses fermentasi (Hedge, 2006). Schmidt (2014) menduga bahwa semakin lama fermentasi semakin maksimal kerja enzim lakase dalam mendegradasi cincin fenil, sehingga senyawa fenolik meningkat. Oliveira (2010) menambahkan bahwa komponen fenolik dedak dapat terbentuk karena adanya proses dekomposisi lignin, selulosa, dan hemiselulosa selama fermentasi.

Selama fermentasi mikroba mensintesis enzim mampu memecah ikatan ester dan melepaskan fenolik terikat, sehingga meningkatkan senyawa fenolik bebas. Senyawa fenolik dalam bentuk glikosida dihidrolisis oleh enzim β -glukosidase bersama enzim esterase untuk membebaskan aglikon fenolik dari glikon (gula) (Zheng, 2000). Senyawa fenolik yang terikat dengan lignin sebagai ester didegradasi oleh enzim lakase membentuk fenolik bebas yang terakumulasi dalam vakuola sel (Schmidt, 2012). Aktivitas enzim ferulik esterase selama fermentasi dapat membebaskan sejumlah asam ferulat dari komponen dinding sel seperti hemiselulosa dan lignin membentuk ferulat bebas (Kim, 2011).

Dedak merupakan produk sampingan dari proses penggilingan padi, jagung, gandum dan lain lain, kaya akan senyawa bioaktif. Serat makanan dan senyawa fenoliknya dilaporkan meningkatkan fungsi bahan makanan yang terkait dengan

sifat-sifatnya yang bermanfaat sebagai antioksidan. Senyawa fenolik dapat bertindak sebagai antioksidan melalui beberapa mekanisme berbeda, seperti kapasitas pembilasan radikal bebas, chelating ion logam dan aktivitas penghambatan prooxidant enzim (Amorati,2006). Peningkatan aktivitas antioksidan terkait dengan kandungan fenolik yang dihasilkan dalam dedak fermentasi yang menunjukkan bahwa itu mungkin dikaitkan dengan enzim hidrolitik. enzim ini bekerja melalui substrat dan menaikkan gugus hidroksil bebas pada struktur fenolik, akibatnya aktivitas antioksidan substrat meningkat karena adanya fenolik bebas (Bhanja, 2009).

Perbedaan yang jelas antara aktivitas antioksidan fermentasi dan non fermentasi ekstrak dedak mungkin disebabkan oleh aktivitas antioksidan yang tinggi dari senyawa bioaktif yang dilepaskan selama fermentasi dedak padi, seperti asam ferulic, α -tokoferol dan β -oryzanol (Xu, 2001). Besarnya peningkatan sifat-sifat antioksidan pada produk fermentasi tergantung dari mikroorganisme yang digunakan serta kondisi fermentasi itu sendiri (Berghofer, dkk., 1998).

Aplikasi biologis asam ferulat tidak hanya terbatas pada antioksidan, namun mencakup aktivitas biologis lainnya, seperti anti-inflamasi, anti-aterogenik, anti diabetes, anti penuaan, neuroprotektif, radioprotektif, hepatoprotektif memperbaiki tekanan darah, profil lipid, dan metabolisme glukosa (Adom dan Liu, 2002).

BAB III DASAR TEORI

3.1 Dedak

Dedak padi merupakan hasil ikutan proses pemecahan kulit gabah, yang terdiri atas lapisan kutikula sebelah luar, hancuran sekam dan sebagian kecil lembaga yang masih tinggi kandungan protein, vitamin, dan mineral (Denny, 2008). Sebutir beras utuh mempunyai tiga bagian penting, yaitu endosperma, dedak, dan lembaga. Endosperma terdiri dari lapisan aleuron dan bagian berpati. Penyosohan beras utuh akan menghasilkan beras sosoh, dedak. Dedak merupakan campuran lapisan aleuron dan pericarp yang terlepas dalam proses penggilingan padi. Proses penggilingan dan penyosohan beras akan menghasilkan 16-28% sekam (hulls), 6-11% dedak (bran), 2-4% bekatul (polish), dan sekitar 60% endosperma (white rice) (Astawan dan Leomitra, 2009). Berikut adalah tabel Komposisi zat gizi pada setiap bagian beras per 100 gram :

Tabel 1. Komposisi zat gizi pada setiap bagian beras per 100 g (Astawan, 2009)

Komponen	Endosperma	Dedak	Lembaga
Protein (g)	45-10,5	11,3-14,9	14,1-20,6
Lipid (g)	0,3-0,5	15,0-19,7	16,6-20,5
Serat kasar (g)	0,2-0,5	7,0-11,4	2,4-3,5
Karbohidrat (g)	77-89	34-62	34-41
Abu (g)	0,3-0,8	6,6-9,9	4,8-8,7
Pati (g)	77,6	13,8	2,1
Kalsium (mg)	10-30	30-120	20-100
Magnesium (mg)	20-50	500-1300	400-1300
Fosfor (mg)	80-150	1100-2500	1000-2100
Silika (mg)	10-40	300-500	1100-1500
Vitamin B1 (mg)	0,02-0,11	1,2-2,4	1,7-5,9
Vitamin B2 (mg)	0,02-0,06	0,18-0,43	0,17-0,43
Vitamin B3 (mg)	3,5-5,3	26,7-49,9	2,8-8,3

Derajat sosoh menunjukkan seberapa besar bagian perikarp, sekam, dan aleuron/kulit ari berhasil dipisahkan dari endosperma. Semakin tinggi derajat sosoh maka semakin putih dan bersih penampakan beras, tetapi justru semakin miskin kandungan zat gizinya. Limbah proses penyosohan beras dapat dibedakan menjadi dedak (rice bran) dan bekatul (rice polish). Menurut FAO dedak adalah hasil samping dari proses penggilingan padi yang terdiri dari lapisan luar butiran beras (perikarp dan tegmen) serta sejumlah lembaga. Sedangkan bekatul terdiri atas lapisan dalam butiran beras, yaitu aleuron (kulit ari) beras serta sebagian kecil endosperma. Dalam proses penggilingan padi di Indonesia, dedak dihasilkan pada proses penyosohan pertama, sedangkan bekatul pada proses penyosohan kedua (Astawan dan Leomitro, 2009.):

Dedak memiliki komponen protein, mineral, karbohidrat kompleks, vitamin, fitonutrien, asam lemak esensial, dan lebih dari 120 antioksidan (Kahlon 2009). Komponen bioaktif pada dedak di antaranya adalah asam ferulat, γ -oryzanol, β -sitosterol, tokotrienol/tokoferol, trisin, p-kumarat, asam sinapinat, asam siringat dan asam fitat (Norazalina, 2010).

Dedak padi merupakan hasil ikutan penggilingan padi yang berasal dari lapisan luar beras pecah kulit dalam proses penyosohan beras. Proses pengolahan gabah menjadi beras akan menghasilkan dedak padi kira-kira sebanyak 10% pecahan-pecahan beras atau menir sebanyak 17%, tepung beras 3%, sekam 20% dan berasnya sendiri 50%. Persentase tersebut sangat bervariasi tergantung pada varietas dan umur padi, derajat penggilingan serta penyosohnya (Grist, 1972).

Dedak padi yang berkualitas baik mempunyai ciri fisik seperti baunya khas, tidak tengik, teksturnya halus, lebih padat dan mudah digenggam karena mengandung kadar sekam yang rendah, dedak yang seperti ini mempunyai nilai nutrisi yang tinggi (Rasyaf, 2002).

Pada pengolahan beras, bagian dedak dan bekatul sengaja dibuang karena rasanya pahit dan warnanya kecoklatan, sehingga mengganggu daya terima dan penampilan beras. Sedangkan bagian lembaga (embrio) pada beras memang tidak dikehendaki karena kadar asam lemak tidak jenuhnya yang tinggi sehingga

mengakibatkan beras mudah menjadi tengik. Ketengikan terjadi akibat proses hidrolisis enzim ataupun proses oksidasi. Enzim lipase akan menghidrolisis lemak menjadi asam lemak dan gliserol. Asam lemak bebas yang terbentuk, kemudian akan diurai kembali oleh enzim lipoksigenase menghasilkan peroksida, keton dan aldehid. Ketiga komponen inilah yang menimbulkan bau tengik dan memperpendek umur simpan beras (Astawan dan Leomitro, 2009).

Dedak dinilai sebagai bahan kurang bermanfaat karena dedak merupakan limbah dalam proses pengolahan gabah menjadi beras. Sisa dari penumbukkan atau penggilingan padi ini dinamakan dedak. Sejak dulu dedak hanya dikenal masyarakat sebagai bahan pakan ternak dengan mutu yang rendah. Untuk lebih meningkatkan manfaat dedak yaitu dapat digunakan sebagai bahan makanan campuran pada produk makanan. Berdasarkan sumbernya, protein yang terdapat dalam dedak dapat dimanfaatkan untuk dibuat suatu produk yang dimungkinkan dapat mengatasi masalah kurang gizi. Selain memiliki kandungan protein yang cukup tinggi dedak juga tergolong sebagai bahan makanan yang aman untuk dikonsumsi (Wulandari, 2010).

3.2 *Saccharomyces Cerevisiae*



Gambar 2. *Saccharomyces cerevisiae* pada mikroskop cahaya perbesaran 1000 (Hardianto, dkk., 2018)

Saccharomyces berasal dari bahasa Latin Yunani yang berarti “gula jamur” sedangkan *cerevisiae* berasal dari bahasa Latin yang berarti bir (Sukoco, 2010). *Saccharomyces* merupakan genus khamir/ragi/yeast yang memiliki kemampuan

mengubah glukosa menjadi alkohol dan CO₂. *Saccharomyces* merupakan mikroorganisme bersel satu tidak berklorofil, termasuk kelompok *Eumycetes* (Camacho, dkk, 2003). Taksonomi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai berikut (Kavanagh, 2005):

Kingdom : Fungi
Division : Ascomycota
Class : Ascomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Family : Saccharomycetaceae
Genus : Saccharomyces
Species : *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae merupakan jenis khamir yang mempunyai sel tunggal. Sel khamir terdiri dari kapsul, dinding sel, membrane sitoplasma, nucleus, vakuola, globula lipid dan mitokondria. Bentuk dari khamir ini oval (bulat telur) dengan ukuran sekitar 1-5 µm atau 20-25 µm dengan lebar sekitar 1-10 µm. Koloninya berbentuk rata, lembab, mengkilap dan halus. *Saccharomyces cerevisiae* termasuk dalam golongan *Ascomycetes* karena dapat membentuk askospora dalam askus. Spesies ini dapat bereproduksi secara seksual dengan membentuk spora seksual berupa konidium atau juga bereproduksi secara aseksual dengan membentuk spora aseksual berupa askospora sebanyak 4-8 buah dalam askus serta melakukan pertunasan. Pertunasan pada spesies ini dapat berupa pertunasan multilateral, yaitu tunas dapat tumbuh disekitar ujung sel (Fardiaz, 1992).

Beberapa kelebihan *saccharomyces* dalam proses fermentasi yaitu mikroorganisme ini cepat berkembang biak, tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi, tahan terhadap suhu yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat beradaptasi. *Saccharomyces cerevisiae* memerlukan suhu fermentasi sekitar 30 °C (Sassner, dkk., 2008). *Saccharomyces cerevisiae* merupakan mikroorganisme unggul yang digunakan dalam proses fermentasi etanol. Dalam melakukan proses fermentasi, *Saccharomyces cerevisiae* dipengaruhi oleh faktor tumbuh yang meliputi pH pertumbuhan antara 2,0-8,6. Laju fermentasi gula oleh *Saccharomyces*

cerevisiae relatif intensif pada pH 3,5-6,0. *Saccharomyces cerevisiae* dapat memfermentasi glukosa, sukrosa, galaktosa serta rafinosa. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan top yeast tumbuh cepat dan sangat aktif memfermentasi pada suhu 20 °C. *Saccharomyces cerevisiae* dapat toleran terhadap alkohol yang cukup tinggi (12-18% v/v), tahan terhadap kadar gula yang tinggi dan tetap aktif melakukan fermentasi pada suhu 4-32 °C (Wiratmaja, dkk., 2011).

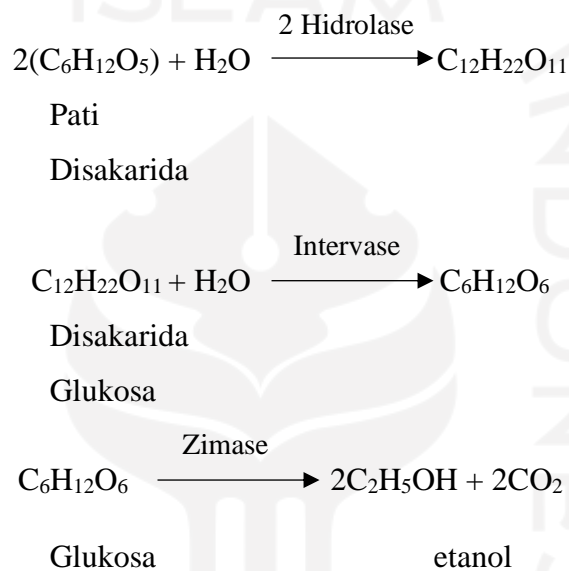
Saccharomyces cerevisiae termasuk khamir jenis *Ascomycetes* yang banyak mengandung protein, karbohidrat, dan lemak sehingga dapat dikonsumsi oleh manusia dan hewan guna melengkapi kebutuhan nutriennya sehari-hari. *Saccharomyces cerevisiae* juga mengandung vitamin, khususnya vitamin B kompleks. *Saccharomyces cerevisiae* mudah dicerna, enak dan tidak menularkan atau menimbulkan penyakit. *Saccharomyces cerevisiae* sangat mudah ditumbuhkan pada berbagai media asalkan terdapat sumber karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, kalsium, vitamin, mineral serta air (Amaria, dkk., 2001).

Saccharomyces cerevisiae bersifat fermentatif kuat dan dapat hidup dalam kondisi aerob maupun anaerob (anaerob fakultatif), memiliki sifat yang stabil dan seragam, memiliki pertumbuhan yang cepat dalam proses fermentasi sehingga proses fermentasi dapat berlangsung dengan cepat pula serta mampu memproduksi alkohol dalam jumlah banyak. Alkohol (etanol) yang dihasilkan dapat digunakan sebagai bahan pelarut selain air dan bahan baku utama dalam laboratorium dan industri kimia (Buckle, dkk., 1987).

Pertumbuhan *Saccharomyces* dipengaruhi oleh adanya penambahan nutrisi yaitu unsur C sebagai sumber karbon, unsur N, unsur ammonium dan pepton, unsur mineral dan vitamin ragi adalah suatu macam tumbuh-tumbuhan bersel satu yang tergolong kedalam keluarga cendawan. Ragi berkembang biak dengan suatu proses yang dikenal dengan istilah pertunasan, yang menyebabkan terjadinya peragian. Peragian adalah istilah umum yang mencakup perubahan gelembung udara dan yang bukan gelembung udara (aerobic dan anaerobic) yang disebabkan oleh mikroorganism. Dalam pembuatan roti, sebagian besar ragi berasal dari mikroba

jenis *Saccharomyces cerevisiae*. Ragi merupakan bahan pengembang adonan dengan produksi gas karbondioksida (Ahmad, 2005).

Saccharomyces sp melakukan fermentasi terhadap gula jauh lebih cepat pada keadaan anaerobik, akan tetapi mengalami pertumbuhan lebih baik pada keadaan aerobik sehingga jumlahnya bertambah banyak. Secara singkat proses fermentasi alkohol (etanol) dapat ditulis sebagai berikut (Fardiaz, 1992)



Etanol dan CO_2 yang terbentuk dapat menghambat proses fermentasi. Proses fermentasi akan berhenti saat konsentrasi etanol yang terbentuk sekitar 12–15%. Hal ini terjadi karena sel hidup khamir hanya toleran terhadap etanol pada konsentrasi tertentu sehingga saat konsentrasi etanol sudah melebihi batas toleransi khamir maka pertumbuhan khamir akan terhambat dan menghentikan proses fermentasi. Masalah ini dapat diatasi dengan melakukan daur ulang khamir atau dengan menggunakan teknologi fermentasi kontinu (Fardiaz, 1992).

Saccharomyces cerevisiae mengandung enzim maltase yang mengubah maltosa menjadi glukosa. Pada pembuatan minuman beralkohol, *Saccharomyces cerevisiae* akan mengubah glukosa menjadi etanol, CO_2 , dan sedikit bahan-bahan

aromatik yang menguap pada hasil akhir. Untuk jenis pembuatan minuman beralkohol ini dibedakan didasarkan bahan baku yang digunakan, apabila bahan bakunya berupa malt maka produknya adalah beer, sedangkan jika bahan bakunya dari anggur adalah wine (Muchtadi, dkk., 2010).

3.3 Fermentasi

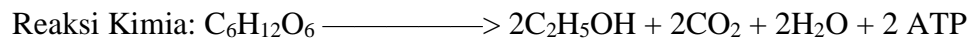
Fermentasi adalah suatu reaksi oksidasi-reduksi di dalam sistem biologi yang menghasilkan energi, dimana sebagai donor dan aseptor elektron digunakan senyawa organik. Senyawa organik yang biasanya digunakan adalah karbohidrat dalam bentuk glukosa. Senyawa tersebut akan diubah oleh reaksi-reduksi dengan katalis enzim menjadi suatu bentuk lain misalnya aldehida dan dapat dioksidasi menjadi asam. Sel-sel yang melakukan fermentasi mempunyai enzim-enzim yang akan mengubah hasil dari reaksi oksidasi, dalam hal ini adalah asam, menjadi suatu senyawa yang mempunyai muatan lebih positif sehingga dapat menangkap elektron atau bertindak sebagai aseptor elektron terakhir dan menghasilkan energi (Winarno, 1979).

Proses fermentasi bertujuan untuk merubah senyawa yang kompleks menjadi sederhana (Muin, 2015). Berdasarkan kebutuhan oksigen, fermentasi dapat dibedakan menjadi dua, diantaranya (Afrianti, 2005) :

- a. Fermentasi aerob adalah fermentasi yang prosesnya memerlukan oksigen karena dengan adanya oksigen maka mikroba dapat mencerna glukosa menghasilkan air, CO₂ dan sejumlah energi.
- b. Fermentasi anaerob adalah fermentasi yang tidak membutuhkan adanya oksigen karena beberapa mikroba dapat mencerna bahan energi tanpa adanya oksigen, sehingga hanya sebagian dari bahan energi yang dipecah. Mikroorganisme yang melakukan fermentasi ini adalah yeast, beberapa jenis kapang dan bakteri.

Fermentasi dapat dibedakan menjadi 3 yaitu fermentasi alkohol, fermentasi asam laktat dan fermentasi asam cuka. Fermentasi alkohol merupakan suatu reaksi pengubahan glukosa menjadi etanol (etil alkohol) dan karbondioksida. Organisme

yang berperan yaitu *Saccharomyces cerevisiae* (ragi) untuk pembuatan tape, roti atau minuman keras.



Proses fermentasi alkoholik dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain (Muin, 2015) :

1. Jenis Bahan atau Substrat

Substrat merupakan sumber energi bagi mikroba. Substrat inilah yang nantinya akan dipecah menjadi senyawa-senyawa sederhana dalam proses fermentasi.

2. Oksigen

Pada umumnya proses fermentasi alkoholik berlangsung pada kondisi anaerob atau tanpa oksigen. Namun ada mikroba tertentu yang dapat berkembang dalam kondisi aerob maupun anaerob seperti khamir *Saccaromyces cerevisiae*.

3. Waktu Fermentasi

Umumnya waktu yang digunakan untuk proses fermentasi adalah sekitar 1 sampai 6 hari. Tergantung dari jumlah mikroba yang digunakan, kondisi operasi dan konsentrasi substrat. Adanya gangguan pada kondisi operasi seperti pH dan kandungan oksigen dapat menghambat proses fermentasi

4. Konsentrasi Starter

jumlah ragi yang dipakai adalah 0,5% dari volume substrat yang akan difermentasikan. Pemberian ragi tidak boleh terlalu banyak namun juga tidak boleh terlalu sedikit karena bila jumlah ragi yang dipakai terlalu sedikit maka proses fermentasi akan berlangsung lama, sedangkan jika ragi yang dipakai terlalu banyak maka keaktifan khamir akan berkurang karena pada awal proses alkohol yang terbentuk sangat banyak sehingga fermentasinya lebih lama dan banyak glukosa yang belum terkonversi. Sedangkan untuk struktur kultur murni digunakan sebanyak 10⁸ cfu/g atau sama dengan 0,3% ragi.

5. Temperatur

Umumnya ragi dapat berkembang baik pada suhu ruangan yaitu sekitar 25-30 °C dalam proses fermentasi.

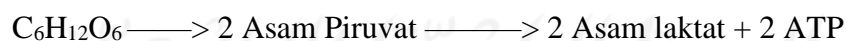
6. pH (Keasaman)

Proses fermentasi alkohol ragi, pH optimumnya adalah 4-5. Apabila pH terlalu asam atau terlalu basa mikroba yang digunakan tidak dapat tumbuh optimal atau bahkan mati sehingga proses fermentasi terganggu.

Fermentasi asam laktat adalah respirasi yang terjadi pada sel hewan atau manusia, ketika kebutuhan oksigen tidak tercukupi akibat bekerja terlalu berat. Di dalam sel otot asam laktat dapat menyebabkan gejala kram dan kelelahan. Laktat yang terakumulasi sebagai produk limbah dapat menyebabkan otot letih dan nyeri, namun secara perlahan diangkut oleh darah ke hati untuk diubah kembali menjadi piruvat. Asam laktat merupakan bahan kimia serbaguna yang digunakan sebagai : asidulan, aroma, dan pengawet dalam industri makanan, obat-obatan, industri kulit dan tekstil . Untuk produksi bahan kimia dasar dan untuk polimerisasi bahan yang mudah dirombak *poly lactic acid* (PLA) (Hidayat, 2006).

Proses fermentasi asam laktat berlangsung ditandai dengan timbulnya gas dan meningkatnya jumlah asam laktat yang diikuti dengan penurunan pH. Sifat bakteri laktat tumbuh pada pH 3-8 serta mampu memfermentasikan monosakarida dan disakarida sehingga menghasilkan asam laktat (Stamer, 1979).

Reaksi:



Fermentasi asam cuka merupakan suatu contoh fermentasi yang berlangsung dalam keadaan aerob. Fermentasi ini dilakukan oleh bakteri asam cuka (*Acetobacter aceti*) dengan substrat etanol. Energi yang dihasilkan 5 kali 39 lebih besar dari energi yang dihasilkan oleh fermentasi alkohol secara anaerob. Salah satu spesies yang banyak digunakan untuk fermentasi asam asetat adalah *Acetobacter aceti* (Hardoyo, 2007).

Reaksi:



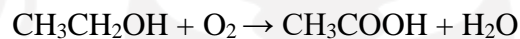
Dalam pengolahan asam cuka, terjadi 2 kali fermentasi yaitu (Rachmawati, dkk., 2019):

- a. Fermentasi pembentukan alkohol dengan yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Pada fermentasi ini terjadi perombakan glukosa menjadi alkohol dan gas CO₂ dengan reaksi sebagai berikut :



Reaksi yang terjadi anaerob. Etanol adalah hasil utama fermentasi di samping.

- b. asam laktat, asetaldehid, gliserol dan asam asetat. Fermentasi perubahan alkohol menjadi asam asetat dan air dengan bakteri *Acetobacter aceti*. Reaksi pembentukan asam asetat dituliskan sebagai berikut :



Proses fermentasi yang melibatkan kemampuan mikroba sesuai dengan kondisi proses dan hasilnya, terbagi ke dalam dua bentuk (Supardi, 1999) :

1. Proses fermentasi secara alkoholis, kalau hasilnya didapatkan alkohol, seperti misalnya di dalam pembuatan minuman: bir, anggur, tuak, brem, sider dan sebagainya.
2. Proses fermentasi secara non alkoholis, kalau hasilnya tidak didapatkan senyawa alkohol tetapi berbentuk asam organik, vitamin, asam amino dan sebagainya. Seperti misalnya didalam pembuatan tempe, kecap, oncom, bekacem, terasi, sosis, yoghurt dan sebagainya.

3.4 Senyawa Fenolik

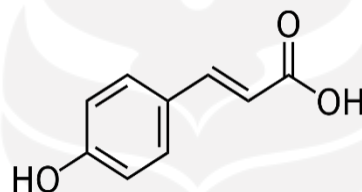
Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik. Senyawa fenolik terbentuk dari jalur asam sikimat dan fenil propanoid (Proestos, 2006). Senyawa fenolik merupakan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan sebagai respon terhadap stres lingkungan. Senyawa fenolik berfungsi sebagai pelindung terhadap sinar UV-B dan kematian sel untuk melindungi DNA dari dimerisasi dan kerusakan (Lai dan Lim, 2011). Komponen pada senyawa ini diketahui memiliki peranan penting sebagai

agen pencegah dan pengobatan beberapa gangguan penyakit seperti arteriosklerosis, disfungsi otak, diabetes dan kanker (Garg, dkk., 2016). Senyawa fenolik dalam tanaman terdapat dalam bentuk glikosida atau esternya. Senyawa fenolik dari tanaman mempunyai beberapa efek, yaitu antioksidan, antiinflamasi, antiproliferasi, antimutagenik, antimikrobal, antikarsinogenik, dan pencegahan terhadap penyakit jantung (Ghosh dan Konishi, 2007).

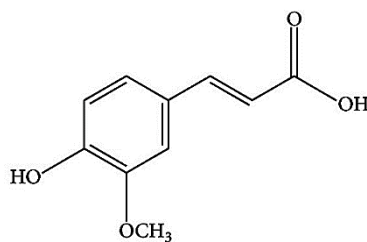
Kelompok terbesar dari senyawa fenolik adalah flavonoid. Setiap tumbuhan umumnya mengandung satu atau lebih senyawa kelompok flavonoid dan memiliki komposisi kandungan flavonoid yang khas (Indrawati dan Razimin, 2013). Flavonoid terdapat hampir di semua bagian tumbuhan, seperti daun, akar, kulit tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji (Neldawati, dkk., 2013). Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang dapat meningkatkan pertahanan diri dari penyakit yang diinduksi oleh radikal bebas. Aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid diketahui memiliki potensi untuk mencegah terjadinya penumpukan lemak sehingga mampu mengatasi masalah obesitas yang menjadi penyebab penyakit (Anwar, dkk., 2017). Selain itu senyawa flavonoid juga diketahui dapat mengurangi risiko terjadinya penyakit jantung dan kanker (Ukoha et al., 2011).

Senyawa fenolik terdiri atas molekul-molekul besar dengan beragam struktur, karakteristik utamanya adalah adanya cincin aromatik yang memiliki gugus hidroksil. Produk yang mula-mula terbentuk pada biosintesis senyawa fenolik adalah shikimat. Fenol bersifat asam, karena sifat gugus $-OH$ yang mudah melepaskan diri. Karakteristik lainnya adalah kemampuan membentuk senyawa kelat dengan logam, mudah teroksidasi dan membentuk polimer yang menimbulkan warna gelap. Timbulnya warna gelap pada bagian tumbuhan yang terpotong atau mati disebabkan oleh reaksi ini, hal ini sekaligus menghambat pertumbuhan tanaman. Turunan fenilpropanol yang berbobot molekul rendah, diantaranya adalah golongan kumarin, asam sinamat, asam sinapinat, alkohol coniveril dan sebagainya. Zat-zat tersebut beserta turunannya juga merupakan senyawa perantara dalam biosintesis lignin (Pratt dan Hudson, 1990).

Fenilpropanoid adalah senyawa fenol alam yang mempunyai cincin aromatik dengan rantai samping terdiri atas tiga atom karbon. Secara biosintesis senyawa ini turunan asam amino protein aromatik, yaitu fenilalanina dan fenolpropanoid, dapat mengandung satu C₆-C₃ atau lebih, yang paling tersebar luas ialah asam hidroksisinamat. Empat macam asam hidroksisinamat yang umumnya terdapat dalam tumbuhan, yaitu asam ferulat, sinapat, kafeat, dan p-kumarat. Asam hidroksisinamat biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai ester dan dapat diperoleh dengan hasil baik dengan cara hidrolisis basa lemah, karena dengan hidrolisis asam panas, bahan akan hilang akibat dekarboksilasi menjadi hidroksistirena yang bersesuaian. Berikut ini beberapa contoh senyawa fenilpropanoid (Harborne, 1987)



Asam p-kumarat

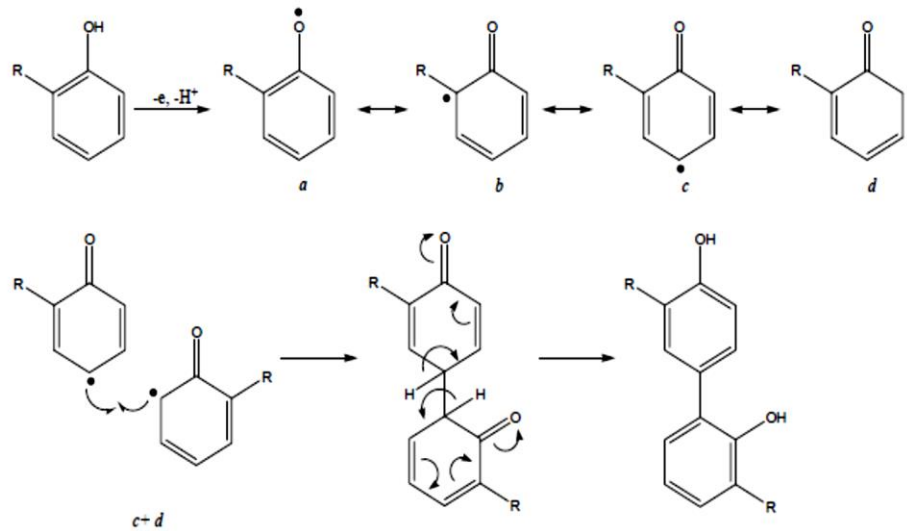


R=H, Asam Ferulat

Gambar 3. Contoh senyawa fenilpropanoid (Harborne, 1987)

Mekanisme senyawa fenolik sebagai antioksidan dijelaskan oleh Janeiro dan Brett (2004) yaitu melalui kemampuan dari gugus fenol untuk mengikat radikal bebas dengan memberikan atom hidrogennya melalui proses transfer elektron, sehingga fenol berubah menjadi radikal fenoksil. Radikal fenoksil yang terbentuk sebagai hasil reaksi fenol dengan radikal bebas kemudian akan menstabilkan diri melalui efek resonansi. Karena alasan ini maka derivat dari fenol merupakan donor

hidrogen yang baik yang dapat menghambat reaksi yang terjadi oleh senyawa radikal. Senyawa fenol disebut juga sebagai inhibitor radikal (Togo, 2004).



Gambar 4. Reaksi penggabungan pembentukan dan penggabungan radikal fenoksil (Bruneton, 1999)

3.5 Aktivitas Antioksidan

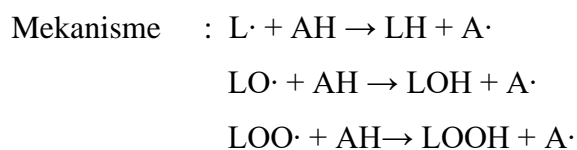
Antioksidan adalah komponen yang mampu menghambat proses oksidasi, yaitu proses yang dapat menyebabkan kerusakan dan ketengikan (Brown, 2000). Aktivitas penghambatan antioksidan dalam reaksi oksidasi berdasarkan keseimbangan reaksi oksidasi reduksi dan membentuk molekul yang tidak reaktif dan dengan demikian reaksi berantai pembentukan radikal bebas dapat dihentikan. antioksidan sangat beragam jenisnya.

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) (Belitz, 1984). Kebanyakan senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami adalah berasal dari tumbuhan. Kingdom tumbuhan, Angiospermae memiliki kira-kira 250.000 sampai 300.000 spesies dan dari jumlah ini kurang lebih 400 spesies yang telah dikenal dapat menjadi bahan pangan manusia. Isolasi antioksidan alami telah dilakukan dari tumbuhan yang dapat dimakan, tetapi tidak selalu dari bagian yang

dapat dimakan. Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji, dan serbuk sari (Pratt,1992). Antioksidan sintetis yang diizinkan untuk makanan, dan antioksidan yang penggunaannya meluas dan menyebar diseluruh dunia, diantaranya yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat, Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial (Buck, 1991).

Sesuai mekanisme kerjanya, antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Gordon,1990).

Berdasarkan sasarannya antioksidan dapat dibedakan menjadi 2 yaitu *Preventive antioxidant* dan *Chain-breaking antioxidant*. *Preventive antioxidant*, yaitu antioksidan yang kerjanya mencegah terbentuknya oksidan dan mencegah tertimbunnya oksidan. Contoh antioksidan ini adalah enzim peroksidase (glutation peroksidase), senyawa yang mengandung gugus sulfidril (glutation, sistein, kaptopril), superoksidan dismutase (SOD) dan katalase (Madhavi, 1996). *Chain-breaking antioxidant* memiliki mekanisme sebagai berikut:

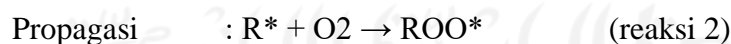


Antioksidan (AH) akan mencegah terjadinya tahap inisiasi dan tahap propagasi. Tahapan inisiasi yaitu ketika radikal bereaksi dengan lipid (L·) sedangkan tahap

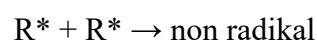
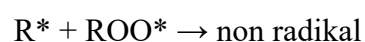
propagasi, yaitu ketika radikal bereaksi dengan alkoksi ($LO\cdot$) ataupun peroksil ($LOO\cdot$) (Madhavi, dkk., 1996).

Berdasarkan sifat fisiko-kimia, dibedakan menjadi dua, yaitu antioksidan hidrofilik yang merupakan antioksidan yang bekerja dalam sitosol dan cairan ekstrasel (contohnya vitamin C, asam urat, glutathion, sistein, kreatinin); serta antioksidan lipofilik, merupakan antioksidan yang bekerja pada membran sel (contohnya vitamin E, B-karoten, bilirubin, protein pengikat logam (transferin, laktoferin, seruplasmin, dan albumin) (Himawati, 2001).

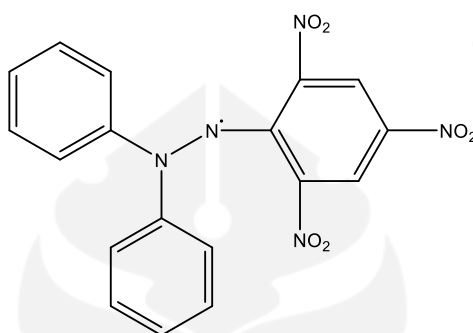
Aktivitas penghambatan antioksidan dalam reaksi oksidasi berdasarkan keseimbangan reaksi oksidasi reduksi. Molekul antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas (R^*) dan membentuk molekul yang tidak reaktif (RH) sehingga reaksi berantai pembentukan radikal bebas dapat dihentikan (Belitz dan Groch, 1999). Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahapan, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat hilangnya satu atom hidrogen (reaksi 1). Pada tahap propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2). Selanjutnya, radikal peroksida akan menyerang asam lemak kemudian menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3) (Pokorny, dkk., 2001).



Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut untuk menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas flavor makanan berlemak. Adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antar radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (reaksi 4) (Pokorny, dkk., 2001).



Penentuan aktifitas antioksidan dilakukan dengan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Senyawa DPPH adalah radikal bebas yang stabil dalam larutan dalam metanol serta memiliki serapan yang kuat pada panjang gelombang 517 nm dalam bentuk teroksidasi. Senyawa ini mampu menerima elektron atau radikal hidrogen dari senyawa lain sehingga membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Kestabilan radikal DPPH disebabkan oleh adanya delokalisasi pasangan elektron secara menyeluruh (Sulistiyowati, 2013).

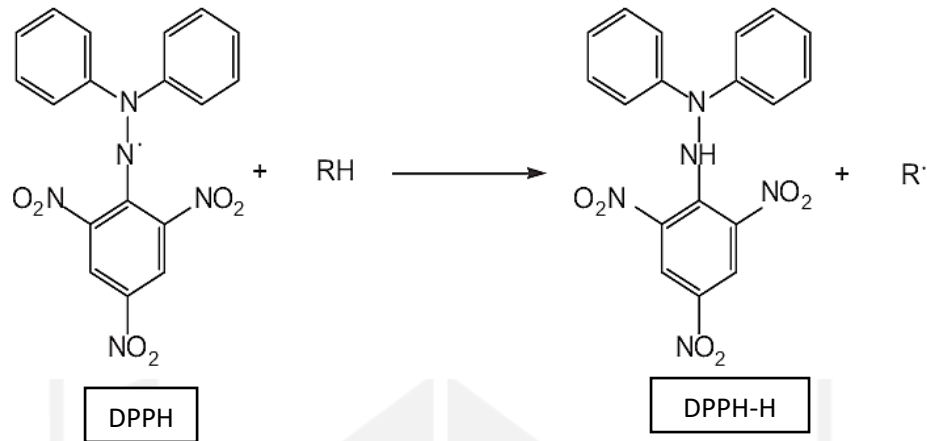


Gambar 5. Struktur DPPH

Radikal DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap. DPPH dapat memberikan serapan karena memiliki gugus kromofor dan auksokrom pada struktur kimianya dan dengan adanya delokalisasi elektron ada DPPH akan memberikan warna violet (Dehpour, 2009)

Penangkapan radikal bebas oleh senyawa antioksidan menyebabkan elektron pada radikal DPPH menjadi berpasangan sehingga terjadi penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil. Adanya senyawa antioksidan menyebabkan perubahan warna larutan DPPH dari warna ungu gelap menjadi warna kuning (Dehpour, dkk., 2009). Makin kuat senyawa antioksidan untuk menangkal radikal DPPH, makin pudar warna yang teramati (Kuncahyo, 2007). Parameter untuk menunjukkan aktivitas antioksidan suatu senyawa adalah harga *efficient concentration* (EC50) atau harga *Inhibition Concentration* (IC50), yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan % penghambatan 50% (Molyneux, 2004). Makin kecil harga IC₅₀ menunjukkan

makin besarnya kemampuan antioksidan suatu senyawa yang digunakan (Kristina, 2012).



Gambar 6. Reduksi DPPH oleh senyawa antioksidan (Prakash, 2001).

Metode DPPH dipilih karena memiliki beberapa kelebihan diantaranya sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit contoh. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme penyumbangan atom hidrogen yang menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu menjadi kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Blois, 1958).

3.6 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittan atau absorban suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, tiap media akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk (Cairns, 2009).

Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorbansi dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu pada suatu objek kaca atau kuarsa yang disebut kuvet, sebagian dari cahaya tersebut akan di serap dan sisanya akan dilewatkan. Nilai absorbansi dari cahaya yang di serap sebanding dengan konsentrasi larutan di dalam kuvet (Sastrohamidjojo, 2007)

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380) dan sinar

tampak (380-780) dengan memakai instrumen spektrofotometer Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif ketimbang kualitatif (Mulja, 1995)

Spektrofotometri visibel merupakan salah satu teknik analisis fisika-kimia yang mengamati tentang atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang 380-780 nm (Mulja, 1995). Sedangkan sinar ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm (Gandjar, 2007)

Serapan maksimum suatu senyawa kimia dipengaruhi oleh adanya kromofor dan gugus aoksokrom. Interaksi antara senyawa yang memiliki gugus kromofor dengan radiasi elektromagnetik pada daerah UV dan visibel akan menghasilkan transisi elektromagnetik dan spektra serapan elektromagnetik. Tiga hal yang mungkin terjadi ketika terjadi interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik adalah hamburan, absorpsi dan emisi (Mulja, 1995).

Kromofor merupakan semua gugus atau gugusan atom berupa ikatan rangkap konjugasi (seperti benzena) yang mengabsorpsi radiasi UV-Vis, sedangkan aoksokrom merupakan suatu gugus fungsional yang memiliki elektron bebas seperti -OH, -NH₂ dan OCH₃ yang memberikan transisi $n-\alpha^*$ (Mulja, 1995). Menurut Sastrohamidjojo (2001) terikatnya gugus aoksokrom pada gugus kromofor akan meningkatkan absorbansinya dan menggeser puncak serapan ke panjang gelombang yang lebih panjang. Peningkatan intensitas absorpsi disebut efek hiperkromik sedangkan penurunan intensitas absorpsi disebut efek hipokromik. Pergeseran panjang gelombang dibedakan menjadi pergeseran batokromik, yaitu pergeseran serapan ke arah panjang gelombang yang lebih panjang yang disebabkan karena substitusi atau pengaruh pelarut, dan pergeseran hipsokromik, yaitu pergeseran serapan ke arah panjang gelombang yang lebih pendek yang disebabkan karena substitusi atau pengaruh pelarut (pergeseran biru). Absorpsi cahaya UV-visibel mengakibatkan terjadinya transisi elektronik, yaitu promosi-promosi dari orbital keadaan dasar yang berenergi rendah ke orbital keadaan tereksitasi yang berenergi lebih tinggi (Fessenden, 1995). Spektrofotometer UV-

Vis menjadi alat yang sering digunakan dalam analisis karena alat ini sederhana, prosesnya cepat serta sensitif (Mulja, 1995).

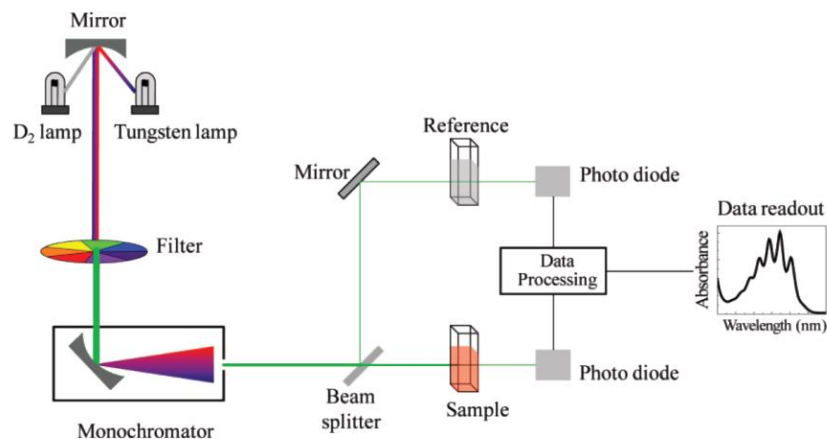
Instrumentasi spektrofotometer meliputi sumber tenaga radiasi yang stabil, sistem yang terdiri dari lensa-lensa; cermin; monokromator untuk mengubah radiasi, tempat cuplikan yang transparan dan detektor radiasi yang dihubungkan dengan pencatat (Sastrohamidjojo, 2001).

Spektrofotometer terdiri atas spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditranmisikan atau yang diabsorpsi. Spektrofotometer tersusun atas sumber spektrum yang kontinu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blangko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blangko ataupun pembanding (Khopkar, 1990).

Spektrofotometer UV-Vis dapat melakukan penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Untuk sampel yang berupa larutan perlu diperhatikan pelarut yang dipakai antara lain (Mulja, 1995):

1. Pelarut yang dipakai tidak mengandung sistem ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur molekulnya dan tidak berwarna.
2. Tidak terjadi interaksi dengan molekul senyawa yang dianalisis.
3. Kemurniannya harus tinggi atau derajat untuk analisis.

Prinsip kerja spektrofotometer adalah penyerapan cahaya pada panjang gelombang tertentu oleh bahan yang diperiksa. Tiap zat memiliki absorbansi pada panjang gelombang tertentu yang khas. Panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi digunakan untuk mengukur kadar zat yang diperiksa. Banyaknya cahaya yang diabsorpsi oleh zat berbanding lurus dengan kadar zat. Memastikan ketepatan pengukuran, kadar yang hendak diukur dibandingkan terhadap kadar yang diketahui (standar). Setelah dimasukan blangko (KEMENKES, 2010). Prinsip kerja dari spektrofotometer dapat di gambarkan sebagai berikut :



Gambar 7. Skema spektrofotometer UV-Vis (Suhartati, 2017)

Spektrofotometer memiliki 2 tipe yaitu spektrofotometer sinar tunggal dan spektrofotometer sinar ganda. Spektrofotometer sinar tunggal biasanya dipakai untuk kawasan spectrum ultraungu dan cahaya yang terlihat. Spektrofotometer sinar ganda dapat dipergunakan baik dalam kawasan ultraungu dan cahaya yang terlihat maupun dalam kawasan inframerah (Ganjar, 2007).

1. *Singel Beam Single-Beam*

Instrument dapat digunakan untuk kuantitatif dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang tunggal. Pengukuran sampel dan larutan blanko atau standar harus dilakukan secara bergantian dengan sel yang sama (Suharti, 2013)

2. *Double Beam*

Spektrofotometer memiliki berkas sinar ganda, sehingga dalam pengukuran absorbansi tidak perlu bergantian antara sampel dan larutan blanko, spektrofotometer double beam memakai absorbansi (A) otomatis sebagai fungsi panjang gelombang (Suhartati, 2013).

3.7 Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS)

Teknik GC pertama kali diperkenalkan oleh James dan Martin pada tahun 1952 (Sparkman, dkk., 2011). GC merupakan salah satu teknik kromatografi yang hanya dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap.

Kriteria menguap adalah dapat menguap pada kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah serta dapat dipanaskan (Drozd, 1985).

Secara umum GC digunakan untuk pemisahan dan deteksi semua jenis senyawa yang mudah menguap dan untuk analisis kuantitatif dan kualitatif senyawa dalam campuran (Gandjar, 2009). Mekanisme kerja GC yaitu cuplikan berupa campuran yang akan dipisahkan diinjeksikan ke injektor. Kemudian cuplikan dibawa oleh gas pembawa menuju kolom. Pada kolom terjadi pemisahan komponen-komponen dari cuplikan. Komponen-komponen yang telah terpisah akan meninggalkan kolom dan dideteksi oleh detektor. Kemudian direkam oleh rekorder dan menghasilkan kromatogram yang terdiri dari beberapa peak (Hendayana, 2006).

Komponen system kromatografi gas yaitu terdiri dari (Gandjar, 2009) :

a. Gas Pembawa

Gas pembawa berfungsi membawa komponen-komponen campuran yang akan atau sudah dipisahkan. Gas yang digunakan harus bersifat inert dengan cuplikan ataupun fase diam, murni, dan dapat disimpan dalam tangki bertekanan tinggi. Gas pembawa yang biasa digunakan yaitu gas helium, nitrogen, hidrogen, atau campuran argon dan metana.

b. Ruang suntik sampel

Ruang suntik sampel berfungsi untuk menghantarkan sampel atau cuplikan ke dalam aliran gas pembawa. Ruang suntik harus dipanaskan terpisah dari kolom dengan suhu lebih tinggi dari suhu kolom maksimum 10-150 °C, sehingga sampel akan menguap segera setelah sampel disuntikan.

c. Kolom

Kolom berfungsi sebagai tempat proses pemisahan komponen-komponen dari cuplikan, karena di dalamnya terdapat fase diam. Ada dua kolom pada GC yaitu kolom kemas (packing column) dan kolom kapiler (capillary column). Kolom kemas fase diamnya hanya dapat dilapiskan pada penyangga, sedangkan kolom kapiler fase diamnya dilapiskan pada dinding kolom atau bahkan dapat bercampur dengan sedikit penyangga lembam yang sangat halus.

d. Detektor

Detektor merupakan suatu sensor elektronik yang mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik. Sinyal elektronik dapat menyajikan kromatogram berupa deretan luas puncak terhadap waktu. Puncak area kromatogram pada waktu retensi tertentu dapat digunakan sebagai data kualitatif dan luas puncak pada kromatogram dapat digunakan sebagai data kuantitatif

Dasar pemisahan menggunakan kromatografi gas adalah penyebaran cuplikan pada fase diam sedangkan gas sebagai fase gerak melulusi fase diam. Cara kerja dari GC adalah suatu fase gerak yang berbentuk gas mengalir di bawah tekanan melewati pipa yang dipanaskan dan disalut dengan fase diam cair atau dikemas dengan fase diam cair yang disalut pada suatu penyangga padat. Analit tersebut dimuatkan ke bagian atas kolom melalui suatu portal injeksi yang dipanaskan. Suhu oven dijaga atau diprogram agar meningkat secara bertahap. Ketika sudah berada dalam kolom, terjadi proses pemisahan antar komponen. Pemisahan ini akan bergantung pada lamanya waktu relatif yang dibutuhkan oleh komponen-komponen tersebut di fase diam (Sparkman, dkk., 2011). Seiring dengan perkembangan teknologi maka instrument GC digunakan secara bersama-sama dengan instrumen lain seperti *Mass-Spectrometer* (MS) (Darmapatni, 2016).

Mass Spectroscopy (MS) merupakan metode analisis instrumental yang digunakan untuk identifikasi dan penentuan struktur dari komponen sampel yang tidak diketahui dengan menunjukkan massa relatif dari molekul komponen dan massa relatif hasil pecahannya. Penggunaan metode spektrometri massa ditujukan untuk Mulja, 1995):

- a. Penentuan struktur molekul
- b. Pembuktian isotop-isotop stabil dalam penelitian reaksi-reaksi biologi.
- c. Analisis kualitatif dan kuantitatif terhadap komponen yang sudah diisolasi dan dimurnikan

Spektrometer massa diperlukan untuk identifikasi senyawa sebagai penentu bobot molekul dan penentuan rumus molekul. Prinsip dari MS adalah pengionan senyawa-senyawa kimia untuk menghasilkan molekul bermuatan atau fragmen

molekul dan mengukur rasio massa/muatan. Molekul yang telah terionisasi akibat penembakan elektron berenergi tinggi tersebut akan menghasilkan ion dengan muatan positif, kemudian ion tersebut diarahkan menuju medan magnet dengan kecepatan tinggi. Medan magnet atau medan listrik akan membelokkan ion tersebut agar dapat menentukan bobot molekulnya dan bobot molekul semua fragmen yang dihasilkan. Kemudian detektor akan menghitung muatan yang terinduksi atau arus yang dihasilkan ketika ion dilewatkan atau mengenai permukaan, scanning massa dan menghitung ion sebagai mass to charge ratio (m/z). Terdapat 4 (empat) proses dalam spektrometri massa yakni ionisasi, percepatan, pembelokkan dan pendeteksian (Darmapatni, 2016)

Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS) merupakan kombinasi *Gas Chromatography* dan *Mass Spectroscopy*. *Mass Spectroscopy* disambungkan dengan keluaran *gas chromatography*. *Mass Spectroscopy* digunakan sebagai detektor akan memberikan data struktur kimia senyawa yang tidak diketahui. Ketika gas solut memasuki *mass spectroscopy* maka molekul-molekul organik akan ditembak dengan elektron bertenaga tinggi dan pecah menjadi molekul- molekul yang lebih kecil. Kemudian komponen campuran yang sudah terpisahkan dengan *gas chromatography* akan tergambar dalam satu spektra massa (Gandjar, 2009).

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Alat dan Bahan

4.1.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah pipet ukur 1 mL, pipet ukur 5 mL, pipet ukur 10 mL, mikro pipet dan tip, vortex, labu ukur 100 mL, labu ukur 50 mL, labu ukur 10 mL, labu ukur 5 mL, beaker glass 50 mL, beaker glass 100 mL, beaker glass 250 mL, gelas ukur 100 mL, gelas ukur 50 mL, Erlenmeyer 100 mL, Erlenmeyer 250 mL, corong pisah, statif, magnetic stirrer, spatula, neraca analitik, gelas arloji, pengaduk kaca, cawan petri, autoklaf, hot plate, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, shaker, penangas air, bola hisap, *Laminar Air Flow* (LAF), Oven, bunsen, korek api, lakban, botol vial, inkubator, *micro sentrifuge tube*, sentrifuge, kuvet, Spektrofotometer UV-Vis (Hitachi), *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) (Shimadzu QP 2010 SE).

4.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah : *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), *Saccharomyces cerevisiae*, asam askorbat, eter, metanol, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), NaCl 0,9%, Na₂HPO₄ 0,25 M, BaCl₂ 1%, H₂SO₄ 95-97%, alkohol 70%, aquades, aluminium foil, plastik wrap kertas saring, kapas.

4.2 Prosedur Kerja

4.2.1 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang terbuat dari kaca yang digunakan dicuci terlebih dahulu, dikeringkan, kemudian dibungkus dengan kertas atau koran dan mulut wadah ditutup dengan kapas. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit, dan dilakukan sterilisasi alat dengan menggunakan oven pada suhu 160-180 °C selama 1-2 jam. Jarum ose disterilisasikan dengan mencelupkan ke dalam alkohol 70% atau dicelupkan kedalam larutan fisiologis (NaCl 0,85%) dan melakukan pemijaran menggunakan api bunsen (Armaleni, dkk., 2019).

4.2.2 Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDB)

Bubuk PDA ditimbang sebanyak 3,9 gram dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL dan dilarutkan dengan 100 mL aquades. Kemudian dipanaskan dengan hot plat dan dihomogenkan dengan magnetic stirrer hingga larut sempurna, setelah homogen erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium dan direkatkan dengan lakban, kemudian media disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah sterilisasi selesai larutan media dituang kedalam cawan petri steril sebanyak 15-20 mL secara aseptis di dalam laminar air flow dan dibiarkan hingga memadat (Dewi, dkk., 2011).

4.2.3 Pembuatan Media *Potato Dextrose Broth* (PDB)

Untuk membuat media PDB sebanyak 250 mL ditimbang bubuk PDB sebanyak 6 gram kemudian dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 mL dan dilarutkan dengan aquades 250 mL. Setelah itu, dipanaskan dengan hot plat dan dihomogenkan dengan magnetic stirrer hingga larut sempurna, setelah homogen erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil dan direkatkan dengan lakban. Kemudian di sterilkan dalam autoklaf tekanan 1 atm dengan suhu 121 °C selama 15 menit (Dewi, dkk., 2011).

4.2.4 Isolasi *Saccharomyces Cerevisiae*

4.2.4.1 Pembuatan larutan fisiologis (NaCl 0,9%)

Untuk membuat 0,9% larutan fisiologis (NaCl) 250 mL ditimbang 2,25 gram NaCl, dimasukkan kedalam Erlenmeyer 250 mL dan ditambahkan aquades 250 mL kemudian dihomogenkan. Setelah homogen ditutup dengan kapas dan aluminium foil dan direkatkan dengan lakban. Kemudian di sterilkan dalam autoklaf tekanan 1 atm dengan suhu 121 °C selama 15 menit.

4.2.4.2 Pembuatan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae*

Dipastikan alat, bahan yang digunakan steril. Kemudian ose yang digunakan dibakar terlebih dahulu di atas bunsen sampai pijar, dan ose dimasukkan kedalam larutan fisiologis. Setelah itu, diambil 1 ose *Saccharomyces cerevisiae* dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi media PDA dengan metode cawan

gores (streak) secara aseptis didalam *Laminar Air Flow* (LAF) dan di inkubasi pada suhu 30 °C selama 48-120 jam (Febriyanti, 2016).

4.2.4.3 Pembuatan Larutan Buffer Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Untuk membuat larutan buffer pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* digunakan buffer sitrat pH 6. Larutan asam sitrat 0,25 M dibuat dengan cara ditimbang 4,8 gram asam sitrat dan dilarutkan dengan 200 mL aquades. Kemudian dibuat larutan Na_2HPO_4 0,25 M, ditimbang 3,5 gram $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dan dilarutkan dengan aquades 200 mL. Dilakukan kalibrasi pH meter dengan buffer pH 4, 7 dan 10. Diambil 40,9 mL Na_2HPO_4 0,25 M dan ditambahkan 9,1 mL larutan asam sitrat 0,25 M. Jika Larutan belum mencapai pH yang dibutuhkan, larutan ditambahkan terus-menerus hingga pH. Larutan mencapai pH 6 sambil diaduk dengan magnetic stirrer (Rahmana, 2016).

4.2.4.4 Persiapan Starter

Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* yang sudah terbentuk pada medium PDA diambil 1 ose dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer 100 mL yang berisi 90 mL medium *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan ditambahkan 10 mL larutan buffer pH 6 secara aseptis didalam *Laminar Air Flow* (LAF). Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil dan direkatkan dengan lakban. Kemudian di shaker dengan menggunakan *shaker incubator* pada kecepatan 130 rpm dengan suhu 30 °C selama 48-72 jam.

4.2.4.5 Pembuatan Larutan standar McFarland 0,5

Untuk membuat larutan standar McFarland 0,5 digunakan larutan BaCl_2 1% dan H_2SO_4 1%. Untuk membuat larutan BaCl_2 1% 10 mL ditimbang 0,1 gram BaCl_2 , dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquades sampai tanda batas, lalu dihomogenkan. Kemudian dibuat larutan H_2SO_4 1% 10 mL dengan larutan H_2SO_4 95-97% sebanyak 0,05 mL ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan. Dipindahkan larutan kedalam wadah yang tertutup rapat dan gelap atau ditutup dengan aluminium foil. Pembuatan larutan standar McFarland 0,5 dengan cara dipipet larutan BaCl_2 1% sebanyak 0,05 mL dan dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan 9,95 mL H_2SO_4 1%,

dihomogenkan dan ditutup dengan aluminium foil atau dipindahkan kedalam wadah tertutup dan gelap. Kemudian diukur absorbansi larutan McFarland menggunakan Spektrofotometer Uv-vis *double beam* pada panjang gelombang maksimum 600 nm (Sutton, 2011).

4.2.4.6 inokulasi *Saccharomyces cerevisiae*

Inokulasi *Saccharomyces cerevisiae* dilakukan dengan teknik pengenceran. Disiapkan 6 buah tabung reaksi steril, diberi label nama pada masing-masing tabung reaksi dengan 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} . Kemudian diambil 9 mL larutan fisiologis (NaCl 0,9%) steril dan dimasukkan kedalam masing masing tabung reaksi. Dipipet 1 ml inokulum dari media PDB yang telah di shaker dengan mikropipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 mL larutan fisiologis (NaCl 0,9%) steril dan di homogenisasi dengan menggunakan vortex, sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1} setelah itu diambil 1 ml dari tabung 10^{-1} kemudian dsukkan kedalam tabung berikutnya yang berisi 9 mL larutan fisiologis (NaCl 0,9%) steril. Homogenisasi dengan menggunakan vortex dan di peroleh pengenceran 10^{-2} . Selanjutnya dilakukan pengenceran kembali hingga diperoleh pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} . Teknik pengenceran ini dilakukan secara aseptis didalam *Laminar Air Flow* (LAF). Kemudian diukur absorbansi larutan pengenceran dengan menggunakan Spektrofotometer Uv-vis *double beam* pada panjang gelombang maksimum 600 nm. Hasil absoransinya masing-masing pengenceran di bandingkan dengan hasil absorbansi standar McFarland atau dibandingkan kekeruhan larutan inokulum pengenceran dengan larutan standar McFarland. Larutan pengenceran (inokulum) yang dihasilkan (sesuai dengan standar McFarland) digunakan pada proses fermentasi dedak (Aryanti, dkk., 2016).

4.2.5 Preparasi Sampel Dedak

Dedak ditimbang sebanyak 18 gram dan dimasukkan kedalam masing-masing erlenmeyer 100 ml sebanyak 6 buah, di panaskan dengan oven pada suhu 100-140 °C selama 5-15 menit. Kemudian didiamkan pada suhu ruangan, kemudian dedak akan digunakan pada proses fermentasi (Tengah, dkk, 2011).

4.2.6 Fermentasi Dedak Padi

Diambil 6 buah erlenmeyer yang masing-masing berisi 18 gram dedak padi yang telah dipanaskan, kemudian ditambahkan aquades steril 54 mL dengan perbandingan 1:3 (1 dedak dan 3 aquades) kedalam masing-masing erlenmeyer dan diaduk dengan pengaduk kaca steril. Diambil 1 mL inokulum *Saccharomyces Cerevisiae* hasil pengenceran (pengenceran 10^{-2}) dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam masing masing erlenmeyer secara duplo pada masing-masing variasi waktu fermentasi yaitu 2, 5 dan 7 hari (H2-1, H2,2; H5-1, H5-2; H7-1, H7-2). Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil, lalu direkatkan dengan lakban. Kemudian di shaker dengan menggunakan shaker inkubator pada kecepatan 130 rpm dengan suhu 30 °C selama 48-72 jam. Setelah proses fermentasi ditambahkan eter teknis (Razak, dkk., 2015)

Keterangan:

H2-1 : fermentasi hari ke-2 (simplo)

H2-2 : fermentasi hari ke-2 (duplo)

H5-1 : fermentasi hari ke-5 (simplo)

H5-2 : fermentasi hari ke-5 (duplo)

H7-1 : fermentasi hari ke-7 (simplo)

H7-2 : fermentasi hari ke-7 (duplo)

4.2.7 Ekstraksi Dedak Terfermentasi

Dedak terfermentasi ditambahkan eter teknis sebanyak 30 mL dan digojok sampai homeogen. Kemudian disaring dan dimasukkan kedalam corong pisah hingga terbentuk lapisan. Hasil ekstraksi (ekstrak dedak) dimasukkan kedalam botol vial.

4.2.8 Identifikasi Senyawa dengan *Gas Chromatography–Mass Spectroscopy* (GC-MS)

Ekstrak dedak dimasukkan kedalam *micro sentrifuge tube*, dan disentrifugasi dengan sentrifuge pada kecepatan 4000 rpm selama 5 menit. Kemudian dianalisis dengan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) dengan pengaturan kondisi alat sebagai berikut : Ekstrak yang dianalisis yaitu senyawa fenolik (asam fenolat), menggunakan kolom AT-5MS (5% fenilmeilpolisilokan), dimensi 30 ×

0,25 mm I.D, layar tipis dengan ukuran 0,25 μm , temperatur injector 230 $^{\circ}\text{C}$, gas pembawa helium 1,0 mL/min, temperatur oven diatur mulai dari 60 $^{\circ}\text{C}$ dengan 32 kenaikan suhu 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ sampai 280 $^{\circ}\text{C}$, temperature sumber ion 280 $^{\circ}\text{C}$, range scan MS 29-600 m/z dan arus detektor 1150.

4.2.9 Uji Aktivitas antioksidan

4.2.9.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 0,0157 gram, dan dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan metanol sampai tanda batas dan dihomogenkan. Dibungkus dengan aluminium foil dan disimpan ditempat gelap (Sami dan Rahimah, 2015).

4.2.9.2 Pembuatan Kurva Standar DPPH

Larutan induk DPPH 100 ppm dibuat dengan cara ditimbang 5 mg serbuk DPPH, dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan metanol sampai tanda batas. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 5; 10; 15; 20 dan 25 ppm dengan cara dipipet larutan induk DPPH 100 ppm sebanyak 0,5; 1; 1,5; 2 dan 2,5 mL secara berurutan kedalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan metanol sampai tanda batas. Larutan didiamkan selama 30 menit. Kemudian diukur panjang gelombang maksimum dan absorbansi larutan standar DPPH dengan Spektrofotometer Uv-vis *double beam*.

4.2.9.3 Pembuatan Larutan Blanko

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan metanol sampai tanda batas. Dibungkus dengan aluminium foil dan didiamkan selama 30 menit, kemudian diukur absorbansi blanko dengan Spektrofotometer Uv-vis *double beam* pada panjang gelombang 515 nm.

4.2.9.4 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Vitamin C (Asam Askorbat)

Dibuat larutan induk asam askorbat 100 ppm dengan cara ditimbang 5 mg serbuk asam askorbat dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas, kemudian dihomogenkan. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm dengan cara dipipet larutan induk asam askorbat 100 ppm sebanyak 0,3 mL; 0,4 mL; 0,5

mL dan 0,6 mL secara berurutan, dan ditambahkan metanol sampai tanda batas ke dalam labu ukur 10 mL Kemudian dipipet larutan pengenceran 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm masing-masing sebanyak 2,5 mL dan ditambahkan larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 2,5 mL dalam labu ukur 5 mL dihomogenkan, dibungkus dengan aluminium foil, disimpan ditempat gelap dan tertutup. Diukur absorbansi asam askorbat dengan Spektrofotometer Uv-vis *double beam* pada panjang gelombang 515 nm. Setelah diperoleh hasil, ditentukan besarnya hambatan serapan radikal DPPH dan IC₅₀. Besarnya hambatan serapan radikal ditentukan melalui perhitungan persentase (%) inhibisi dengan menggunakan rumus (Rahmawati, dkk., 2015):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorban blanko} - \text{Absorban asam askorbat})}{\text{Absorban blanko}} \times 100 \%$$

Keterangan:

- % Inhibisi : hambatan serapan radikal DPPH
- Absorban blanko : Serapan blanko radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum (515 nm).
- Absorban sampel : Serapan asam askorbat (vitamin C) dalam radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum (515 nm).

Nilai IC₅₀ masing-masing konsentrasi vitamin C (asam askorbat) dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi (IC₅₀) sebagai sumbu x dan % inhibisi (50) sebagai sumbu y, dari persamaan: $y = a + bx$ (Rahmawati, dkk., 2015). Untuk penentuan nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

Keterangan:

y = % Inhibisi (50)

a = Intercept (perpotongan garis di sumbu y)

b = Slope (kemiringan)

x = nilai IC₅₀

4.2.9.5 Pengujian Pengukuran Aktivitas Antioksidan sampel (mengandung senyawa fenolik)

Untuk membuat larutan induk sampel, ditimbang 5 mg sampel dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dilarutkan dengan metanol sampai tanda batas, dihomogenkan. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm dengan cara dipipet larutan induk sampel 100 ppm sebanyak 0,25 mL; 0,5 mL; 0,75 mL dan 1 mL secara berurutan, dan ditambahkan metanol sampai tanda batas ke dalam labu ukur 10 mL Kemudian dipipet larutan pengenceran 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm masing-masing sebanyak 2,5 mL dan ditambahkan larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 2,5 mL dalam labu ukur 5 mL dan dihomogenkan, dibungkus dengan aluminium foil, disimpan ditempat gelap dan tertutup. Diukur absorbansi sampel dengan Spektrofotometer Uv-vis *double beam* pada panjang gelombang 515 nm. Setelah diperoleh hasil, ditentukan besarnya hambatan serapan radikal DPPH dan IC₅₀. Besarnya hambatan serapan radikal ditentukan melalui perhitungan persentase (%) inhibisi dengan menggunakan rumus (Rahmawati, dkk., 2015):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorban blanko} - \text{Absorban sampel})}{\text{Absorban blanko}} \times 100 \%$$

Keterangan:

- % Inhibisi : hambatan serapan radikal DPPH
- Absorban blanko : Serapan blanko radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum (515 nm).
- Absorban sampel : Serapan sampel dalam radikal DPPH pada panjang gelombang maksimum (515 nm).

Nilai IC₅₀ masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi sampel (IC₅₀) sebagai sumbu x dan % inhibisi (50) sebagai sumbu y, dari persamaan: $y = a + bx$. Untuk penentuan nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

Keterangan:

y = % Inhibisi (50)

a = Intercept (perpotongan garis di sumbu y)

b = Slope (kemiringan)

x = nilai IC_{50}



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan senyawa fenolik yang dihasilkan oleh proses fermentasi, serta melakukan uji aktivitas antioksidannya. Proses fermentasi dilakukan dengan menggunakan dedak dan air dengan perbandingan 1:3 dan dilakukan variasi waktu selama 2, 5 dan 7 hari secara duplo, serta menggunakan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* untuk mempercepat proses fermentasi dedak, dimana media pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae* adalah *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk medium padat, *Potato Dextrose Broth* (PDB) untuk medium cair. Untuk mengetahui adanya senyawa fenolik pada dedak padi terfermentasi menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Untuk penentuan aktivitas antioksidan dalam dedak padi yang mengandung senyawa fenolik terfermentasi menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan Spektrofotometer Uv-vis.

5.1 Sterilisasi

Sterilisasi didefinisikan sebagai upaya untuk membunuh mikroorganisme termasuk dalam bentuk spora (Tille, 2017). Tujuan sterilisasi alat dan bahan ini untuk membunuh, menghambat dan membebaskan mikroorganisme yang terdapat pada alat dan bahan yang digunakan. Pada penelitian ini sterilisasi metode fisika yaitu dengan cara pemanasan. Sterilisasi dengan pemanasan ini ada dua macam yaitu: pemanasan kering dan pemanasan basah. Pemanasan kering dilakukan pada penelitian ini dengan tiga cara yaitu: pemijaran (pembakaran langsung dengan api sampai memijar: jarum ose), pembakaran (untuk alat dari bahan logam atau kaca dengan cara dilewatkan mulut tabung atau cawan diatas api namun tidak sampai pijar, dan sterilisasi/pemanasan dengan menggunakan oven pada suhu 160-180 °C selama 1-2 jam. Oven berfungsi untuk mensterilisasi alat menggunakan udara panas kering. Alat tersebut dibungkus dengan kertas untuk mencegah kontaminasi setelah dikeluarkan dari oven. Prinsip kerja oven adalah menghancurkan mikroorganisme menggunakan udara panas kering dengan cara mengoksidasi komponen sel untuk mencegah kontaminasi setelah dikeluarkan dari oven (Hadioetomo,1985).

Kelebihan sterilisasi dengan oven yaitu dapat digunakan pada senyawa yang tidak tahan terhadap uap air, tidak ada uap air yang menetes pada alat dan bahan yang disterilkan.

Pemanasan basah dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 1 atm. Prinsip kerja autoklaf adalah memanfaatkan suhu diatas 121°C dan tekanan uap 1 atm. Tekanan yang digunakan pada umumnya 15 Psi dengan suhu 121 °C (250 °F) (Stefanus, 2006). Sterilisasi menggunakan cara pemanasan basah dengan autoklaf dapat membunuh mikroorganisme karena pemanasan basah dapat menyebabkan denaturasi protein, termasuk enzim-enzim didalam sel (Fardiaz, 1992). Keunggulan pemanasan atau sterilisasi dengan autoklaf adalah dapat mensterilkan alat dan bahan hingga membunuh organisme. Autoklaf memerlukan waktu yang singkat untuk sterilisasi dengan menggunakan suhu dan tekanan tinggi sehingga memberikan kekuatan yang lebih besar untuk membunuh sel dibandingkan dengan udara panas biasa.

5.2 Media Pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*

Media merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang dipakai untuk menumbuhkan mikroorganisme baik dalam mengkultur bakteri, jamur, dan mikroorganisme lain (Benson, 2002). Media merupakan bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme sehingga media tersebut harus sesuai dengan kondisi pertumbuhan mikroorganisme yang digunakan. Suatu media dapat menumbuhkan mikroorganisme dengan baik diperlukan persyaratan antara lain: Media diinkubasikan pada suhu tertentu, kelembapan harus cukup, pH sesuai, dan kadar oksigen cukup baik, media pembenihan harus steril, media tidak mengandung zat-zat penghambat, dan media harus mengandung semua nutrisi yang mudah digunakan mikroorganisme (Jutono, 1980). Nutrisi yang dibutuhkan mikroorganisme untuk pertumbuhan meliputi karbon, nitrogen, unsur non logam seperti sulfur dan fosfor, unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Cu, Mn, Mg, dan Fe, vitamin, air, dan energi (Cappucino, 2014).

Saccharomyces cerevisiae merupakan salah satu jenis khamir (yeast), Media yang umum digunakan untuk menumbuhkan khamir adalah *Potato Dextrose Agar*

(PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), *Wallerstein Laboratories Nutrient Agar*, *Yeast Peptone Dextrose* (YPD) dan *Yeast Mould Agar* atau *Yeast Mould Broth*. Pada penelitian ini digunakan media PDA sebagai media padat dan PDB sebagai media cair. Media PDA dan PDB merupakan media yang cocok dan mendukung pertumbuhan yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). PDA dan PDB mengandung sumber karbohidrat dalam jumlah cukup yaitu terdiri dari ekstrak kentang dan glukosa sehingga baik untuk pertumbuhan kapang dan khamir. Kentang mengandung karbohidrat, vitamin, dan mikronutrien lain yang dapat dimanfaatkan oleh kapang dan khamir. dextrose sebagai karbohidrat sederhana menjadi sumber energi yang dapat segera digunakan. *Potato Dextrose Agar* (PDA) memiliki pH yang rendah (pH 4,5 sampai 5,6) sehingga menghambat pertumbuhan bakteri yang membutuhkan lingkungan yang netral dengan pH 7,0 dan suhu optimum untuk pertumbuhan antara 25-30 °C (Cappucino, 2014).

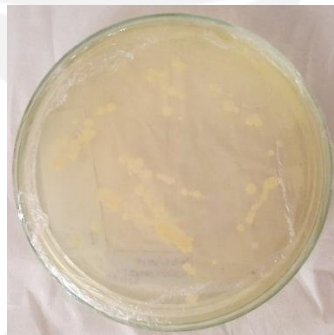
5.3 Inokulasi *Saccharomyces cerevisiae*

Inokulasi mikroorganisme adalah pekerjaan memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru dengan tingkat ketelitian yang sangat tinggi, untuk melakukan penanaman bakteri (inokulasi) terlebih dahulu diusahakan agar semua alat yang ada hubungannya dengan medium tetap steril, hal ini agar menghindari terjadinya kontaminasi (Dwidjoseputro, 1994).

Sumber isolat *Saccharomyces cerevisiae* diinokulasikan dengan menggunakan metode gores (*streak plate*). Metode *streak plate* merupakan suatu teknik untuk menumbuhkan mikrobia dalam media agar dengan cara menggoreskan (*streak*) permukaan agar dengan ose. Ada beberapa metode penggoresan yang berbeda, namun kesemua metode bertujuan untuk meletakkan sebagian besar organisme pada beberapa goresan pertama. Apabila sebaran dilakukan dengan menggerakkan jarum ose bergantian dari satu bagian ke bagian lain cawan petri, bakteri yang tertinggal pada jarum ose semakin berkurang. Jika dilakukan secara sempurna, goresan akhir akan meninggalkan bakteri individual cukup terpisah satu sama lain, sehingga setelah mengalami pertumbuhan, koloni yang berasal dari bakteri individual akan benar-benar terpisah satu sama lain. Kemudian koloni

tunggal dapat ditinggalkan ke medium steril, dan akan tumbuhlah biakan murni (Hadioetomo, 1993).

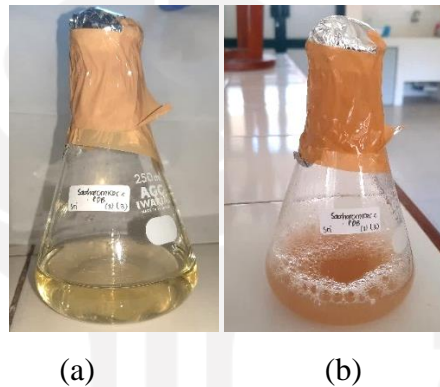
Isolat *Saccharomyces cerevisiae* dipindahkan ke medium PDA dengan menggunakan jarum ose. Jarum ose berfungsi mengambil atau memindahkan koloni mikroba ke dalam media PDA. Jarum ose harus dibakar terlebih dahulu sampai pijar untuk membunuh mikroorganisme lain yang menempel pada jarum ose. Setelah proses penggosokan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48-120 jam. Pada proses inkubasi cawan petri harus disimpan terbalik, hal ini berfungsi untuk menghindari adanya tetesan air yang mungkin melekat pada dinding tutup cawan petri yang akan mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Inkubasi merupakan proses pemeliharaan kultur mikroba dengan menggunakan inkubator yang dilengkapi dengan sistem untuk mempertahankan suhu dan kelembaban selama masa inkubasi sehingga mikroba dapat tumbuh secara baik. Pada penelitian ini koloni *Saccharomyces cerevisiae* tumbuh baik pada suhu 30 °C selama 5 hari.



Gambar 8. Koloni *Saccharomyces cerevisiae* pada media PDA

Proses selanjutnya yaitu pemindahan koloni/kultur *Saccharomyces cerevisiae* dari media PDA ke media PDB. PDB ditambahkan dengan larutan buffer agar *Saccharomyces cerevisiae* tumbuh baik atau optimal dalam medium PDB dengan pH yang sesuai. Larutan buffer yang digunakan yaitu larutan buffer pH 6 dibuat dari Na_2HPO_4 0,25 M dan Asam sitrat 0,25 M. Sehingga Medium mengandung 90 mL *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan 10 mL larutan buffer pH 6. pH ini sesuai dengan literatur, menurut Wiratmaja (2011) *Saccharomyces cerevisiae* dipengaruhi oleh faktor tumbuh yang meliputi pH pertumbuhan antara 2,0-8,6. Laju fermentasi gula oleh *Saccharomyces cerevisiae* relatif intensif pada pH 3,5-6,0. Pemindahan

koloni/kultur *Saccharomyces cerevisiae* dari media PDA ke media PDB dengan menggunakan ose. Kemudian di shaker menggunakan (*shaker incubator*) selama 48-72 jam dengan kecepatan 130 rpm pada suhu 30 °C. *Shaker incubator* ini berfungsi ganda yaitu untuk menghomogenkan nutrisi dan menjaga kondisi yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroba. shaker berfungsi untuk menyeragamkan cairan agar partikel memiliki ukuran sama dengan cara menerapkan getaran yang memiliki getaran satu arah, bisa dengan gerakan maju mundur atau menyerupai jungkat-jungkit. Setelah proses shaker medium akan berubah menjadi keruh yang menandakan koloni/kultur *Saccharomyces cerevisiae* tumbuh dengan baik. Berikut gambar koloni/kultur *Saccharomyces cerevisiae* pada media PDB:



Gambar 9. Kultur *Saccharomyces cerevisiae* pada media PDB sebelum shaker (a), Kultur *Saccharomyces cerevisiae* pada media PDB setelah shaker (b)

Proses selanjutnya yaitu inokulasi *Saccharomyces cerevisiae* dengan menggunakan teknik pengenceran (*dilution method*) atau pengenceran bertingkat dan perbandingan standar McFarland. Tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. (Wasteson dan Hornes, 2009). Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Digunakan perbandingan 1:9 untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 1/10 sel mikroorganisma dari pengenceran sebelumnya (yunita, dkk.,2015).

Pada penelitian ini dibuat pengenceran bertingkat dari 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} dengan perbandingan 1: 9 (1 mL inokulum dari media PDB dan 9

mL larutan fisiologis (NaCl 0,9%) steril). Larutan fisiologis berfungsi menjaga ketahanan hidup inokulum *Saccharomyces cerevisiae* serta menjaga keseimbangan ion sel mikroba. Semakin banyak jumlah pengenceran yang dilakukan, semakin sedikit jumlah mikrobia, dikarenakan jumlah sampel yang terlarut semakin sedikit. Dilakukan pengenceran agar tidak terjadi penumpukan koloni bakteri.



Gambar 10. Pengenceran bertingkat *Saccharomyces cerevisiae*

Fungsi vortex pada proses pengenceran yaitu agar mikroba didalam larutan menjadi homogen. ketika pengambilan sampel dengan menggunakan mikro pipet jumlah mikroba yang diperoleh setiap pengambilan diharapkan intensitas jumlahnya relative sama, dan fungsi dari perlakuan penggantian tip mikropipet setiap pengambilan seri pengenceran untuk mencegah terjadinya kontaminasi oleh mikroba yang ada pada tip sebelumnya. sehingga tidak mempengaruhi hasil.

Standar McFarland pada penelitian ini menggunakan standar McFarland 0,5 dari kombinasi 0,05 mL larutan BaCl₂ 1% dan 9,95 mL H₂SO₄ 1%. Standar McFarland digunakan untuk standarisasi perkiraan jumlah bakteri dalam suspensi cair dengan membandingkan kekeruhan suspensi uji dan absorbansi suspensi uji dengan Standard McFarland.

Standar kekeruhan dari McFarland ini digunakan untuk menggantikan perhitungan koloni *Saccharomyces cerevisiae* satu persatu serta untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan dalam proses fermentasi. Keuntungan dari penggunaan standar McFarland adalah tidak dibutuhkannya waktu inkubasi yang cukup untuk memperoleh jumlah kepadatan bakteri yang diinginkan,

sedangkan kerugiannya akan terjadi perbedaan pandangan untuk menilai tingkat kekeruhan dari sel bakteri (Sutton,2011).

Seri pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} dan larutan standar McFarland 0,5 diukur absorbansi larutan pengenceran dengan menggunakan Spektrofotometer Uv-vis *double beam* pada panjang gelombang maksimum 600 nm. Spektrofotometer UV-Vis menjadi alat yang sering digunakan dalam analisis karena alat ini sederhana, prosesnya cepat serta sensitif (Mulja, 1995).

Perbandingan hasil absorpsi seri pengenceran dan McFarland sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil absorbansi seri pengenceran dan Mcfarland

Seri pengenceran	Absorbansi
McFarland	0.010
10^{-1}	0,188
10^{-2}	0,016
10^{-3}	0,002
10^{-4}	0,004
10^{-5}	0,001
10^{-6}	-0,001

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat pada seri pengenceran 10^{-2} yang mendekati absorbansi McFarland dibandingkan dengan seri pengenceran lainnya. Serta dilihat secara visual bahwa pengenceran 10^{-2} yang sama kekeruhannya dengan larutan standar McFarland. Semakin keruh suatu kultur semakin banyak jumlah selnya. Cahaya yang dipancarkan pada Spektrofotometer akan mengenai sel sehingga sebagian cahaya akan di serap dan sebagian diteruskan. Banyaknya cahaya yang diabsorpsi sebanding dengan banyaknya sel bakteri (Purwoko, 2009). Sehingga inokulum pada pengenceran 10^{-2} yang akan digunakan pada proses fermentasi. Kemudian dicocokkan dengan tabel standar McFarland berikut untuk memperkirakan jumlah suspense bakteri.

Tabel 3. McFarland scale value (Gayathiri,2018)

MFU	Approximate cell density
0,5 MFU	1,5 x 10 ⁸ Cells/mL
1 MFU	3,0 x 10 ⁸ Cells/mL
2 MFU	6,0 x 10 ⁸ Cells/mL
3 MFU	9,0 x 10 ⁸ Cells/mL
4 MFU	12 x 10 ⁸ Cells/mL
5 MFU	15 x 10 ⁸ Cells/mL
6 MFU	18 x 10 ⁸ Cells/mL
7 MFU	21 x 10 ⁸ Cells/mL
8 MFU	24 x 10 ⁸ Cells/mL
9 MFU	27 x 10 ⁸ Cells/mL
10 MFU	30 x 10 ⁸ Cells/mL

*MFU-McFarland Standar

Pada penelitian ini digunakan standar McFarland 0,5 sehingga berdasarkan tabel diatas standard McFarland 0,5 setara dengan jumlah perkiraan suspensi yeast 1,5 x 10⁸ CFU/mL. Maka dapat juga dikatakan bahwa jumlah suspensi inokulum *Saccharomyces cerevisiae* pada seri pengenceran 10⁻² yaitu 1,5 x 10⁸ CFU/mL.

5.4 Fermentasi Dedak Padi oleh *Saccharomyces cerevisiae*

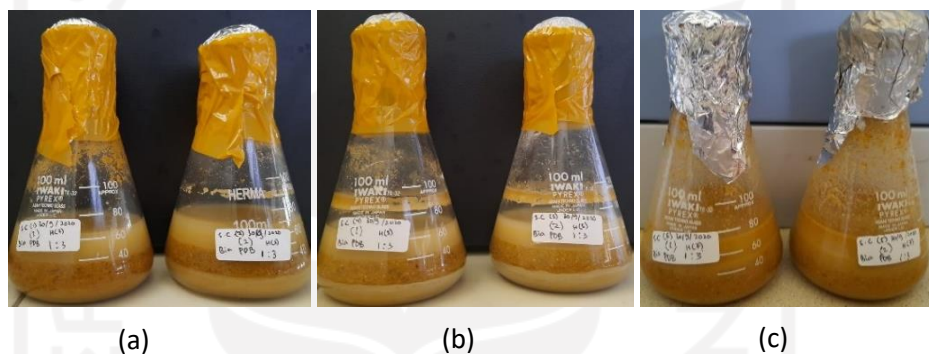
Dedak merupakan bahan alam yang mengandung komponen bioaktif yang memiliki peranan bagi kesehatan. Salah satu proses pengolahan dedak yang berpotensi meningkatkan komponen bioaktif adalah dengan cara fermentasi. Fermentasi merupakan suatu cara untuk mengubah substrat menjadi produk tertentu yang dikehendaki menggunakan bantuan mikroba. Pada penelitian ini mikroba yang digunakan untuk proses fermentasi yaitu *Saccharomyces cerevisiae*. Digunakan *Saccharomyces cerevisiae* dalam proses fermentasi karena memiliki beberapa kelebihan yaitu mikroorganisme ini cepat berkembang biak, tahan terhadap kadar alkohol yang tinggi, tahan terhadap suhu yang tinggi, mempunyai sifat stabil dan cepat mengadakan adaptasi. Selain itu, proses fermentasi *Saccharomyces cerevisiae* menghasilkan 70% asam organik, seperti asam asetat,

asam malat, asam sukisimat, dan asam piruvat. Asam organik ini dapat digunakan untuk antioksidan (Akita, 1999). *Saccharomyces cerevisiae* saat ini banyak dilakukan untuk proses fermentasi alkohol seperti pembuatan minuman beralkohol (bir dan wine), sedangkan untuk fermentasi asam belum banyak diterapkan. Untuk fermentasi asam *Saccharomyces cerevisiae* biasanya ditambahkan dengan fermentasi senyawa lain untuk menghasilkan asam. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Putri dkk. (2016) menyatakan bahwa prinsip pembuatan cuka fermentasi adalah melalui proses fermentasi 2 tahap, yaitu tahap pertama fermentasi alkohol dan tahap kedua fermentasi asam asetat. Fermentasi alkohol melibatkan aktivitas *Saccharomyces cerevisiae* yang mengubah gula-gula sederhana menjadi alkohol dalam kondisi anaerob. Tahap kedua fermentasi asam asetat melibatkan aktivitas bakteri *Acetobacter aceti* yang mengubah alkohol dengan kadar tertentu menjadi sejumlah asam asetat dalam kondisi aerob.

Pada penelitian ini digunakan dedak padi karena produksi padi di Indonesia memiliki produktifitas yang besar dan meningkat setiap tahunnya dibandingkan dengan jagung dan gandum. Hal ini juga meningkatkan produksi dedak padi. Sementara itu, dedak padi saat ini digunakan untuk pakan ternak dan belum banyak dimanfaatkan untuk kebutuhan manusia.

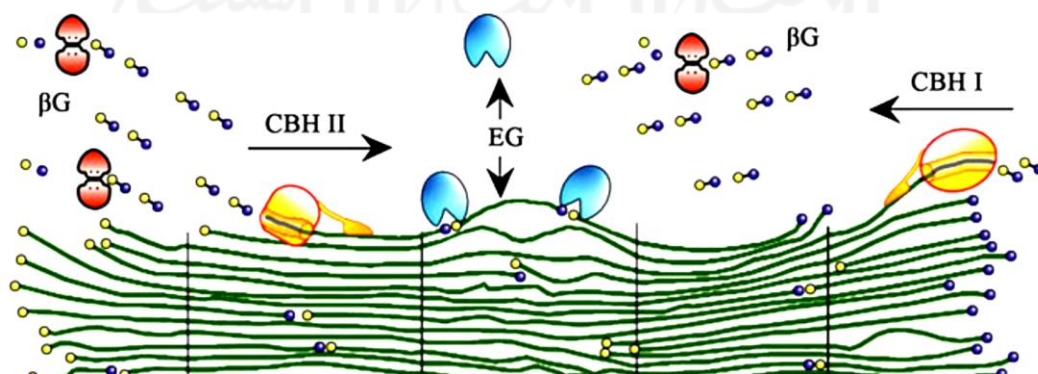
Proses fermentasi diawali dengan pemanasan dedak dengan oven pada suhu 100-140 °C selama 5-15 menit. Tujuan pemanasan ini untuk menghilangkan kadar air yang terkandung didalam dedak, serta membunuh mikroorganisme lain yang ada pada dedak, yang dapat mempengaruhi hasil fermentasi. Dibuat perbandingan dedak dan aquades dengan perbandingan 1:3 (18 mL dedak: 15 mL aquades. Digunakan perbandingan 1:3 karena perbandingan ini merupakan perbandingan yang optimal (baik) dalam proses fermentasi, dimana dengan perbandingan campuran dedak dan air 1: 3 memiliki kekentalan yang baik (tidak terlalu encer dan tidak terlalu padat) sehingga proses fermentasi berjalan optimal. Kemudian ditambahkan 1 mL inokulum *Saccharomyces cerevisiae* hasil pengenceran (pengenceran 10^{-2}) dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam masing masing erlenmeyer secara duplo pada masing-masing variasi waktu fermentasi. yaitu 2, 5 dan 7 hari (H2-1, H2,2; H5-1, H5-2; H7-1, H7-2) untuk

mengetahui adanya senyawa fenolik dalam dedak padi dengan menggunakan variasi waktu. Penambahan inokulum mampu meningkatkan konsentrasi komponen bioaktif pada dedak. Serta dapat mempercepat proses fermentasi. Pada proses fermentasi ini sambal di shaker menggunakan (*shaker incubator*) dengan kecepatan 130 rpm pada suhu 30 °C. *Shaker incubator* ini berfungsi ganda yaitu untuk menghomogenkan nutrisi dan menjaga kondisi yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroba, sehingga mengoptimalkan proses fermentasi. Berikut adalah gambar dedak pada proses fermentasi:



Gambar 11. Fermentasi hari ke 2 (a), hari ke 5 (b), hari ke 7 (c)

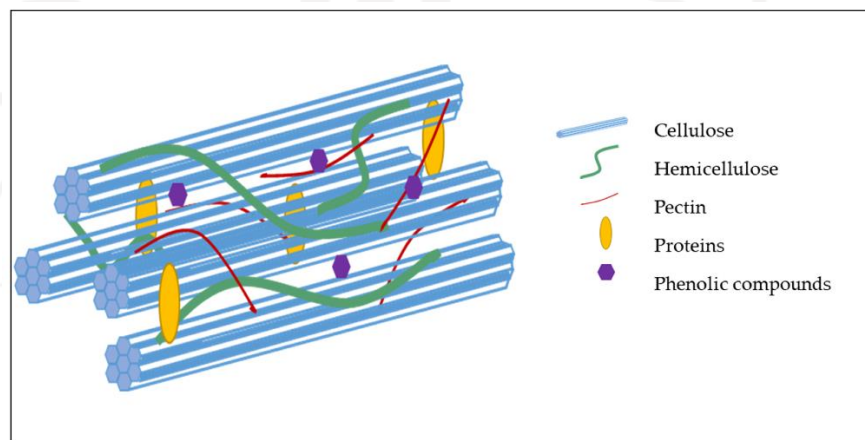
Proses fermentasi dapat mengubah komposisi kimia yang disebabkan oleh produksi enzim ekstrak seluler oleh mikroorganisme untuk mendapat nutrisi dan hasil samping dari metabolit lainnya. Metabolism ini dapat memperkaya nutrisi pada substrat tergantung pada komponen yang terdapat pada agen fermentasi atau ketersediaan nutrisi pada substrat tersebut (Oliveira, dkk., 2010) Proses fermentasi akan merombak struktur jaringan kimia dinding sel, pemutusan ikatan lignoselulosa



Gambar 12. Mekanisme degradasi selulosa, CBH (*cellobiohydrolase* atau *exo-beta-glucanase*), EG (*endo-beta-glucanase*), β G (β -glucosidase) (Wang, dkk., 2012)

dan lignin pada dedak. Dilaporkan oleh Judoamidjojo dkk. (1989), bahwa enzim selulase yang dikeluarkan oleh khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) pada saat fermentasi, yaitu selobiohidrolase (CBH) akan menyerang bagian kristal dari selulosa, endoglukonase (EG) yang menyerang bagian amorf dari struktur selulosa, dan β -glukosidase yang menguraikan selobiosa menjadi glukosa. Mikrobia fermentasi mempunyai kemampuan katabolik terhadap komponen organik kompleks, dan diubah menjadi komponen sederhana. Proses tersebut timbul karena adanya aktivitas beberapa enzim yang dihasilkan oleh mikrobia. Berikut adalah mekanisme proses degradasi selulosa pada saat fermentasi.

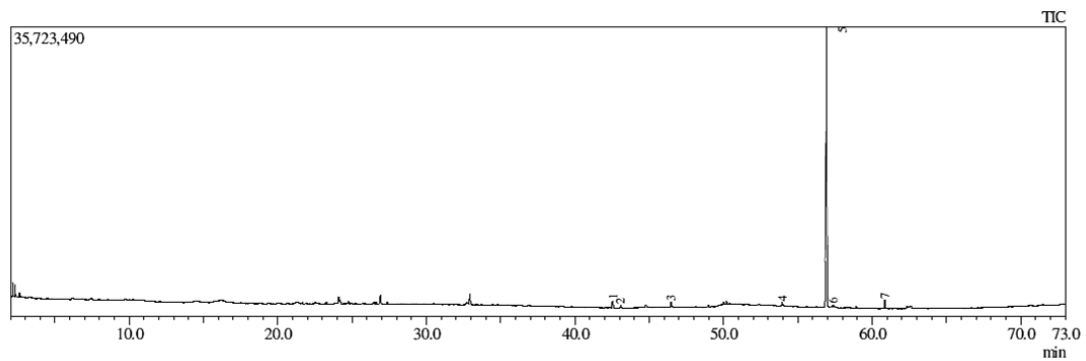
Dedak padi yang difermentasi oleh yeast/khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) dapat meningkatkan lisin melalui aktifitas biosintesis (Poedjiadi, 1994). Mineral juga berperan sebagai katalis dan kofaktor aktifitas berbagai enzim dalam setiap tahap metabolisme (Darmono 1995). Dengan terjadinya proses fermentasi maka dapat menyebabkan terjadinya pemutusan ikatan fitat-mineral atau fitat-pati serta fitat-protein oleh enzim fitase yang ada pada dedak selama proses fermentasi. Terputusnya ikatan fitat yang ada dalam dedak padi, menyebabkan mineral serta nutrisi lainnya menjadi tersedia. Fermentasi dapat mereduksi asam fitat karena terjadi proses hidrolisis oleh enzim yang berasal dari sel khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) (Soeharsono, 2010).



Gambar 13. Representasi struktur senyawa fenolik dalam tumbuhan (Holland, dkk., 2020)

Selama fermentasi mikroba mensintesis enzim mampu memecah ikatan ester dan melepaskan fenolik terikat, sehingga meningkatkan senyawa fenolik bebas. Senyawa fenolik dalam bentuk glikosida dihidrolisis oleh enzim *β -glukosidase* bersama enzim esterase untuk membebaskan aglikon fenolik dari glikon (gula) (Zheng, 2000). Senyawa fenolik yang terikat dengan lignin sebagai ester didegradasi oleh enzim lakase membentuk fenolik bebas yang terakumulasi dalam vakuola sel (Schmidt, 2012). Lakase merupakan salah satu enzim lignolitik yang banyak mengandung tembaga oksidase dan mempunyai kemampuan untuk mengoksidasi senyawa fenol. Reaksi ezimatik pada ezim lakase merupakan reaksi oksidasi yang menghasilkan satu electron hasil oksidasi senyawa fenol dan mereduksi oksigen menjadi air (Sigit, 2008)

Setelah proses fermentasi selesai sampel ditambahkan eter untuk menghentikan proses fermentasi dan juga untuk mengikat senyawa-senyawa yang terkandung dalam dedak seperti senyawa fenolik. Setelah ditambahkan eter sampel disaring dan dimasukkan kedalam corong pisah (ekstraksi cair-cair) untuk memisahkan eter yang mengandung senyawa fenolik (ekstrak dedak) dengan dedak dan air. Pada proses pemisahan membentuk 2 lapisan. Lapisan atas adalah eter (ekstrak dedak) dan lapisan bawah adalah air dedak. Diambil lapisan atas yaitu eter (ekstrak dedak) sebagai hasil ekstraksi. Hasil ekstraksi kemudian dianalisis dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) untuk memisahkan dan mengidentifikasi komponen-komponen senyawa yang terkandung dalam sampel dedak hasil fermentasi.

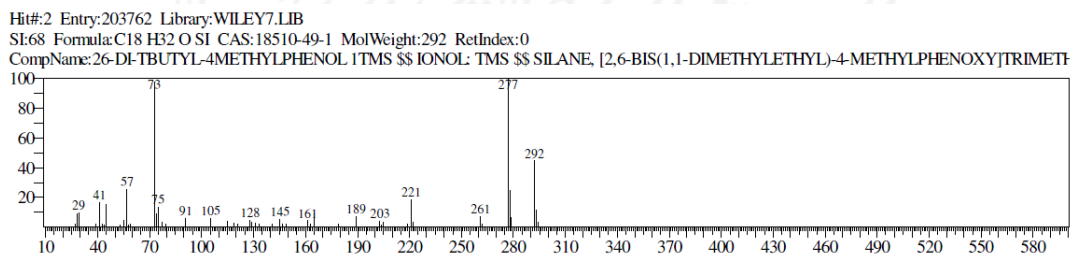


Gambar 14. Kromatogram GC-MS ekstrak dedak terfermentasi hari ke 2

Hasil analisis GC-MS ekstrak dedak terfermentasi menunjukkan adanya senyawa fenolik pada fermentasi hari ke-2 simplo (H2-1). Berikut hasil analisis GC-MS ekstrak dedak hari ke 2:

Tabel 4. Tabel Hasil GC-MS ekstrak dedak hari ke 2

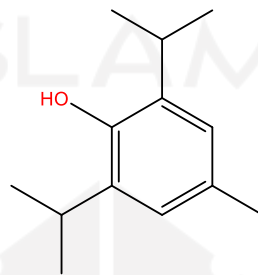
Peak	Waktu Retensi	% Area	Nama Senyawa
1	42,510	1,81	Hexadecenoic acid
2	43,059	0,70	2,6-Tert-Butyl-4-Methylphenol
3	46,451	1,49	2-Hexadecen-1-ol
4	53,917	0,76	Oxiraneoctanoic acid
5	56,914	91,82	Hexanedioic acid
6	57,377	0,81	9-Octadecenoic acid
7	60,846	2,61	1,2-Benzenedicarboxylic acid



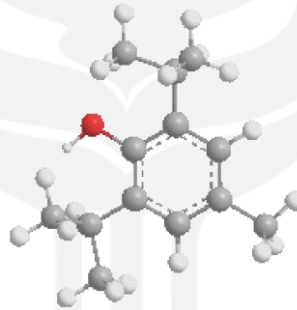
Gambar 15. Spektra senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol

Berdasarkan tabel hasil GC-MS ekstrak dedak yang merupakan senyawa fenolik ada pada peak 2 dengan nama senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol yang muncul pada waktu retensi 42,510 dengan % area 0,70%. Senyawa fenolik satu atau

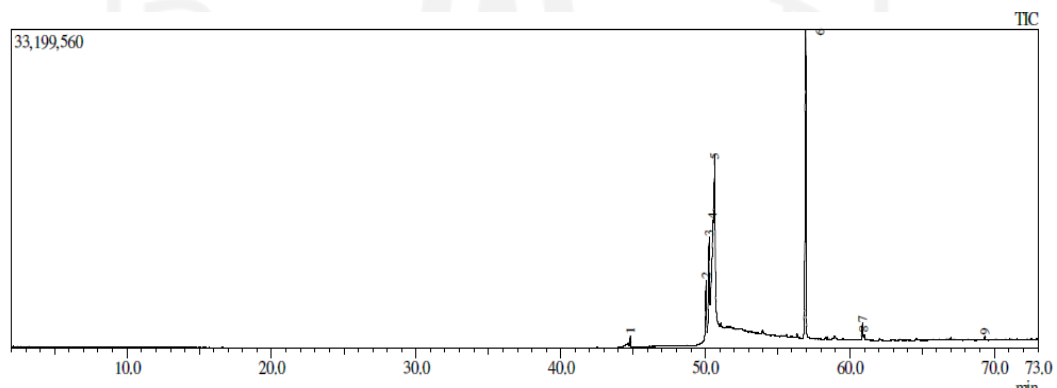
lebih gugus hidroksil yang menempel dicincin aromatik. Dengan kata lain, adalah yang sekurang-kurangnya memiliki satu gugus fenol (Vermerris dan Nicholson, 2006). Pada struktur senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol terdapat gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik sehingga 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol termasuk senyawa fenolik. Berikut adalah struktur senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol:



Gambar 16. Struktur senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol



Gambar 17. Struktur 3D senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metilfenol

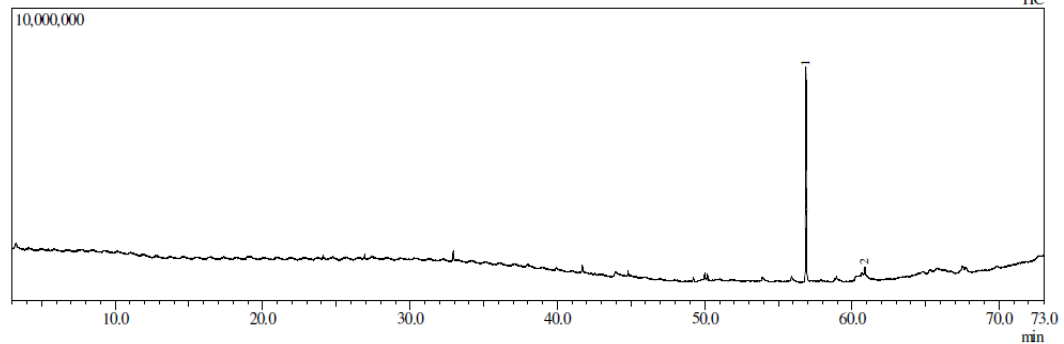


Gambar 18. Kromatogram GC-MS ekstrak dedak terfermentasi hari ke 5

Hasi analisis GC-MS ekstrak dedak terfermentasi menunjukkan tidak adanya senyawa fenolik pada fermentasi hari ke-5. Berikut hasil analisis GC-MS ekstrak dedak hari ke 5:

Tabel 5. Tabel Hasil GC-MS ekstrak dedak hari ke 5

Peak	Waktu Retensi	% Area	Nama Senyawa
1	44,807	0,68	Hexadecanoic acid
2	50,056	4,80	9,12-Octadecadienoic acid
3	50,252	10,22	Ethyl 9-hexadecenoate
4	50,533	21,29	9,12-Octadecadienoic acid
5	50,664	29,23	9,12-Octadecadienoic acid
6	56,938	31,44	Hexadecanoic acid
7	60,859	1,66	1,2-Benzenedicarboxylic acid
8	60,993	0,45	9-Octadecenoic acid
9	69,342	0,23	Nonacosane

**Gambar 19.** Kromatogram GC-MS ekstrak dedak terfermentasi hari ke 7

Hasil analisis GC-MS ekstrak dedak terfermentasi menunjukkan tidak adanya senyawa fenolik pada fermentasi hari ke-7. Berikut hasil analisis GC-MS ekstrak dedak hari ke 7:

Tabel 6. Tabel Hasil GC-MS ekstrak dedak hari ke 7

Peak	Waktu Retensi	% Area	Nama Senyawa
1	56,876	96,31	Hexanedioic acid
2	60,871	3,69	1,2-Benzenedicarboxylic acid

Berdasarkan hasil GC-MS senyawa fenolik hanya muncul pada hari ke-2, sedangkan pada fermentasi hari ke-5 dan ke-7 tidak ada senyawa fenolik. Hal ini kemungkinan dapat dipengaruhi oleh etanol yang dihasilkan pada proses

fermentasi. Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan etanol. Pada hari ke-5 dan ke-7 konsentrasi etanol kemungkinan sudah melebihi batas sehingga menghambat proses fermentasi senyawa fenolik. Menurut Muin dkk. (2015) etanol dan CO₂ yang terbentuk dapat menghambat proses fermentasi. Proses fermentasi akan berhenti saat konsentrasi etanol yang terbentuk sekitar 12–15 %. Hal ini terjadi karena sel hidup khamir hanya toleran terhadap etanol pada konsentrasi tertentu sehingga saat konsentrasi etanol sudah melebihi batas toleransi khamir maka pertumbuhan khamir akan terhambat dan menghentikan proses fermentasi.

5.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Serangan radikal bebas terhadap molekul di sekelilingnya akan menyebabkan terjadinya reaksi berantai, yang kemudian menghasilkan senyawa radikal baru. Dampak reaktivitas senyawa radikal bebas menyebabkan kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif, hingga kanker (Sadikin, 2001).

Dedak mengandung senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik dan γ -oryzanol yang memiliki aktivitas antioksidan. Penentuan aktifitas antioksidan dilakukan dengan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Senyawa DPPH adalah radikal bebas yang stabil dalam larutan dalam metanol serta memiliki serapan yang kuat dalam bentuk teroksidasi. Senyawa ini mampu menerima elektron atau radikal hidrogen dari senyawa lain sehingga membentuk molekul diamagnetik yang stabil (Blois, 1958).

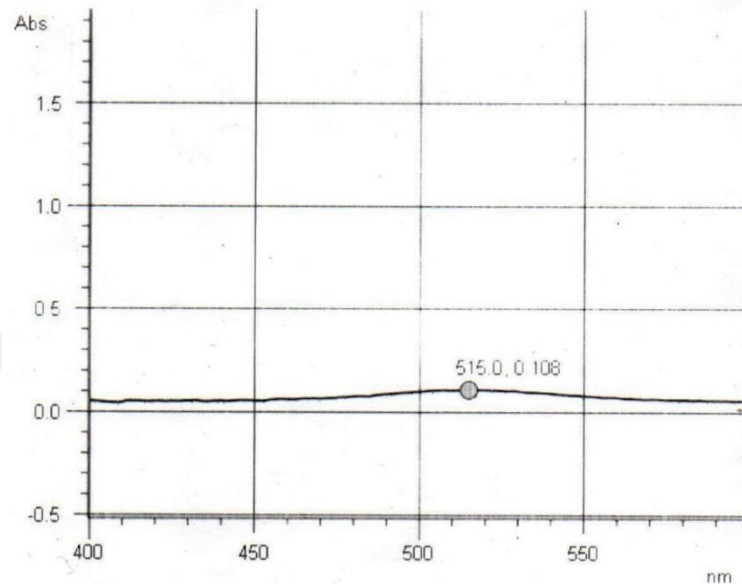
Metode uji aktivitas antioksidan dengan DPPH dipilih karena metode ini adalah metode sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor electron (Molyneux, 2004). Parameter hasil pengujian dengan metode DPPH adalah IC₅₀ (inhibition concentration), yaitu konsentrasi larutan sampel yang menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50% (Souhoka, 2019).

Prinsip dari metode uji aktivitas antioksidan ini adalah pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif yaitu dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (Inhibitory Concentration). Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50$ ppm, kuat $50 < IC_{50} < 100$ ppm, sedang $100 < IC_{50} < 150$ ppm, lemah $150 < IC_{50} < 200$ ppm, dan sangat lemah $IC_{50} > 200$ ppm (Molyneux, 2004). Prinsip kerja dari pengukuran ini adalah adanya radikal bebas stabil yaitu DPPH yang dicampurkan dengan senyawa antioksidan yang memiliki kemampuan mendonorkan hidrogen, sehingga radikal bebas dapat diredam (Robinson, 2000)

5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Proses pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dedak diawali dengan penentuan panjang gelombang maksimum DPPH. Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui pada panjang gelombang berapa menghasilkan nilai serapan paling maksimum pada sampel (ekstrak dedak). Pada panjang gelombang maksimum terjadi perubahan absorbansi yang paling besar untuk setiap satuan konsentrasi sehingga memiliki kepekaan maksimum, yang jika dilakukan pengukuran berulang dapat meminimalisir kesalahan akibat pengulangan pengukuran.

Pada panjang gelombang maksimum perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar sehingga akan dihasilkan absorbansi maksimal (Gandjar dan Rohman, 2007). Spektrum UV-Vis hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH ditunjukkan pada gambar berikut:



Gambar 20. Panjang gelombang maksimum

Berdasarkan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH diatas maka yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan dedak yaitu pada panjang gelombang 515 nm. Panjang gelombang ini sesuai dengan referensi, menurut Prakash (2001) radikala DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm.

Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang dimana terjadi penyerapan secara maksimal suatu zat yang diberikan. Ada beberapa alasan mengapa harus mengukur Panjang gelombang maksimal yaitu (Gandjar dan Rohman, 2007):

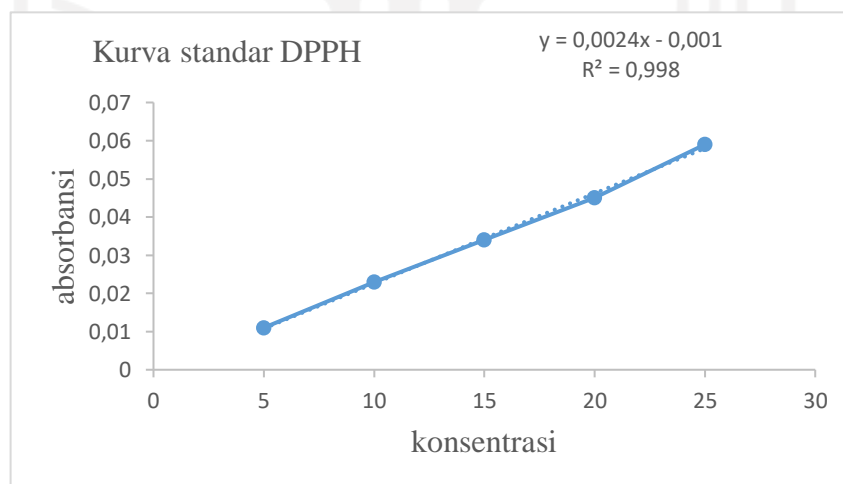
1. Panjang gelombang maksimal, kepekaannya juga maksimal karena pada panjang gelombang maksimal tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah yang paling besar.
2. Pada panjang gelombang maksimal, bentuk kurva absorbansi datar dan pada kondisi tersebut hokum Lambert-Beer akan terpenuhi
3. Jika melakukan pengukuran ulang maka kesalahan yang disebabkan oleh pemasangan ulang panjang gelombang akan kecil sekali, ketika digunakan panjang gelombang.

5.5.2 Pengukuran Kurva Standar DPPH

Kurva standar DPPH dibuat untuk menguji linearitas pada sampel. Pengukuran kurva standar DPPH dari serbuk DPPH yang dilarutkan dengan pelarut methanol (tanpa analit). Tujuan pembuatan larutan ini adalah untuk digunakan sebagai kontrol atau acuan oleh larutan yang akan ditambahkan dengan analit. Larutan standar DPPH dibuat dengan variasi pengenceran 5; 10; 15; 20 dan 25 ppm. Kemudian diukur absorbansinya dengan Spektrofotometer Uv-vis *double beam*, pada Panjang gelombang 515. Berikut hasil Absorbansi larutan standar DPPH:

Tabel 7. Hasil absorbansi larutan standar DPPH

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi	Persamaan Regresi Linear
5	0,011	$y=0,0024x-0,001$ $R^2=0,998$
10	0,023	
15	0,034	
20	0,045	
25	0,059	



Gambar 21. Kurva standar DPPH

Berdasarkan hasil absorbansi dibuat kurva standar DPPH sehingga diperoleh persamaan regresi $y=0,0024x-0,001$ dengan dengan nilai intercept (a) = 0,0011 dan nilai slope (b)=0,0024 dengan nilai korelasi (R^2) = 0,998. Data absorbansi yang dihasilkan sudah tergolong baik, karena korelasi yang didapatkan mendekati 1.

5.5.3 Uji Aktivitas Antioksidasi Ekstrak Dedak

Pada pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak dedak dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan Vitamin C (asam askorbat) sebagai pembanding. Hal ini dikarenakan vitamin C (asam askorbat) memiliki gugus pendonor elektron. Gugus ini terletak pada atom C₂ dan C₃, dengan adanya gugus ini memungkinkan vitamin C untuk menangkap radikal bebas.

Asam askorbat dibuat konsentrasinya sebesar 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm dan 12 ppm yang ditambahkan dengan DPPH 0,4 mM. Pembuatan larutan asam askorbat harus ditempat yang tertutup, terhindar dari sinar matahari karena asam askorbat sangat mudah teroksidasi secara reversibel menjadi asam L-dehidroaskorbat yang secara kimia sangat labil dan dapat mengalami perubahan lebih lanjut menjadi asam L-diketogulonat yang tidak memiliki keaktifan sebagai vitamin C lagi (Buckle, 1987). Kemudian diukur absorbansi asam askorbat dan blanko (campuran DPPH dan methanol) dengan Spektrofotometer Uv-vis *double beam* pada panjang gelombang 515 nm. Berikut hasil absorbansi asam askorbat, blanko:

Tabel 8. Hasil absorbansi asam askorbat

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
6	0,107
8	0,102
10	0,095
12	0,087

Tabel 9. Hasil absorbansi blanko

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
Blanko 1	0,142
Blanko 2	0,142
Blanko 3	0,142

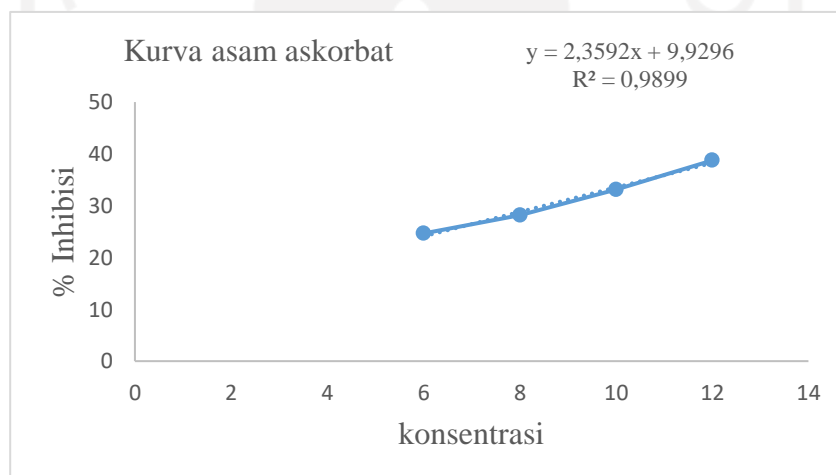
Blanko adalah larutan yang mendapatkan perlakuan yang sama dengan sampel dan pembanding namun tidak mengandung analat. Tujuan pengukuran

absorbansi blanko adalah mengetahui besarnya serapan oleh zat bukan analat (Wang, 2001).

Setelah diperoleh hasil absorbansi, ditentukan besarnya hambatan serapan radikal DPPH dan IC_{50} . Besarnya hambatan serapan radikal ditentukan melalui perhitungan persentase (%) inhibisi dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorban blanko} - \text{Absorban asam askorbat})}{\text{Absorban blanko}} \times 100 \%$$

Nilai IC_{50} masing-masing konsentrasi vitamin C (asam askorbat) dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi (IC_{50}) sebagai sumbu x dan % inhibisi (50) sebagai sumbu y, dari persamaan: $y = a + bx$. Berikut adalah hasil perhitungan Antioksidan Asam askorbat:



Gambar 22. Kurva hubungan % inhibisi antioksidan terhadap konsentrasi asam askorbat

Tabel 10. Hasil perhitungan antioksidan asam askorbat

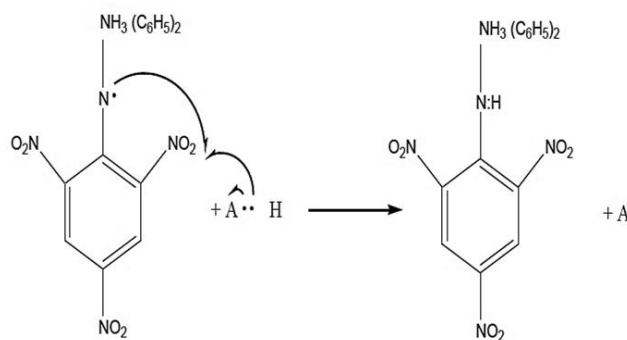
% Inhibisi	Pers. Regresi Linear	IC_{50} (ppm)	Keterangan
24,64788732	$y=2,3592+9,9296$	16,98474059	Sangat kuat
28,16901408			
33,09859155			
38,73239437			

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH.

Berdasarkan hasil pengukuran standar asam askorbat terhadap radikal bebas DPPH 0,4 mM dapat didapatkan nilai IC_{50} asam askorbat adalah 16,98474059 ppm. Hasil IC_{50} tersebut kurang dari 50 ppm yang menandakan bahwa asam askorbat memiliki antioksidan yang sangat kuat. Sesuai dengan referensi menurut Molyneux (2004), nilai sangat kuat $IC_{50} < 50$ ppm, kuat $50 < IC_{50} < 100$ ppm, sedang $100 < IC_{50} < 150$ ppm, lemah $150 \text{ ppm} < IC_{50} < 200$ ppm, dan sangat lemah $IC_{50} > 200$ ppm (Molyneux, 2004). Berdasarkan hasil IC_{50} asam askorbat makan dapat dinyatakan bahwa konsentrasi yang dibutuhkan oleh senyawa fenolik untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH sebesar 16,984 ppm.

Asam askorbat atau vitamin C dikenal sebagai sumber antioksidan yang sangat kuat, dapat mendonorkan atom hidrogen dan membentuk radikal bebas askorbil yang relatif stabil (Muchtady D, 2012).

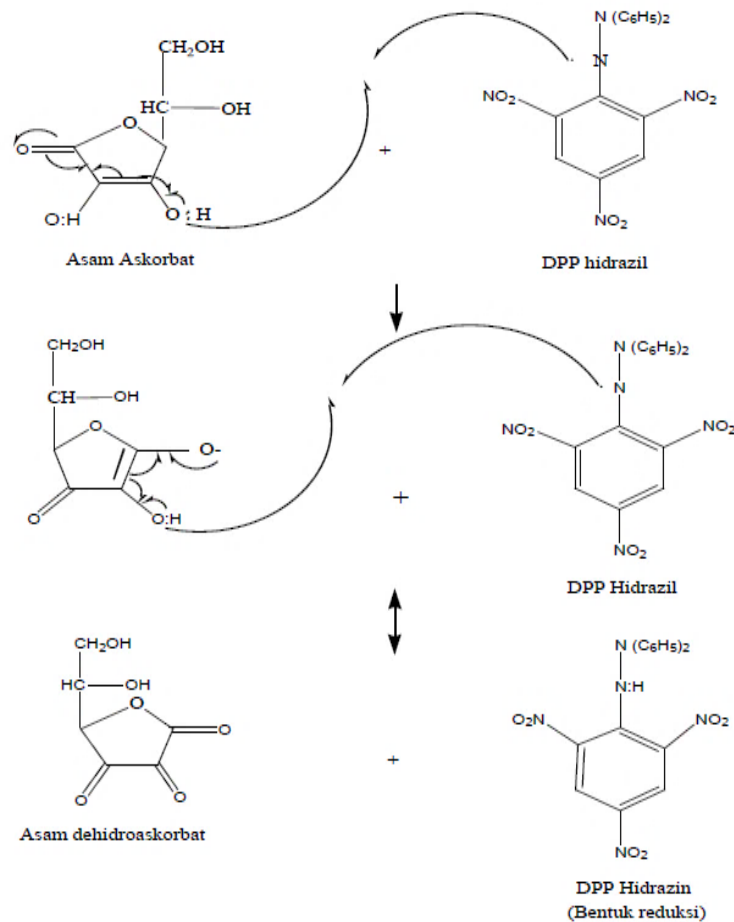
Senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH yang dapat diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika electron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas yang akan membentuk DPPH-H tereduksi (Molyneux, 2004) dengan mekanisme sebagai berikut:



Gambar 23. Reaksi penghambat radikal DPPH (Windono, 2001)

Terjadinya reaksi diatas maka radikal bebas DPPH akan membentuk senyawa bukan radikal yaitu DPP Hidrazin yang stabil (Windono, 2001). Vitamin C dapat langsung bereaksi dengan anion hidroksil dengan mendonorkan satu electron untuk membentuk senyawa semihidroaskorbat yang tidak bersifat reaktif dan selanjutnya mengalami reaksi disproporsionasi untuk membentuk dehidroaskorbat

yang bersifat tidak stabil. Dehidroaskorbat akan terdegradasi untuk membentuk asam oksalat dan asam treonat (Suhartono, dkk.,2007)



Gambar 24. Mekanisme reaksi yang terjadi antara vitamin C (asam askorbat) dengan DPPH (Chalison, 2008)

Vitamin C mudah mengalami oksidasi oleh radikal bebas karena mempunyai ikatan rangkap dan dengan adanya 2 gugus-OH yang terikat pada ikatan rangkap tersebut, radikal bebas akan mencabut atom hidrogen dan menyebabkan muatan negatif pada atom oksigen yang selanjutnya akan didelokalisasi melalui resonansi, sehingga menghasilkan radikal bebas yang stabil dan tidak membahayakan (Chalison, 2008)

Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak dedak yang mengandung senyawa fenolik. Ekstrak dedak dibuat variasi konsentrasinya sebesar 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm dan 20 ppm yang ditambahkan dengan DPPH 0,4 mM. Kemudian diukur absorbansi ekstrak dedak dengan Spektrofotometer Uv-vis pada

panjang gelombang 515 nm dan blanko adalah campuran DPPH dan metanol. Berikut hasil absorbansi ekstrak dedak:

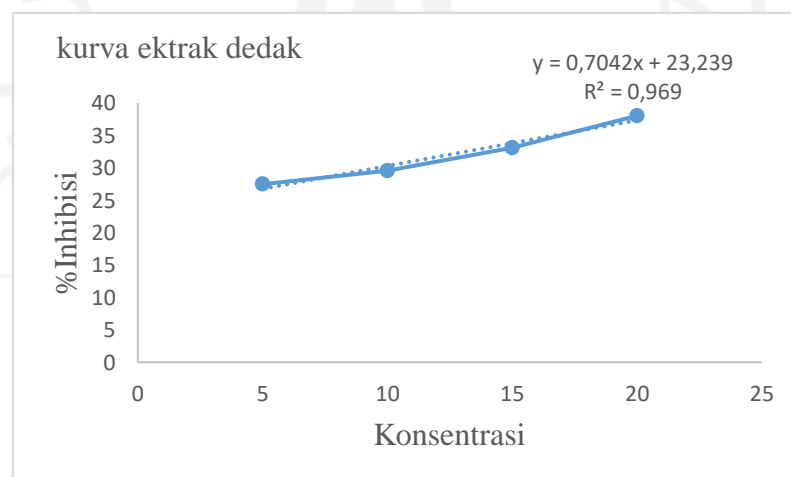
Tabel 11. Hasil Absorbansi ekstrak dedak

Konsentrasi (mg/L)	Absorbansi
5	0,103
10	0,100
15	0,095
20	0,088

Setelah diperoleh hasil absorbansi, ditentukan besarnya hambatan serapan radikal DPPH dan IC_{50} . Besarnya hambatan serapan radikal ditentukan melalui perhitungan persentase (%) inhibisi dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorban blanko} - \text{Absorban ekstrak dedak})}{\text{Absorban blanko}} \times 100 \%$$

Nilai IC_{50} masing-masing konsentrasi vitamin C (asam askorbat) dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Konsentrasi (IC_{50}) sebagai sumbu x dan % inhibisi (50) sebagai sumbu y, dari persamaan: $y = a + bx$. Berikut adalah hasil perhitungan Antioksidan sampel ekstrak dedak:



Gambar 25. kurva hubungan % inhibisi antioksidan terhadap konsentrasi ekstrak dedak

Tabel 12. Hasil perhitungan antioksidan sampel ekstrak dedak

%Pengikat DPPH	Pers.Regresi Linear	IC50 (ppm)	Keterangan
27,46478873	$y=0,7042x+23,239$	38,00198807	Sangat kuat
29,57746479			
33,09859155			
38,02816901			

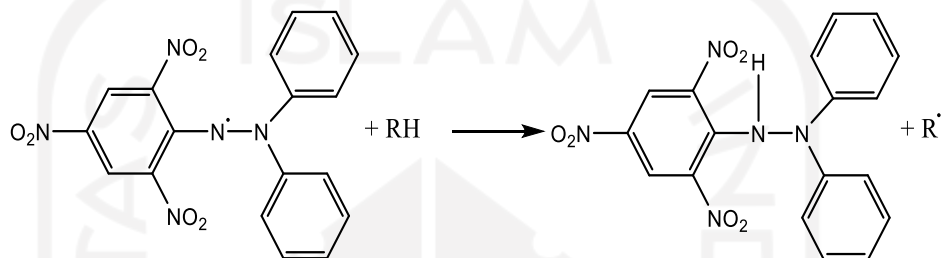
Berdasarkan hasil pengukuran sampel ekstrak dedak yang mengandung senyawa fenolik terhadap radikal bebas DPPH 0,4 mM dapat didapatkan nilai IC_{50} ekstrak dedak adalah 38,00198807 ppm Hasil IC_{50} tersebut kurang dari 50 ppm yang menandakan bahwa ekstrak dedak memiliki antioksidan yang sangat kuat. Berdasarkan hasil IC_{50} asam askorbat makan dapat dinyatakan bahwa konsentrasi yang dibutuhkan oleh senyawa fenolik untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH sebesar 38,001 ppm.

Dedak mengandung senyawa bioaktif seperti senyawa fenolik dan γ -oryzanol yang memiliki aktivitas antioksidan semakin tinggi konsentrasi ekstrak dedak maka partikel-partikel senyawa antioksidan yang terkandung (senyawa fenolik) akan semakin banyak sehingga semakin besar pula aktivitas antioksidannya dan menyebabkan absorbansinya semakin berkurang.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan asam askorbat dan sampel ekstrak dedak yang mengandung senyawa fenolik, asam askorbat memiliki IC_{50} 16,984 ppm sedangkan sampel ekstrak dedak yang mengandung senyawa fenolik memiliki IC_{50} 38,001 ppm, sehingga nilai IC_{50} asam askorbat (vitamin C) lebih rendah dibanding IC_{50} sampel ekstrak dedak (senyawa fenolik), Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan vitamin C (asam askorbat) Lebih kuat dibanding sampel ekstrak dedak (senyawa fenolik). Makin kecil harga IC_{50} menunjukkan makin besarnya kemampuan antioksidan suatu senyawa yang digunakan (Kristina, 2012).

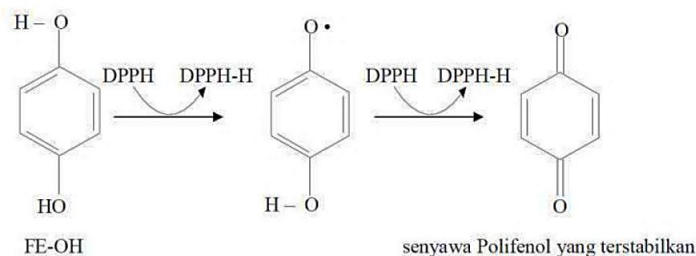
Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh senyawa antioksidan adalah melalui donasi atom hydrogen dimana terjadi rentang waktu masa inkubasi sampel yang bercampur dengan reagen DPPH selama 30 menit sehingga menyebabkan perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning (Hanani, dkk.,2005). Perubahan

warna tersebut disebabkan karena berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH karena adanya penangkapan satu elektron oleh senyawa antioksidan yang menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi dimana perubahan ini dapat diukur dan spektrofotometer ekstrak dedak yang memiliki aktivitas antioksidan. Proses reaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal DPPH terjadi melalui mekanisme donasi atom hydrogen (Purwangsih, 2012).

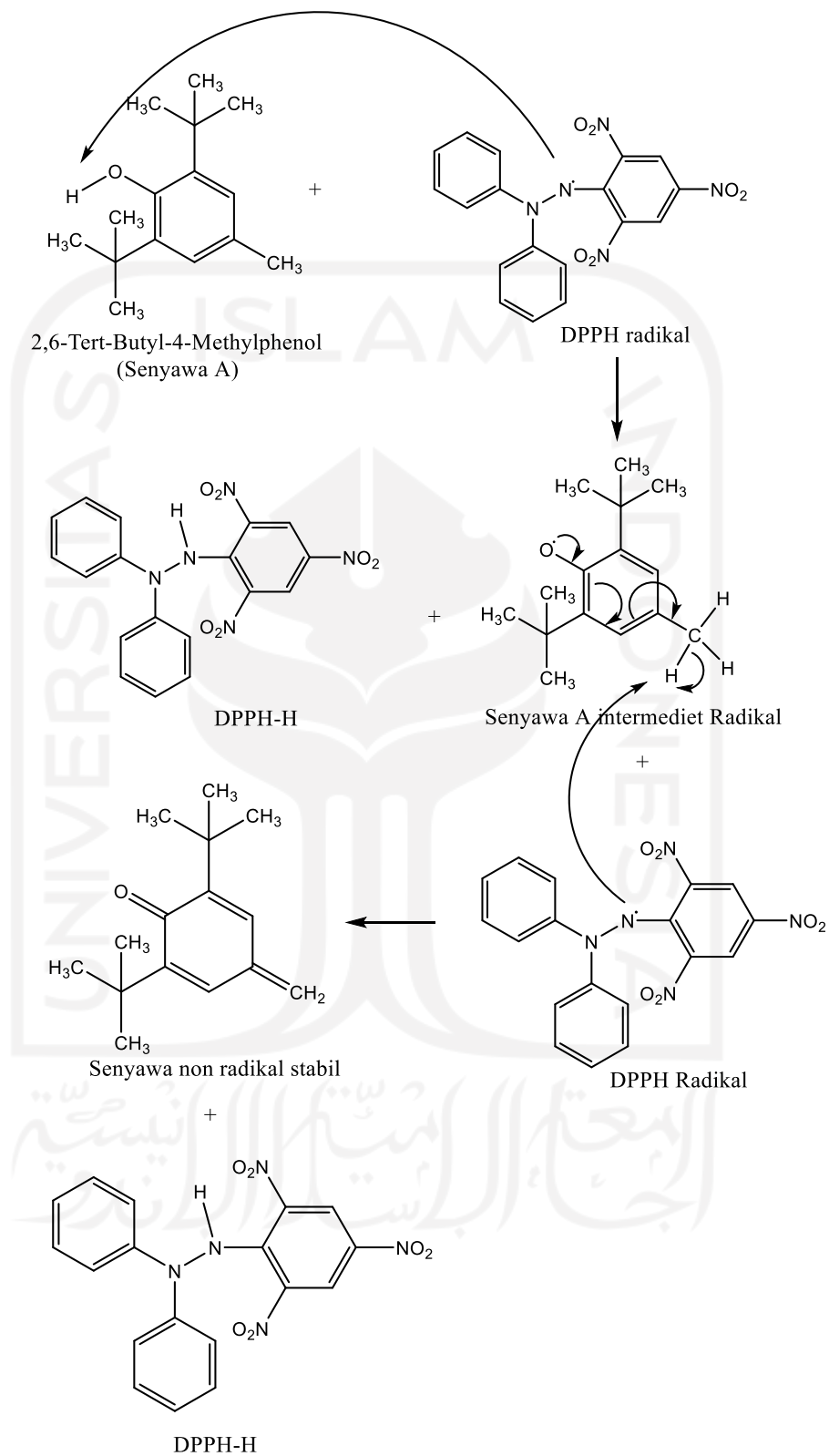


Gambar 26. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan

Apabila kandungan senyawa fenolik didalam sampel (ekstrak dedak) tinggi maka aktivitas antioksidannya juga akan tinggi, karena adanya inti aromatis pada senyawa fenolik dapat mereduksim fosfomolibdat fosfotungstat menjadi molybdenum (Sudjadi dan Rohman, 2012). Senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak dedak memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena pada strukturnya terdapat gugus hidroksil yang dapat mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas sehingga radikal senyawa fenolik dapat meredam radikal bebas.



Gambar 27. Mekanisme senyawa fenolik dalam meredam radikal bebas (Cholisoh,2008)



Gambar 28. Mekanisme reaksi senyawa 2,6-Tert-Butyl-4-Metifenol dengan DPPH

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Poses fermentasi dedak padi menggunakan variasi waktu fermentasi selama 2, 5 dan 7 hari dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* untuk mempercepat proses fermentasi.
2. Senyawa fenolik terkandung dalam dedak padi dianalisis dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS), dimana senyawa fenolik yang dihasilkan terdapat pada fermentasi hari ke-2 dengan nama senyawa 2,6-Tert-Butil-4-Metifenol
3. Penentuan senyawa aktivitas antioksidan dedak padi menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dimana aktivitas antioksidan asam askorbat sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 16,984 ppm dan ekstrak dedak padi yang mengandung senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 38,001 ppm.

6.2 Saran

Perlu dilakukan pemisahan dan pemurnian senyawa dalam ekstrak dedak padi untuk menghasilkan senyawa fenolik murni tanpa bercampur dengan senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam dedak padi. Fermentasi juga perlu penambahan variasi konsentrasi dan waktu untuk mendapatkan hasil fermentasi yang lebih optimal. Selain itu penentuan aktivitas antioksidan perlu dilakukan dengan menggunakan metode lain seperti dengan menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) untuk mendapatkah hasil yang lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adom, K.K., Liu, R.H., 2002, Antioxidant Activity of Grains, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6182-6187.
- Ahmad, R. Z. 2005. Pemanfaatan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* untuk Ternak, *Jurnal Wartazoa*, 15, 1, 49-55.
- Akita, O. 1999. Analysis of Pyruvate Transport In *Saccharomyces cerevisiae* and Cloning the Gene Encoded Pyruvate Permease. International Conference on Asian Network on Mikrobial Reserch, dalam Gandjar dan Sjamsuridzal. 2006. *Mikologi Dasar Dan Terapan*. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta.
- Ali, Najmah, Agustina, Dahniar, 2019, Pemberian Dedak Yang Difermentasi dengan Em4 Sebagai Pakan Ayam Broiler Agrovital, *Jurnal Ilmu Pertanian*, Volume 4, Nomor 1.
- Amaria, Isnawati, Rini dan Tukiran, 2001, Biomassa *Saccharomyces cerevisiae* dari limbah buah dan sayur sebagai sumber vitamin B, *Himpunan Makalah Seminar Nasional Teknologi Pangan*, 138-150.
- Amorati, R., Pedulli, G., Gabrini L, Zambonin, L., Landi, L., 2006, Solvent and pH Effects on the Antioxidant Activity of Caffeic and Other Phenolic Acids, *J. Agric. Food Chem.*, 54, 8, 2932-2937.
- Anwar, K., Rahmanto, B., Triyasmono, L., Rizki, M. I., Halwany, W & Lestari, F., 2017, The Influence of Leaf Age on Total Phenolic, Flavonoids, and Free Radical Scavenging Capacity of *Aquilaria beccariana*, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 8(1S), 129-133.
- Armaleni, Nasril N., Anthoni A., 2019, Antagonis *Pseudomonas fluorescens* indogenous terhadap *Ralstonia solanacearum* pada Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum*), *Jurnal Metamorfoso*, 6 (1): 119-122.
- Ariyanti, Vera N., Supriharyono, Niniek W., 2016, Hubungan Kerapatan Lamun dengan Kelimpahan Bakteri Heterotrof di Perairan Pantai Kartini Kabupten Jepara, *Diponegoro Journal of Maquares*, Volume 5, Nomor 4, Halaman: 142-149.

- Astawan, M. dan Leomitro., 2009, *Khasiat Whole Grain: Makanan Kaya Serat untuk Hidup Sehat*, Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Belitz, H.D., 1984, *Food Chemistry*, Springer Verlag, New York.
- Benson, Harold J., 2002, *Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology*, McGraw-Hill, New York.
- Berghofer, E., Grzesjowiak, B., Mundigler, N., Sental, W.B., Walczak, J., 1998, Antioksidative Properties of Faba Bean Soybean and Oat Tempeh, *Internasional Journal of food and Nutrition*, 49, 45-54.
- Bhanja, T., Kumari, A., Banerjee, R., 2009, Enrichment of Phenolic and Free Radical Scavenging Property of Wheat Koji Prepared with Two Filamentous Fungi, *Biores. Technol*, 100, 2861–2866.
- Blois, M.S., 1958, Antioxidant Determination by The Use of A Stable Free Radical, *Nature*, 181, 1199-1200.
- Brown, A, 2000, *Understanding Food : Principles and Preparation*, Wadsworth Thomson Learning, USA.
- Bruneton, J., 1999, *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Medicales*, diterjemahkan oleh Hatton, C.K, Lavosie Publishing.
- Buckle, K.A., 1987, *Ilmu Pangan*, UI Press, Jakarta.
- Buck , D.F., 1991, *Antioxidants*, didalam: J. Smith, editor. Food Additive User's Handbook. Blackie Academic & Profesional, Glasgow-UK.
- Camacho, Ruiz L., Pérez-Guerra N, Roses R.P., 2003, Factors Affecting the Growth of *Saccharomyces cerevisiae* in Batch Culture and in Iolid State Fermentation, *Electron J Environ Agric Food Chem*, 2(5): 531-542.
- Cappuccino, James G., Sherman, Natalie, 2013, *Manual Laboratorium Biologi*, EGC, Jakarta.
- Cholisoh, Zakky dan Wahyu U., 2008, Antiradical Activity of Ethanolic (70%) Stinky Bean (*Archidendron jiringa*) Extract, *Pharmacon*, Vol. 9, No.1:33–40.
- Darmono, 1995, *Logam dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup*, UI Press, Jakarta
- Deny, S. 2008. Pengaruh Dedak Padi dalam Ransum Ayam Lokal yang Diberi Air Minum Mengandung Cemarkan Kadmium Terhadap Performans. *Jurnal Ilmu Ternak*, Vol. 8, No. 1.

- Dewi, R., Nursanty, R., Yulvizar, C., 2011, The Effect of Storage Time on Total of Fungsi in Kanji Pedah, *Jurnal Natural*, Vol 11, No.2
- Dehpour, A.A., Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., 2009, Antioxidant Activity of Methanol Extract of Ferula Assafoetida and its Essential Oil Composition, *Grasas Aceites*, 60 (4), 405-412.
- Drozd, J., 1985, Chemical Derivatization in Gas Chromatography, *Journal of Chromatography Library*, 19.
- Dwidjoseputro, D., 1994, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Jakarta.
- Fardiaz, Srikandi, 1992, *Mikrobiologi Pangan*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S., 1995, Kimia Organik, Jilid I, diterjemahkan oleh Pudjaatmaka, A.H., edisi ketiga, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Garg, N., Abdel-Aziz, S.M., & Aeron, A., 2016, *Microbes in Food and Health*, Springer, Switzerland .
- Ghosh, D., dan Konishi, T., 2007, Anthocyanins and Anthocyanin-Rich Extract : Role in Diabetes and Eye Function, *Asia Pac, J. Clin Nutr*, 16 (2), 200-208.
- Goffman, F.D., 2003, Genetic diversity for Lipid Content and Fatty Acid Profile in Rice Bran, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80, 485-490.
- Gordon, M.H., 1990, *The Mechanism of Antioxidants Action In Vitro*, di dalam: B.J.F. Hudson, editor. Food Antioxidants. Elsevier Applied Science, London.
- Grist, D.H., 1972, *Rice. 4th Ed.*, Lowe and Brydine Ltd, London.
- Graft Ernst, 1992, Antioxidant Potential of Ferulic Acid, *Free Radical Biology and Medicine*, Vol. 13, No. 4, 435-448.
- Godoy, G. M., Graziella M. A., Maysa S. B., Denise M.G., Freire, 2018. *Agricultural Residues as Animal Feed: Protein Enrichment and Detoxification Using Solid-State Fermentation*, Federal University of Rio de Janeiro, Brazil.
- Hadioetomo, 1990, *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*, Gramedia, Jakarta.

- Hadipernata, 2007, Mengolah Dedak Menjadi Minyak (*rice bran oil*), *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 29(4): 8-10.
- Hanani, E., Mun'im, A. & Sekarini, R., 2005, Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons *Callyspongia* sp dari Kepulauan Seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II, No.3, 127 - 133.
- Hapsari, Rezka P., Fikri Y.A , Zullaikah S., Rachimoellah H.M, 2013, Isolasi dan Karakterisasi *Oryzanol* dari Minyak Dedak Padi, *Jurnal Teknik Pomits*, Vol. 1. No.1, 1-7.
- Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, ITB, Bandung.
- Hardianto, Muhibuddin, A., Sektiono, A.W., 2018, Optimalisasi Fosfat untuk Meningkatkan Pertumbuhan Kerapatan Populasi dan Kemampuan antagonis *Saccharomyces cereviceae* terhadap *Fusarium* sp., *Jurnal Sains dan Teknologi*, Volume 10, No 2.
- Hartanto T. 2010. Efektivitas Jamur *Beauveria Bassiana* Dalam Mengendalikan Uret (*Phylloghaga Helleri*) Pada Padi Gogo (*Oryza Sativa L.*). Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Hegde, S., Kavitha, S., Varadaraj, M. C., & Muralikrishna, G. 2006. Degradation of Cereal Bran Polysaccharidephenolic Acid Complexes by *Aspergillus Niger* CFR 1105. *Journal of Food Chemistry*. 96: 14-19.
- Himawati, E.R., 2001, Antioksidan dan Peredam Radikla Bebas Biologis, *Majalah Farmasi Indonesia*, 12 (1), 55-60.
- Holland, C., Peter, R., Cathrina, H. E, and Myriam M.L., 2020, Plant Cell Walls: Impact on Nutrient Bioaccessibility and Digestibility, *Foods*, 9, 201.
- Indrawati, Ni Luh., Razimin., 2013, *Bawang Dayak : Si Umbi Ajaib Penakluk Aneka Penyakit*. PT AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Isnawati dan Mahanani T.S., 2003, Pemanfaatan Limbah Pertanian Untuk Produksi Miselium *Beauveria bassiana*, *Laporan Penelitian. Lembaga Penelitian Unesa*. Surabaya.
- Iqbal S., Bhangar M.I., Anwar F., 2005, Antioxidant Properties and components of Some Commercially Available Varieties of Rice Bran in Pakistan, *Food Chem*. 93, 265–272.

- Janeiro, P., dan Brett, A., 2004, Cathecin Electrochemical Oxidation Mechanism, *Anal, Chim, Acta*, 58, 109-115.
- Judoamidjojo, R.M., E.G. Sa'id, dan L.Hartoto., 1989, Biokonversi, Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Dirjen Dikti, Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Junnu S., Soi-Ampornkul R., Kanyok S, Liammongkolkul S, Katanyoo W, Umpornsirirat S., 2012. *Antioxidative and Neuroprotective Activities of the Pre-germinated Brown Rice Extract Food and Nutrition Sciences*, 3, 135-140
- Jutono, 1980, *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*, Fakultas pertanian UGM, Yogyakarta.
- Kahlon, T. S., 2009, Rice Bran: Production, Composition, Functionality and Food Applications, Physiological Benefits. In *Fiber Ingredients: Food Applications and Health Benefits*; Cho, S. S., Samuel, P., Eds.; Taylor and Francis Group, LLC: Boca Raton. pp 305 21.
- Kavanagh, K., 2005, *Fungi Biology and Application*, John Willey & Sons Ltd, England.
- Kim HY, Kim JH, Yang SB, Hong SG, Lee SA, Hwang SJ, Shin KS, Suh HJ, Park MH, 2007, A Polysaccharide Extracted from Rice Bran Fermented With *Lentinus Edodes* Enhances Natural Killer Cell Activity and Exhibits Anticancer Effects, *Journal of Medicine Food*. 10: 25-31.
- Kuncahyo, I., dan Sunardi, 2007, Uji Aktivitas Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averhoa bilimbi, L.*) terhadap DPPH, *SNT*, 1-9.
- Lai, Y.H., Lim Y.Y., 2011, *Evaluation of Antioxidant Activities of the Methanolic Extract of Selected Ferns in Malaysia*. IPCBEE 20.
- Madhavi, D. L., Deshpande, S.S., dan Salunkhe, D.K., 1996, *Introduction Food Antioxidant: Technological, Toxicological, and Health Perspectives*, Marcel Dekker, Inc, New York.
- Merisa, Yunita, Yusuf H., Rini Y., 2015, Analisis Kuantitatif Mikrobiologi pada Makanan Penerbangan (Aerofood ACS) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (Total Plate Count) Dengan Metode Pour Plate, *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, Vol. 3, No. 3, 237-248.

- Muchtady D. 2012. *Pangan Fungsional dan Senyawa Bioaktif*. Alfabeta. Bandung
- Muchtadi, Tien R., Ayustaningwarno, F., 2010, *Teknologi Proses Pengolahan Pangan*, Alfabeta, Bandung.
- Mulja, M., dan Suharman, 1995, *Analisis Instrumental*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Mulyana, Hadipernata, 2007, Mengolah Dedak Menjadi Minyak (Rice Bran Oil), *Warna Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, volume 29, No.4.
- Muin, R., Italiana H., Ahmad F., 2015, Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Enzim Terhadap Kadar Bioetanol dalam Proses Fermentasi Nasi Aking Sebagai Substrat Organik, *Jurnal Teknik Kimia*, No.3, Vol.21.
- Molyneux, P., 2004, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazil (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity, *J. Sci. Technol.*, 26(2), 211–219.
- Neldawati, Ratnawulan, & Gusnedi, 2013, Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat, *Pillar of Physics 2*, 76-83.
- Norazalina, S., Norhaizan, M.E, Hairuszah, I., Norashareena, M.S., 2010, Anticarcinogenic Efficacy of Phytic Acid Extracted from Rice Bran on Azoxymethane-induced Colon Carcinogenesis in Rats, *Journal of Toxicology Pathology*, 62, 259-68.
- Oliveira C, Bernardo RT, 2009, Capelozza ALA. Mandibular Condyle Morphology on Panoramic Radiographs of Asymptomatic Temporomandibular Joints, *Int J Dent*, 8 (3): 114-8.
- Oliveira, M. S., Eliane, P. C., Eliana, B. F., dan Leonor, S. S., 2012, Phenolic Compound and Antioxidant Activity in Fermented Rice (*Oryza sativa*) Bran. *Cience Tecnol Aliment*, 32(3): 531–537.
- Oliveira, M. S., Kupski, L., Feddern, V., Cipolatti, E., Badiale- Furlong, E., & Souza- Soares, L. A., 2010, Physicochemical Characterization of Fermented Rice Bran Biomass. *Journal of Food*. 8: 236-269.

- Osawa, T., H. Katsuzaki, Y. Hagiwara & T. Shibamoto, 1992, A Novel Antioxidant Isolated from Young Green Barley Leaves. *Journal Agriculture Food Chemistry*, (40): 1135-1138.
- Permatasari, T., Sumarlan, S., dan Susilo., 2013, Uji Pembuatan Marning Jagung Dengan Menggunakan Autoclave, *Jurnal Keteknian Pertanian Tropis dan Biosistem*, 1(1): 69-75.
- Poedjiadi, A., 1994, *Dasar-dasar Biokimia*, Universitas Indonesia-Press, Jakarta
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., dan Gordon, M., 2001, *Antioxidant in Food; Practical Applications*, Wood Publishing Limited, Cambrodge, England.
- Pourali , Asghari F.S., Yoshida H., 2009, *Sub-critical Water Treatment of Rice Bra to Produce Valuable Materials Food Chemistry*, 115 1-7.
- Prakash, A., 2001, Antioxidant Activity, *Heart of Giant Recource*, 19(2): 1-4
- Pratt, D.E dan Hudson, B.J.F., 1990, *Natural Antioxidant Not Exploited Commercially*, di dalam Food antioxidant, Hudson, B.J.F (ed) Elsevier Applied science, London.
- Proestos, C., Sereli, D., dan Komaitis, M., 2006, Determination of Phenolic Compounds in Aromatic Plants by RP-HPLC and GC-MS, *J. Food Sci*, 95, 44-52.
- Purwaningsih,S., 2012, Aktivitas Antioksidan dan Komposisi Kimia Keong Matah Merah (*Cerithidea obtusa*) (Antioxidant Activity and Nutrient Composition of Matah Merah Snail (*Cerithidea obtusa*)), *Indonesian Journal of Marine Sciences*, vol. 17, no. 1.
- Purwoko, T., 2009, *Fisiologi Mikroba*, Bumi Aksara, Jakarta.
- Putrawan, I.D.G.A., dan T.H.Soerawidjaja. 2007. Stabilisasi Dedak Padi Melalui Pemasakan Ekstrusif. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*. 6 (3), 681- 688.
- Putri, Mahasari, G.P. Ganda, P., dan Arnata, W., 2016, Pengaruh Penambahan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dan Lama Fermentasi terhadap Karakteristik Cuka Fermentasi dari Cairan Pulpa Hasil Samping Fermentasi Biji Kakao (*Theobrama Cacao L.*), *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, Vol. 4. No. 3.

- Rachmawati¹, N., Fatchul A. N., Bambang D. W., 2019, Pengaruh Waktu Fermentasi dan Penambahan Konsentrasi Inokulum (*Acetobacter* (IJHS) *Indonesian Journal of Halal science*, Vol.001, No.01.
- Rahmawati, A. Muflihunna, LaOde M. S., 2015, Analisis Aktivitas Antioksidan Produk Sirup Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Dengan Metode, *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol. 2 No.2.
- Rashid, N.Y.A., Razak, D.L.A., Jamaluddin, A., Sharifuddin, S.A., Long, Kamariah, 2015, Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Rice Bran Fermented with Lactic Acid Bacteria, *Jornal of Functional Food*, 11, 2, 156-162.
- Rasyaf, M., 1994, *Makanan Ayam Broiler*, Kanisius, Yogyakarta.
- Rathna, Priya T. S., Nelson, A.R., Ravichandran, K. dan Antony, U., 2019, Nutritional and Functional Properties of Coloured Rice Varieties of South India: A Review, *Journal of Ethnic Foods*, 6:11.
- Reynertson, K. A., 2007, *Phytochemical Analysis of Bioactive Constituents from Edible Myrtaceae Fruit*, The City University of New York, New York.
- Robinson, T., 1983, *The Organic Constituents of Higher Plants Their Chemistry and Interrelationships*, 5th Ed., 200, Cordus Press., North Amherst.
- Robinson, T., & Nigam, P., 2003, Bioreactor Design for Protein Enrichment of Agricultural Residues by Solid State Fermentation, *Biochemical Engineering Journal*, 13:197-203.
- Rosahdi, T.D., Yuli S., dan Dede S., 2015, Uji Aktivitas Daya Antioksidan Biopigmen Pada Fraksi Aseton Dari Mikroalga *Chlorella Vulgaris*, *Jurnal Istek*, Volume IX No. 1.
- Sami, F.J., Rahimah S., 2015, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga Brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) dengan metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat), *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, Vol. 2 No.2.

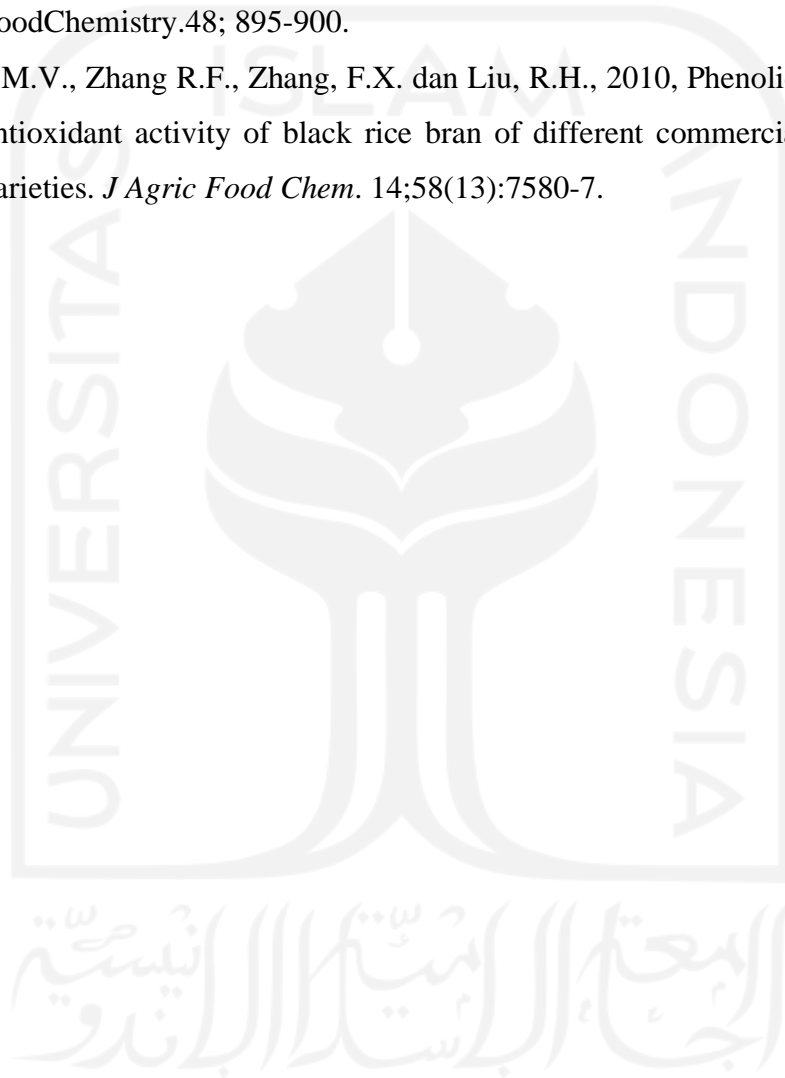
- Sassner, P., C.G. Martensson, M. Galbe, and G. Zacchi, 2008, Steam Pretreatment of H₂SO₄-Impregnated Salix for Production of bioethanol, *J. Bioresource Technol*, 99: 137-145.
- Schmidt, Cristiano G., 2014, *Antioxidant Activity and Enzyme Inhibition Of Phenolic Acids from Fermented Rice Bran with Fungus Rizhopus Oryzae*. 146: 371-372.
- Soeharsono, 2010, Probiotik. *Basis Ilmiah, Aplikasi, dan Aspek Praktis*. Widya Padjadjaran, Bandung.
- Soeksmanto, A., Hapsari, Y., & Simanjuntak, P., 2007, Kandungan Antioksidan pada Beberapa Bagian Tanaman Mahkota Dewa (*Phaleria macrocrpa*), *Biodiversitas*, 8: 92–95.
- Souhoka, Fensia A., Nikmans H., Marsye H., 2019, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*), *Indo. J. Chem. Res*, 7(1), 25-31.
- Sparkman, O.D., Penton, Z., Fulton, G., 2011, *Gas chromatography and mass spectrometry : a practical guide*, Elsevier.
- Stefanus, L., 2006, *Formulasi Steril*, Andi, Indonesia.
- Suhartati, Tati, 2017, *Dasar-Dasar Spektrofotometri Uv-Vis dan Spektrometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*, Penerbit CV. Anugrah Utama Raharja, Bandar Lampung.
- Sukoco, Shagita N., 2010, *Aplikasi Saccharomyces cereviceae, Pichia ohmeri dan Glucanobacter thailandicus Dalam Bentuk Sel Bebas dan Termobilisasi Gel Alginas Untuk Produksi Arabitol dan Xylitol Nir Tebu*, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FTP UNEJ, Jember
- Sulistiyowati, Cahyono, B., dan Swastawati, F., 2013, Penentuan Total Senyawa Fenolat dan Aktivitas Antioksidan pada Asap Cair Ampas Tebu dan Kulit Tebu (*Sacharum officinarum*) serta Identifikasi Komponen penyusunnya, *Chem. Info*, 1 (1), 362-369.
- Supardi, I., 1999, *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*, Alumni, Bandung.

- Sutton, S., 2011, Measurement of Microbial Cells by Optical Density, *Journal of Validation Technology*, 17: 46-49.
- Tille, P. M., 2017, Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. In *Basic Medical Microbiology (fourteenth, p. 45)*, Elsevier, St. Louis Missouri.
- Togo, H., 2004, *Advanced Free Radical Reactions for Organic Synthesis*, Chiba, Japan.
- Ukoha, P.O., Cemaluk, E.A.C., Nnamdi, O.L & Madus, E.P., 2011, Tannins and other Phytochemical of the Samanea Saman Pods and their Antimicrobial Activities, *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 5(8), 237-244
- Vermerris, W. And Nicholson R., 2006, *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer, Dordrecht.
- Wasteson, Y, and Hornes, E., 2009, Pathogenic Escherichia Coli Found in Food, *International Journal of Food Microbiology*, 12, 103-114.
- Wang, Mingyu, Zhonghai L., Xu F., Lushan W. and Yinbo Q., 2012, Cellulolytic Enzyme Production and Enzymatic Hydrolysis for Second-Generation Bioethanol Production, *Adv Biochem Engin/Biotechnol*, 128: 1–24.
- Windono, T., 2001, Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1, 1-Diphenyl-2-picrylhidrazil (DPPH) dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (vitis vinifera) Probolinggo biru dan Bali, *Artikel Hasil Penelitian, Artocarpus*, Vol I no.1: 34–43.
- Wulandari, Mita, Erma, 2010, Pengaruh Penambahan Bekatul Terhadap Kadar Protein dan Sifat Organoleptik Biskuit, *Jurnal Pangan dan Gizi*, Vol 01, No. 02.
- Winarno, F. G., 1997, *Kimia Pangan dan Gizi*, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Winarno, F, G, S. Fardiaz, 1979, *Biofermentasi dan Biosintesa Protein*, Angkasa, Bandung.
- Wiratmaja, I. G., Kusuma, I. G. B. W. dan Winaya, I. N. S, 2011, Pembuatan Etanol Generasi Kedua Dengan Memanfaatkan Limbah Rumput Laut *Euचेuma Cottonii* Sebagai Bahan Baku, *Jurnal Ilmiah Teknik Mesin*, 75-84.
- Xu, Z., Hua, N., Godber, J.S., 2001, Antioxidant Activity of Tocopherols Tocotrienols, and *Gamma-oryzanol* Components from Rice Bran Against

Cholesterol Oxidation Accelerated by 2,20-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride, *J. Agric. Food Chem.*, 49, 2077–2081.

Zheng, Z., Shetty, K., 2000. Solid state bioconversion of phenolics from cranberry pomace and role of *Lentinus edodes* glucosidase, *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 48; 895-900.

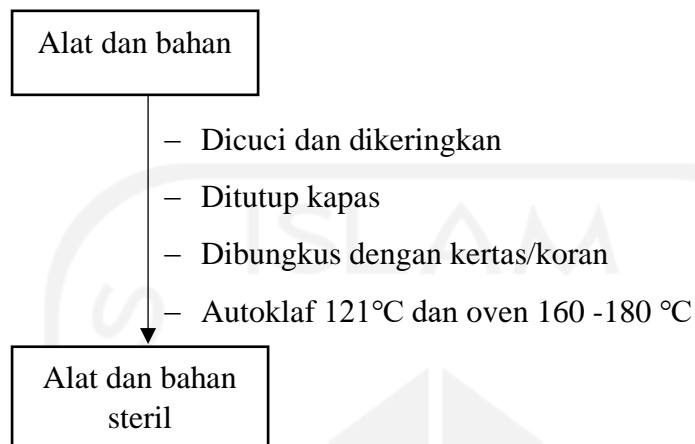
Zhang, M.V., Zhang R.F., Zhang, F.X. dan Liu, R.H., 2010, Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties. *J Agric Food Chem*. 14;58(13):7580-7.



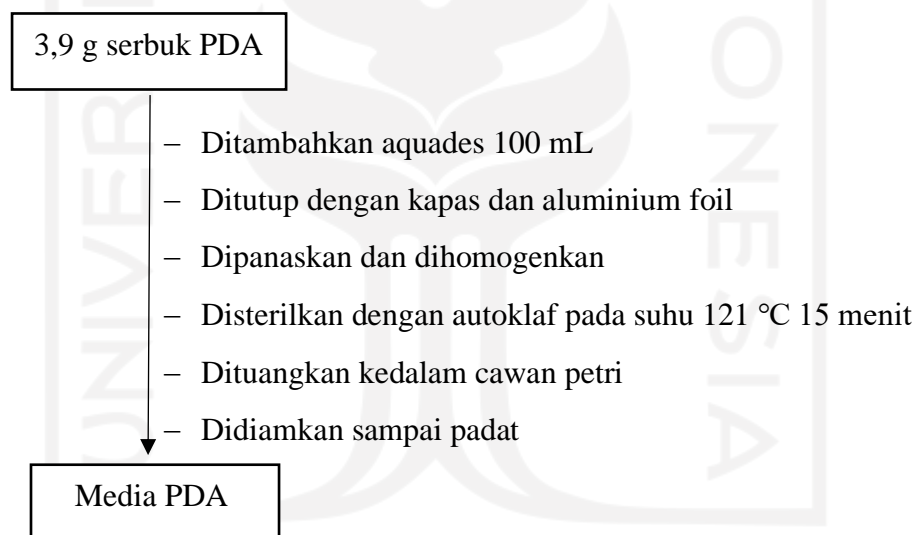


Lampiran 1. Prosedur Kerja

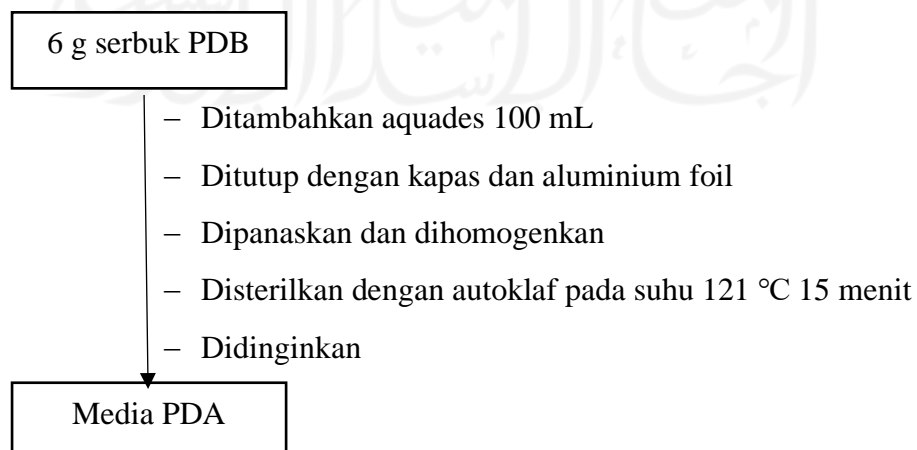
1.1 Sterilisasi



1.2 Pembuatan Media PDA



1.3 Pembuatan Media PDB



1.4 Isolasi *Saccharomyces cerevisiae*

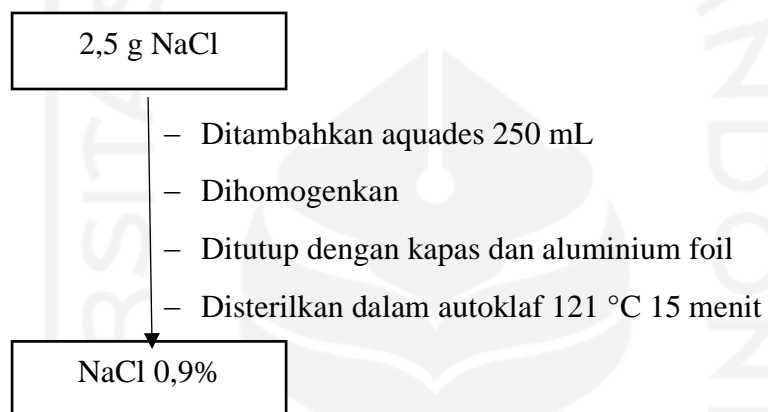
1.4.1 Pembuatan larutan fisiologis (NaCl 0,9%)

$$\% \left(\frac{b}{v} \right) NaCl = \frac{\text{massa NaCl}}{\text{Volume}} \times 100\%$$

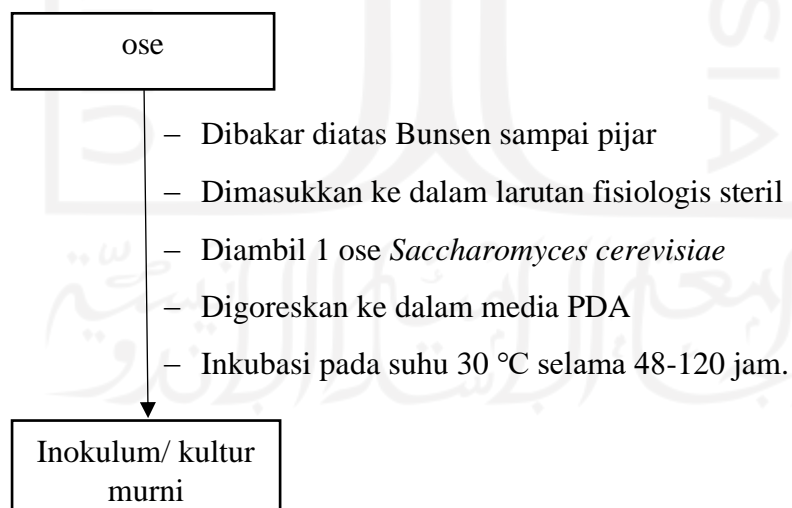
$$NaCl \text{ 0,9\%} = \frac{\text{massa NaCl}}{250 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$\text{massa NaCl} = \frac{0,9\% \times 250 \text{ mL}}{100\%}$$

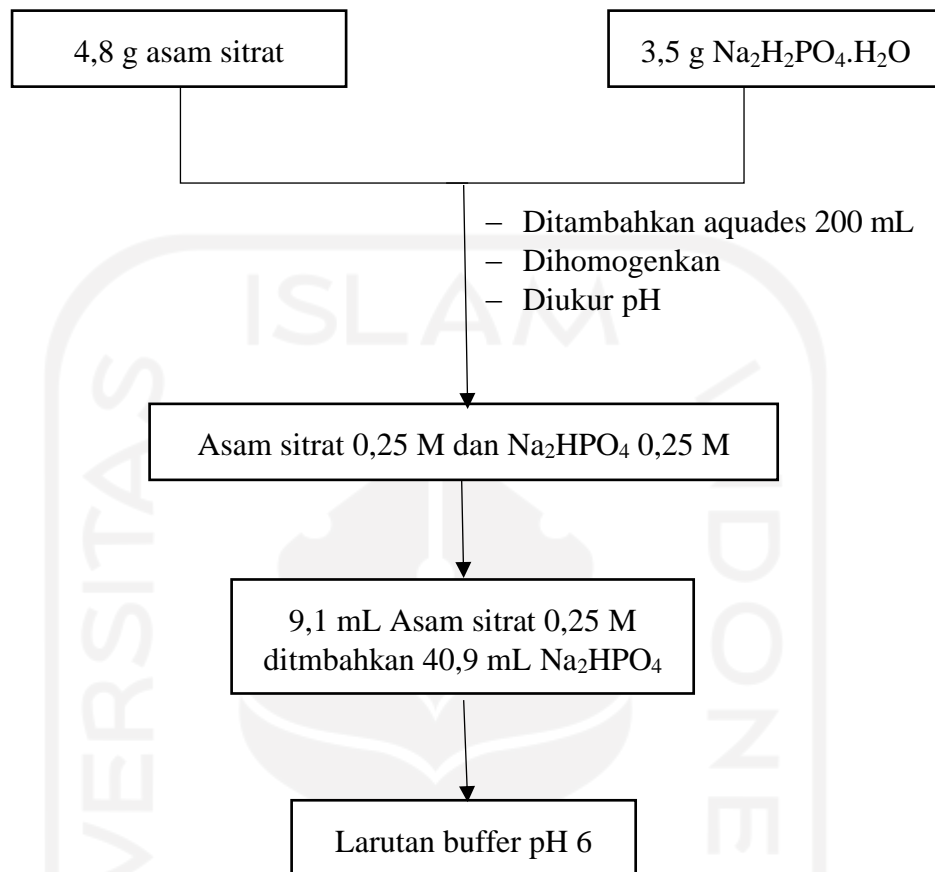
$$\text{massa NaCl} = 2,25 \text{ g}$$



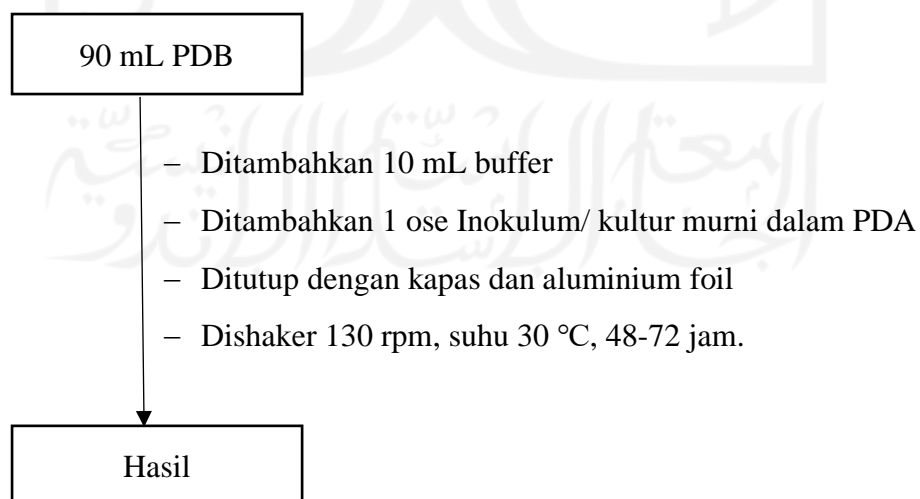
1.4.2 Pembuatan Inokulum *Saccharomyces cerevisiae*



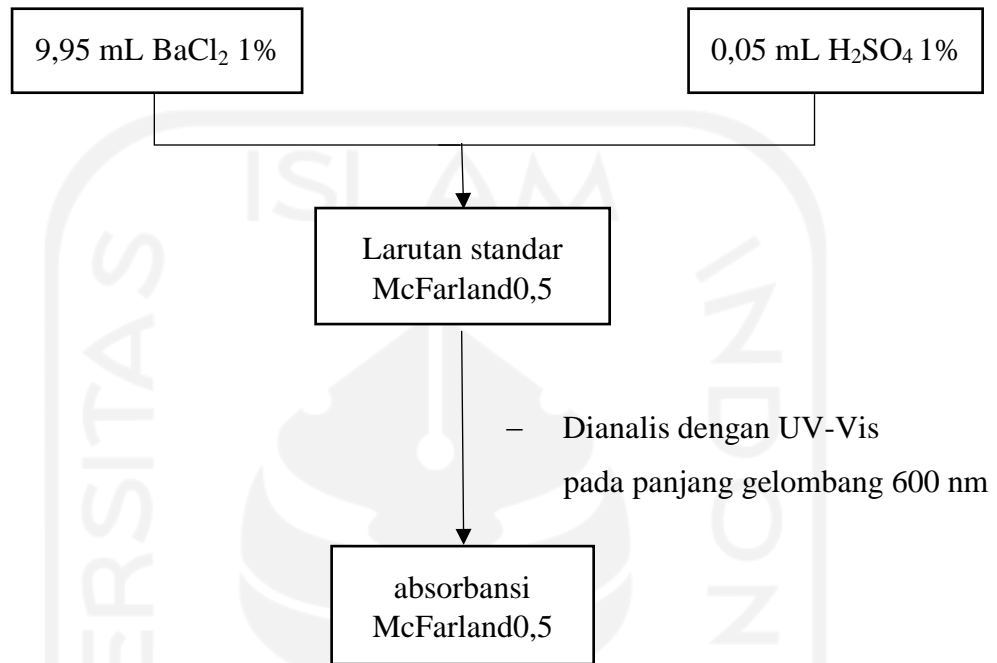
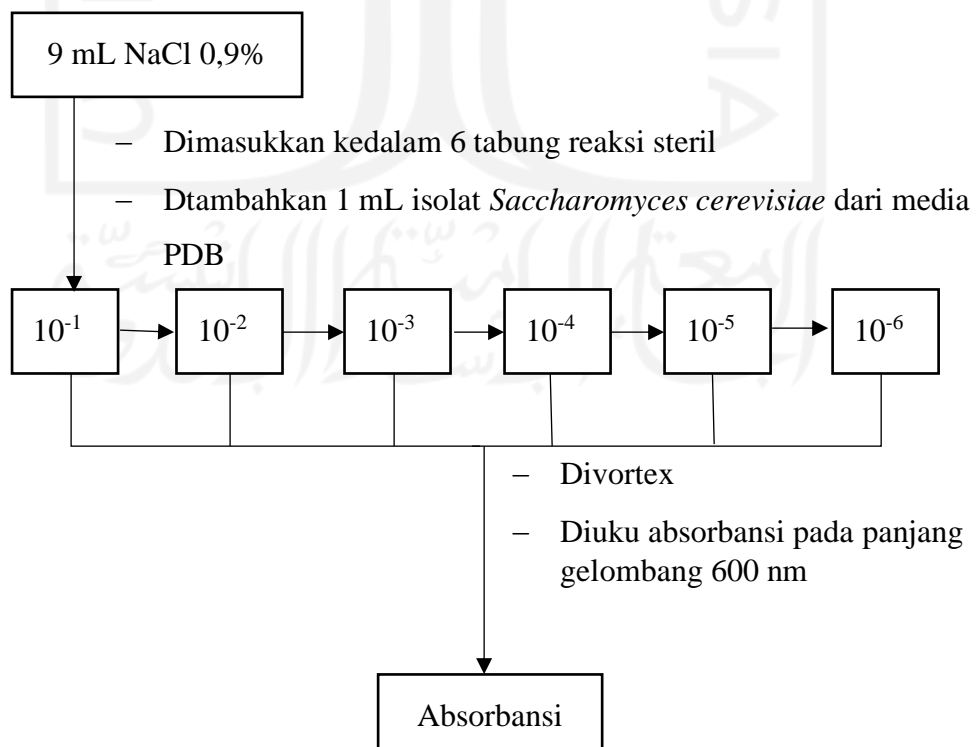
1.4.3 Pembuatan Larutan Buffer pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*



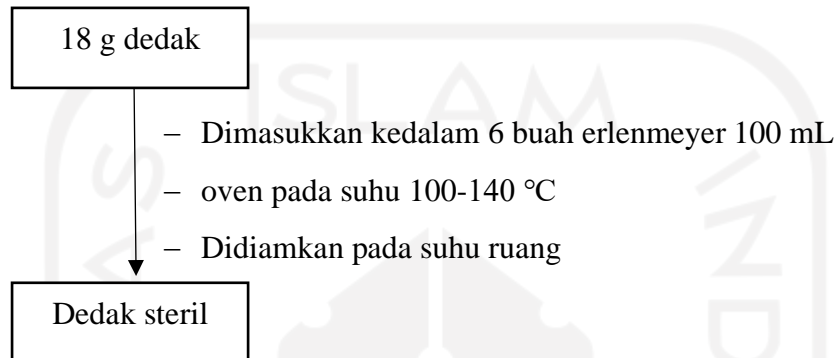
1.4.4 Pembuatan Starter



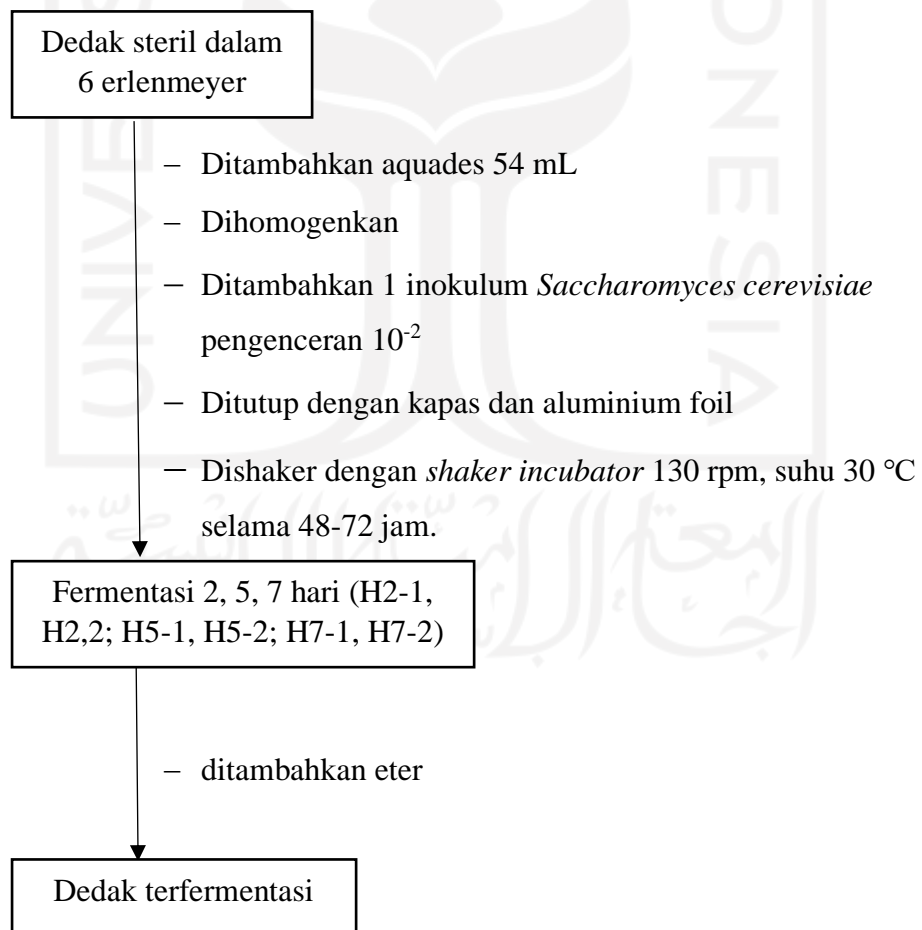
1.4.5 Pembuatan McFarland 0,5

1.4.6 Inokulasi *Saccharomyces cerevisiae* (Pengenceran)

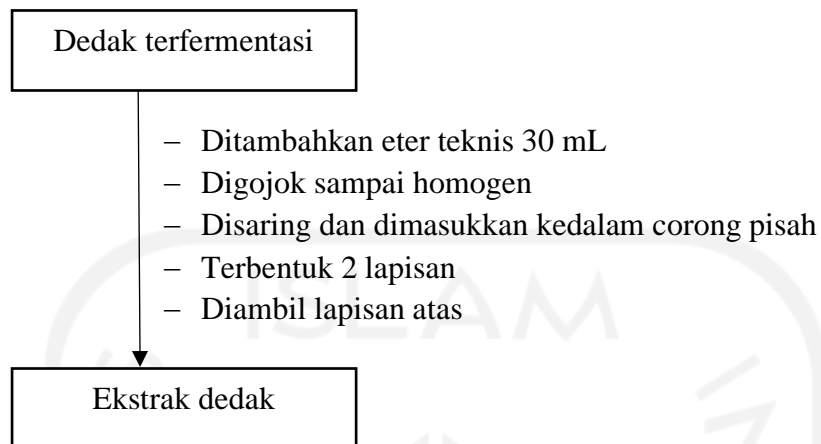
1.5 Preparasi sampel



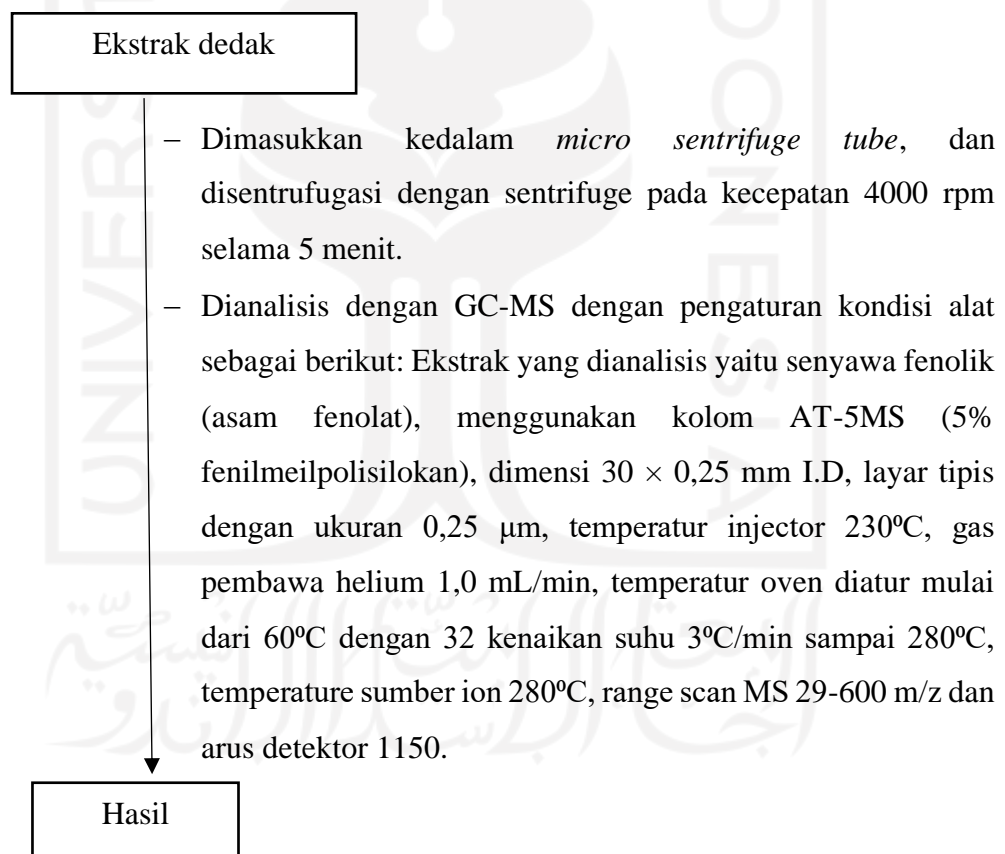
1.6 Fermentasi dedak



1.7 Ekstraksi Dedak Terfermentasi

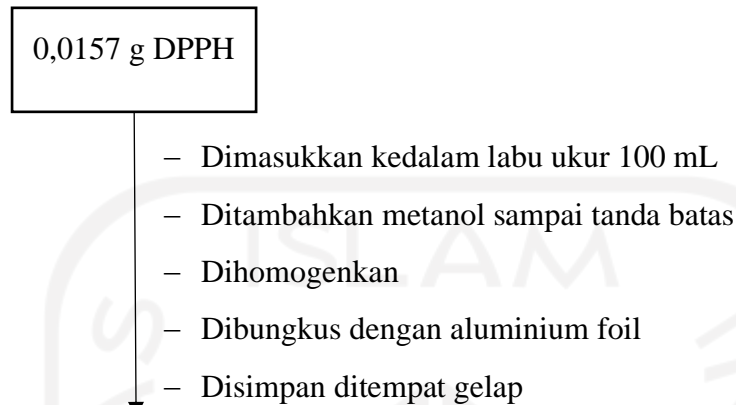


1.8 Identifikasi Senyawa dengan GC-MS



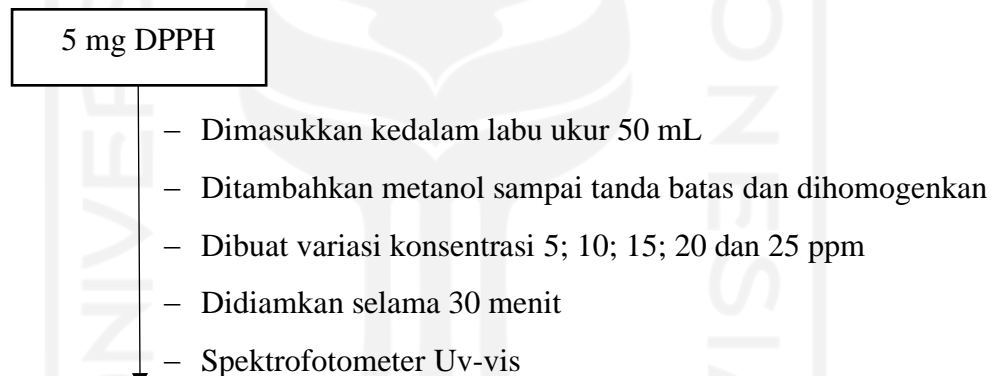
1.9 Uji aktivitas antioksidan

1.9.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 Mm



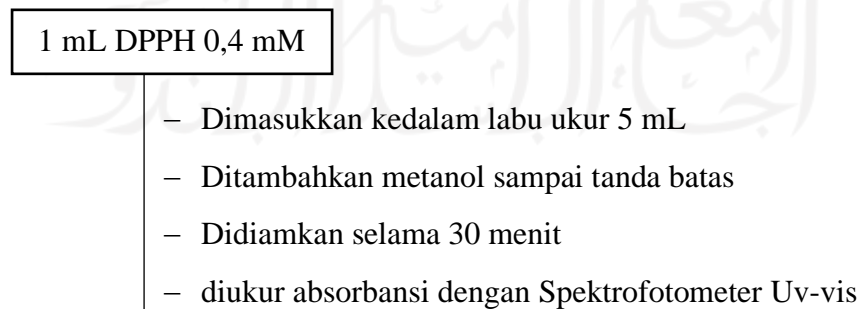
DPPH 0,4 Mm

1.9.2 Pembuatan Kurva Standar DPPH



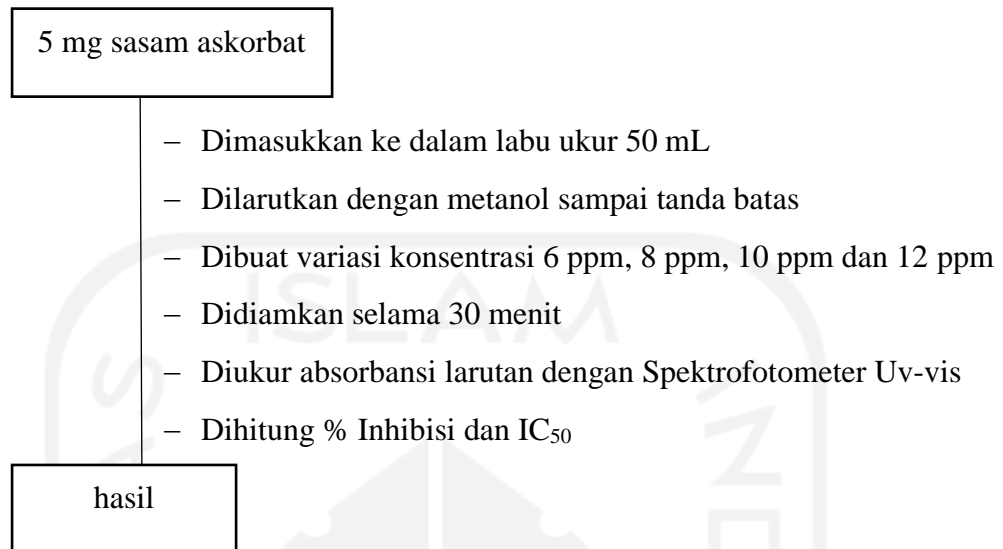
Hasil

1.9.3 Pembuatan Larutan Blanko

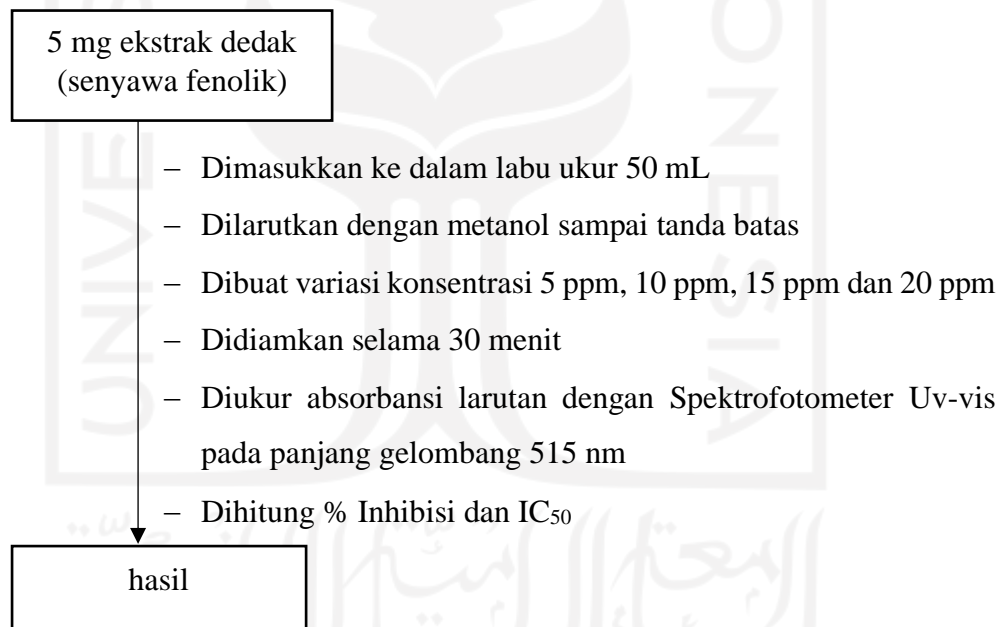


hasil

1.9.4 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Asam Askorbat



1.9.5 Pengukuran Aktivitas Antioksidan sampel

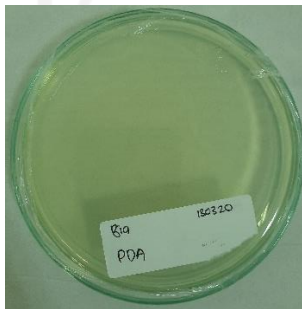


Lampiran 2. Dokumentasi

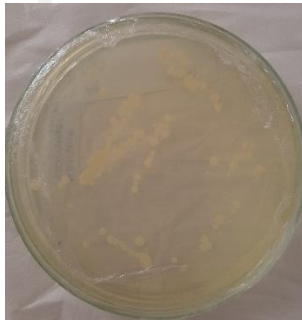
3.1 Sterilisasi dengan *Autoclave*



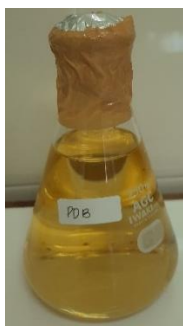
3.2 Media PDA Padat dalam Cawan Petri



3.3 Koloni *Saccharomyces cerevisiae* dalam media PDA



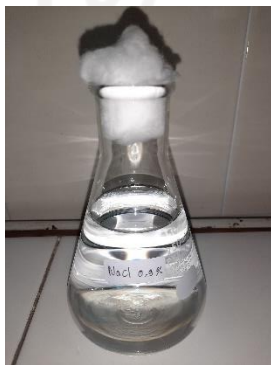
3.4 Media PDB



3.5 Inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dalam media PDB setelah dishaker



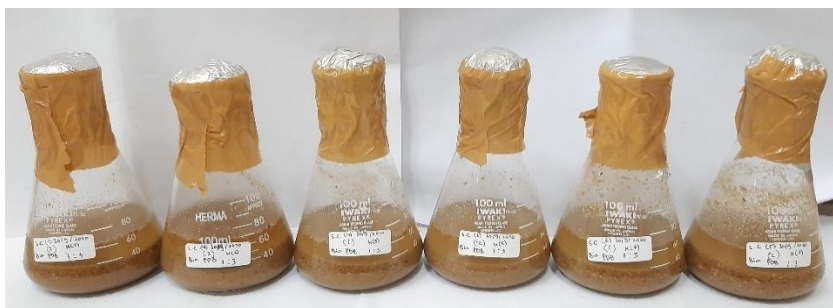
3.6 Larutan Fisiologis (NaCl 0,9%)



3.7 Pengenceran bertingkat (*Saccharomyces cerevisiae*)



3.8 Sampel sebelum fermentasi



3.9 Sampel Setelah Fermentasi hari ke 2, 5 dan 7



3.10 Ekstraksi cair-cair



3.11 Ekstrak dedak terfermentasi



3.12 Larutan DPPH DPPH 0,4 Mm dan larutan standar DPPH 5, 10,20,15 dqn 25 ppm



3.13 Larutan asam askorbat 100 ppm dan asam askorbat 6, 8, 10, 12 ppm



3.14 Pengenceran sampel ekstrak dedak terfermentasi



Lampiran 3. Perhitungan

3.1 Pembuatan PDA

$$\frac{W1}{V1} = \frac{W2}{V2}$$

$$W2 = \frac{W1}{V1} \times V2$$

$$W2 = \frac{39 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml}$$

$$W2 = 3,9 \text{ g}$$

3.2 Pembuatan PDB

$$\frac{W1}{V1} = \frac{W2}{V2}$$

$$W2 = \frac{W1}{V1} \times V2$$

$$W2 = \frac{24 \text{ g}}{1000 \text{ ml}} \times 250 \text{ ml}$$

$$W2 = 6 \text{ g}$$

3.3 Pembuatan larutan fisiologis (NaCl 0,9%)

$$\% \left(\frac{b}{v} \right) NaCl = \frac{\text{massa NaCl}}{\text{Volume}} \times 100\%$$

$$NaCl \text{ 0,9\%} = \frac{\text{massa NaCl}}{250 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$\text{massa NaCl} = \frac{0,9\% \times 250 \text{ mL}}{100\%}$$

$$\text{massa NaCl} = 2,25 \text{ g}$$

3.4 Pembuatan McFarland 0,5

– Pembuatan BaCl₂ 1% 10 mL

$$\% \left(\frac{b}{v} \right) BaCl = \frac{\text{massa BaCl}}{\text{Volume}} \times 100\%$$

$$BaCl \text{ 1\%} = \frac{\text{massa BaCl}}{10 \text{ mL}} \times 100\%$$

$$\text{massa BaCl} = \frac{1\% \times 10 \text{ mL}}{100\%}$$

$$\text{massa BaCl} = 0,1 \text{ g}$$

- H₂SO₄ 1 % 10 mL

Molaritas H₂SO₄ pekat 97-95% (M1)

$$M = \frac{10 \text{ mL} \times \% \times \text{Berat jenis}}{BM}$$

$$M = \frac{10 \text{ mL} \times 97\% \times 1,84 \text{ g/mol}}{98,08 \text{ g/mol}}$$

$$M = 18,19 \approx 18$$

Molaritas H₂SO₄ (M2)

$$M = \frac{10 \text{ mL} \times 1\% \times 1,84 \text{ g/mol}}{98,08 \text{ g/mol}}$$

$$M = 0,18 \approx 0,1$$

Pengenceran H₂SO₄ dari 97% menjadi 1%

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$18 \text{ M} \times V1 = 0,1 \text{ M} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,05 \text{ mL}$$

3.5 Pengenceran larutan standar DPPH 100 ppm

- Konsentrasi 5 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 10 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 15 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 15 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 1,5 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 20 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 20 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 2 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 25 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V1 = 2,5 \text{ mL}$$

3.6 Pengenceran Larutan Asam Askorbat 100 ppm

- Konsentrasi 6 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 6 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,3 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 8 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 8 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,4 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 10 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 10 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 12 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 12 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,6 \text{ mL}$$

3.7 Pengenceran Sampel

- Konsentrasi 5 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 5 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,25 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 10 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 10 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,5 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 15 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 15 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V1 = 0,75 \text{ mL}$$

- Konsentrasi 20 ppm

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$100 \text{ ppm} \times V1 = 20 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$

3.8 %Inhibisi dan IC₅₀ Asam Askorbat

Rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorban blanko} - \text{Absorban asam askorbat})}{\text{Absorban blanko}} \times 100 \%$$

- Konsentrasi 6 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,142 - 0,107}{0,142} \times 100\%$$

$$= 24,647\%$$

- Konsentrasi 8 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,142 - 0,102}{0,142} \times 100\%$$

$$= 28,169\%$$

- Konsentrasi 10 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,142 - 0,095}{0,142} \times 100\%$$

$$= 33,098\%$$

– Konsentrasi 12 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,142 - 0,087}{0,142} \times 100\%$$

$$= 38,732\%$$

Nilai IC_{50} masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier $y = bx + a$

$$y = 2,3592x + 9,9296$$

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

$$IC_{50} = \frac{(50-9,9296)}{2,3592}$$

$$IC_{50} = 16,984 \text{ ppm}$$

3.9 %Inhibisi dan IC_{50} sampel (ekstrak dedak mengandung senyawa fenolik)

Rumus:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Absorban blanko}-\text{Absorban asam askorbat})}{\text{Absorban blanko}} \times 100\%$$

– Konsentrasi 5 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,142 - 0,103}{0,142} \times 100\%$$

$$= 27,464\%$$

– Konsentrasi 10 ppm

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{0,142 - 0,100}{0,142} \times 100\%$$

$$= 29,577\%$$

– Konsentrasi 15 ppm

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{0,142 - 0,095}{0,142} \times 100\% \\ &= 33,098\% \end{aligned}$$

– Konsentrasi 20 ppm

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{0,142 - 0,088}{0,142} \times 100\% \\ &= 38,028\% \end{aligned}$$

Nilai IC_{50} masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier $y = bx + a$

$$y = 0,7042x + 23,239$$

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

$$IC_{50} = \frac{(50-23,239)}{0,7042}$$

$$IC_{50} = 38,001 \text{ ppm}$$

Lampiran 4. Hasil Spektrofotometri UV-vis

4.1 Absorbansi McFarland dan Pengenceran *Saccharomyces cerevisiae*

UH5300

22/09/2021 42

Report : 2020/09/22 15:08
 Sample Name : S. cerevisiae
 File Name : S. cerevisiae
 Run Date : 2020/09/22 15:05
 Operator :

Spectrophotometer
 Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter
 Measurement Mode : Abs/Transmittance Bandpass(nm) : 1.0
 Data Mode : Abs Replicate Measurement : OFF
 Number of WL : 1 Statistics : OFF
 WL1 (nm) : 600.0 6 Cell Mode : Auto
 Initial Delay(s) : 0 Autozero : Cell A
 Sample Autozero : ON
 Autozero Interval : 5
 Number of Sample : 1

Sample

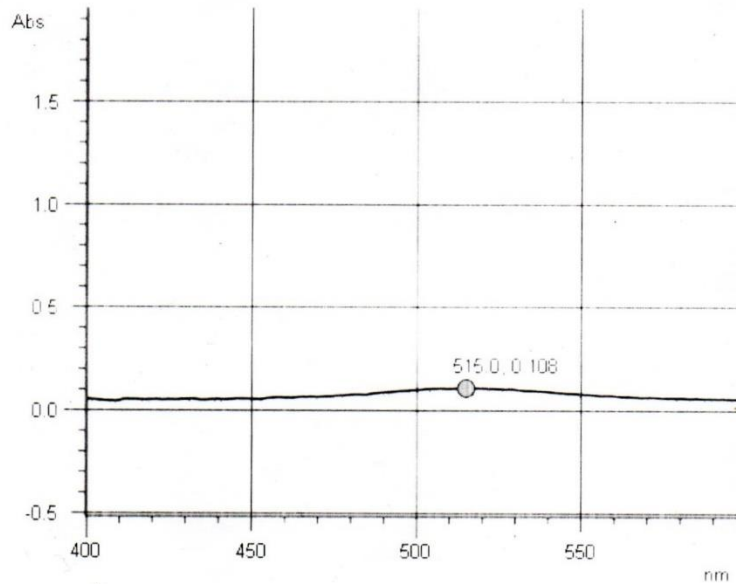
Sample ID	Abs
McFarland	0.010
10 ⁻¹	0.188
10 ⁻²	0.016
10 ⁻³	0.002
10 ⁻⁴	0.004
10 ⁻⁵	0.001
10 ⁻⁶	-0.001

4.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

UH5300

23/12/201

Report : 2020/12/23 11:18



Sample Name : DPPH
 File Name : DPPH1
 Run Date : 2020/12/23 11:17
 Operator :

Spectrophotometer
 Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter

Measurement Mode :	WL Scan	Bandpass (nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Response :	Medium
Start WL (nm) :	600.0	6 Cell Mode :	Auto
End WL (nm) :	400.0	Baseline Correction :	Cell A
Scan Speed (nm/min) :	400	Number of Sample :	1
Data Interval (nm) :	1.0		
Initial Delay (s) :	0		

Peak

Threshold :	0.010
Sensitivity :	1

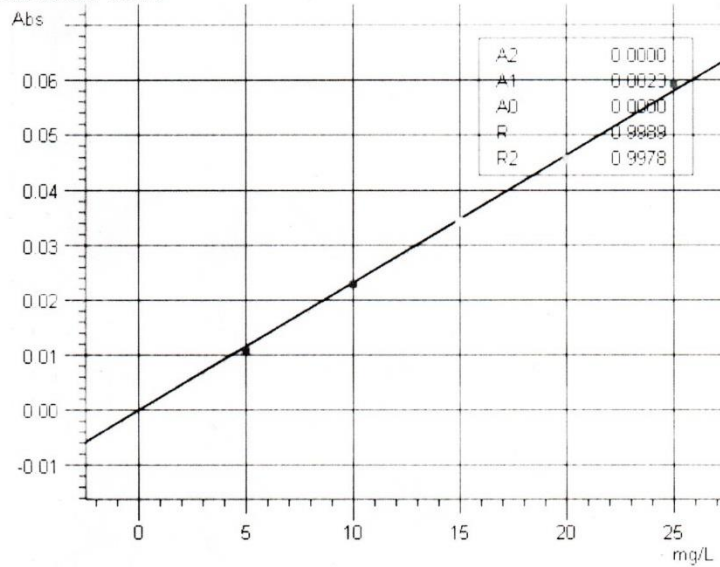
4.3 Kurva Standar DPPH

UH5300

22/12/20 18:14

Report : 2020/12/22 11:41

Calibration Curve



Sample Name : ~~Standar DPPH~~ Standar DPPH
 File Name : standar DPPH
 Run Date : 2020/12/22 11:37
 Operator :

Spectrophotometer
 Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter

Measurement Mode :	Concentration	Bandpass(nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Replicate Measurement :	CN
Number of WL :	1	Number of Replicate :	3
WL1 (nm) :	515.0	Statistics :	OFF
Initial Delay(s) :	1	6 Cell Mode :	Auto
		Autozero :	Cell A
		STD Autozero :	BLK
		Sample Autozero :	CN
		Autozero Interval :	5
		Number of Sample :	1

UH5300

22/12/2018 14

STD

STD No.	Abs	CONC (mg/L)	DIFF	RD	T
STD1-1	0.011	5.0000	-0.1040	-300.96125	-0.27874
STD1-2	0.010	5.0000	-0.6404	-1853.76077	-1.71687
STD1-3	0.011	5.0000	-0.3889	-1125.80699	-1.04267
STD2-1	0.023	10.0000	-0.1373	-397.49445	-0.36814
STD2-2	0.023	10.0000	-0.1418	-410.43850	-0.38013
STD2-3	0.023	10.0000	-0.1518	-439.39308	-0.40695
STD3-1	0.034	15.0000	-0.1291	-373.79125	-0.34619
STD3-2	0.034	15.0000	-0.2000	-578.86439	-0.53612
STD3-3	0.034	15.0000	-0.3028	-876.53768	-0.81181
STD4-1	0.046	20.0000	-0.3688	-1067.58031	-0.98874
STD4-2	0.046	20.0000	-0.1937	-560.65389	-0.51925
STD4-3	0.045	20.0000	-0.4008	-1160.23393	-1.07456
STD5-1	0.059	25.0000	0.3839	1111.15901	1.02911
STD5-2	0.059	25.0000	0.5314	1538.11292	1.42453
STD5-3	0.059	25.0000	0.6336	1834.05477	1.69862

Curve Information

Calibration Curve Type : 1st Order
 Calibration Curve Formula : Abs=f(CONC)
 Through Zero : ON
 Plot of Replicate : Average
 CONC Min : 0.0000
 CONC Max : 500.0000
 Calibration Curve Factor : A0 : 0.0000 A1 : 0.0023
 Factor : Correlation Coefficient: R =0.9989
 Determination Coefficient: R2 =0.9978

4.4 Blanko

Report : 2020/12/28 14:23

Sample Name : Blanko DPPH
 File Name : Blanko DPPH2
 Run Date : 2020/12/28 12:28
 Operator :

Spectrophotometer

Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter

Measurement Mode :	Abs/Transmittance	Bandpass(nm) :	1.0
Data Mode :	Abs	Replicate Measurement :	ON
Number of WL :	1	Number of Replicate :	3
WL1 (nm) :	515.0	Statistics :	OFF
Initial Delay(s) :	0	6 Cell Mode :	Auto
		Autozero :	Cell A
		Sample Autozero :	ON
		Autozero Interval :	5
		Number of Sample :	1

Sample

Sample ID	Abs
blanko dpp	0.142
h -1	
blanko dpp	0.142
h -2	
blanko dpp	0.142
h -3	

4.5 Asam Askorbat

UH5300

23/12/2017:39

Report : 2020/12/23 11:06
 Sample Name : Asam Askorbat
 File Name : Asam Askorbat
 Run Date : 2020/12/23 11:04
 Operator :

Spectrophotometer
 Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter
 Measurement Mode : Abs/Transmittance Bandpass(nm) : 1.0
 Data Mode : Abs Replicate Measurement : OFF
 Number of WL : 1 Statistics : OFF
 WL1 (nm) : 515.0 6 Cell Mode : Auto
 Initial Delay(s) : 0 Autozero : Cell A
 Sample Autozero : ON
 Autozero Interval : 5
 Number of Sample : 1

Sample

Sample ID	Abs
6 ppm	0.107
8 ppm	0.102
10 ppm	0.095
12 ppm	0.087

4.6 Sampel Ekstrak Dedak Terfermentasi

UH5300

28/12/2021 37

Report : 2020/12/28 15:04
 Sample Name : S. Cerevisiae
 File Name : S. Cerevisiae 5
 Run Date : 2020/12/28 15:00
 Operator :

Spectrophotometer
 Model : UH5300 Spectrophotometer
 SERIAL No. : 2734-017
 (CPU1) Program No. : 3J15300-04
 (CPU2) Program No. : 3J15310-08
 Option : 6 Cell

Instrument Parameter
 Measurement Mode : Abs/Transmittance Bandpass(nm) : 1.0
 Data Mode : Abs Replicate Measurement : ON
 Number of WL : 1 Number of Replicate : 3
 WL1 (nm) : 515.0 Statistics : OFF
 Initial Delay(s) : 0 6 Cell Mode : Auto
 Autozero : Cell A
 Sample Autozero : ON
 Autozero Interval : 5
 Number of Sample : 1

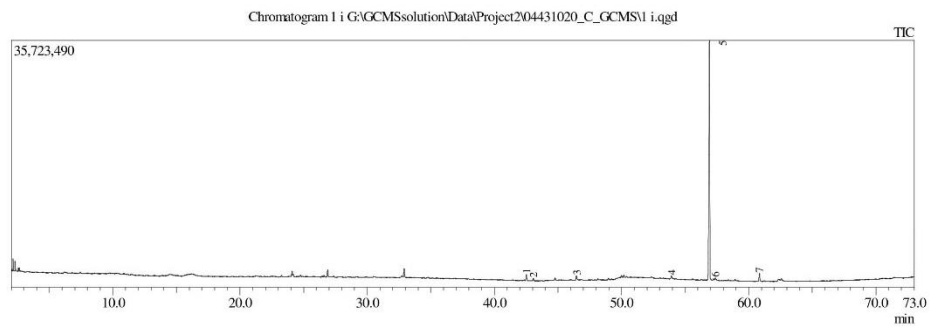
Sample

Sample ID	Abs
5 ppm-1	0.103
5 ppm-2	0.103
5 ppm-3	0.103
10 ppm-1	0.100
10 ppm-2	0.100
10 ppm-3	0.100
15 ppm-1	0.095
15 ppm-2	0.095
15 ppm-3	0.095
20 ppm-1	0.088
20 ppm-2	0.088
20 ppm-3	0.088

Lampiran 5. Hasil Analisis GC-MS

5.1 Hasil GC-MS Ekstrak Dedak Fermentasi Hari ke 2

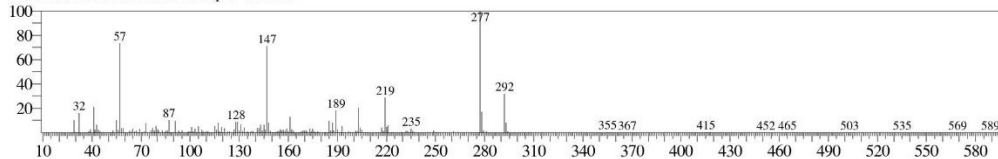
Sample Information
 Analyzed by : Admin
 Analyzed : 11/10/2020 9:32:11 AM
 Sample Name : 1 i
 Sample ID :
 Injection Volume : 1.00
 Data File : G:\GCMSsolution\Data\Project2\04431020_C_GCMS\1 i.qgd
 Tuning File : C:\GCMSsolution\SystemTune\1\ Agus 2019.qgt



Peak#	R.Time	L.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	42.510	42.442	42.600	3229694	1.81	842868
2	43.059	43.008	43.142	1256924	0.70	326585
3	46.451	46.383	46.567	2659651	1.49	561907
4	53.917	53.850	53.992	1364859	0.76	357921
5	56.914	56.758	57.033	164054230	91.82	34595768
6	57.377	57.317	57.492	1445231	0.81	318155
7	60.846	60.775	60.933	4661618	2.61	1094645
				178672207	100.00	38097849

<< Target >>

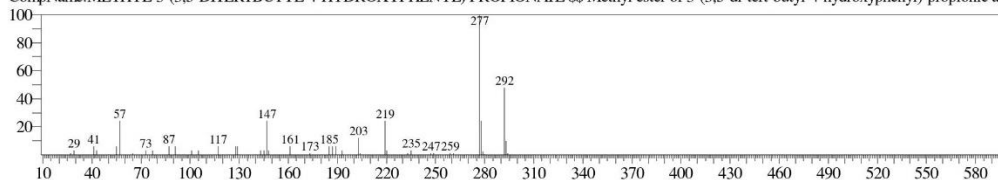
Line#:2 R.Time:43.058(Scan#:5168) MassPeaks:384
 RawMode:Averaged 43.050-43.067(5167-5169) BasePeak:277.05(40617)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:203757 Library:WILEY7.LIB

SI:80 Formula:C18 H28 O3 CAS:0-00-0 MolWeight:292 RetIndex:0

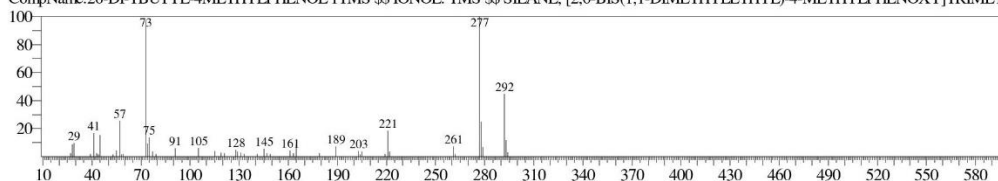
CompName:METHYL-3-(3,5-DITERTBUTYL-4-HYDROXYPHENYL) PROPIONATE \$\$ Methyl ester of 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-propionic acid



Hit#:2 Entry:203762 Library:WILEY7.LIB

SI:68 Formula:C18 H32 O Si CAS:18510-49-1 MolWeight:292 RetIndex:0

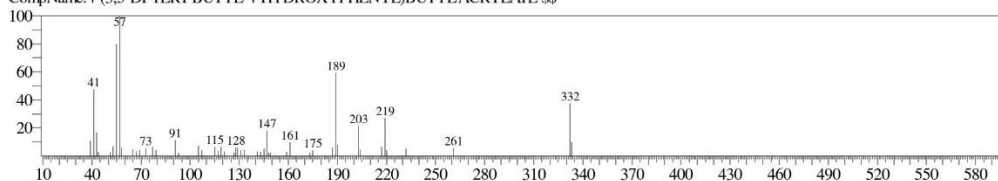
CompName:26-DI-TBUTYL-4-METHYLPHENOL TMS \$\$ IONOL: TMS \$\$ SILANE, [2,6-BIS(1,1-DIMETHYLETHYL)-4-METHYLPHENOXY]TRIMETH



Hit#:3 Entry:240629 Library:WILEY7.LIB

SI:62 Formula:C21 H32 O3 CAS:0-00-0 MolWeight:332 RetIndex:0

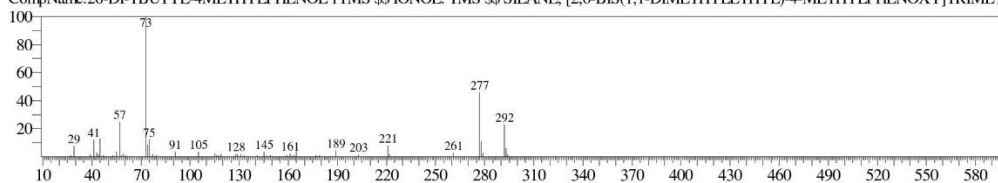
CompName:4-(3,5-DI-TERT-BUTYL-4-HYDROXYPHENYL)BUTYL ACRYLATE \$\$



Hit#:4 Entry:203761 Library:WILEY7.LIB

SI:60 Formula:C18 H32 O Si CAS:18510-49-1 MolWeight:292 RetIndex:0

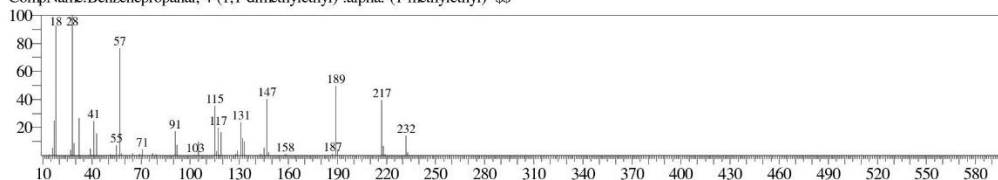
CompName:26-DI-TBUTYL-4-METHYLPHENOL TMS \$\$ IONOL: TMS \$\$ SILANE, [2,6-BIS(1,1-DIMETHYLETHYL)-4-METHYLPHENOXY]TRIMETH



Hit#:5 Entry:135803 Library:WILEY7.LIB

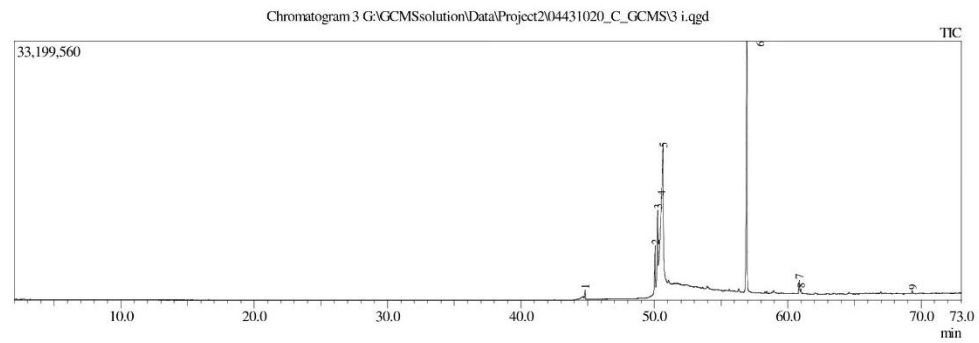
SI:58 Formula:C16 H24 O CAS:0-00-0 MolWeight:232 RetIndex:0

CompName:Benzenepropanal, 4-(1,1-dimethylethyl)-.alpha.-(1-methylethyl)- \$\$



5.2 Hasil GC-MS Ekstrak Dedak Fermentasi Hari ke 5

Sample Information
 Analyzed by : Admin
 Analyzed : 11/9/2020 11:18:57 AM
 Sample Name : 3
 Sample ID : 3
 Injection Volume : 1.00
 Data File : G:\GCMSsolution\Data\Project2\04431020_C_GCMS\3 i.qgd
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune\1\1 Agus 2019.qgt

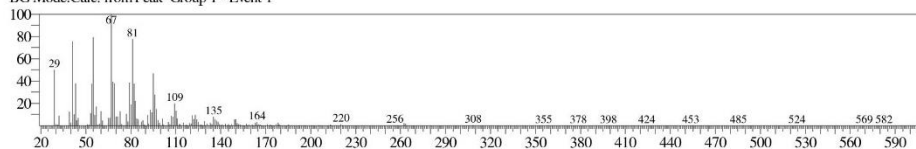


Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	44.807	44.742	44.875	3192989	0.68	1036269
2	50.056	49.942	50.117	22656895	4.80	5921723
3	50.252	50.117	50.300	48198402	10.22	10178483
4	50.533	50.300	50.550	100459225	21.29	11422762
5	50.664	50.550	50.900	137925109	29.23	17387006
6	56.938	56.767	57.092	148347534	31.44	32029086
7	60.859	60.775	60.942	7838490	1.66	1704590
8	60.993	60.942	61.067	2117201	0.45	558309
9	69.342	69.292	69.408	1079159	0.23	331193
				471815004	100.00	80569421



<< Target >>

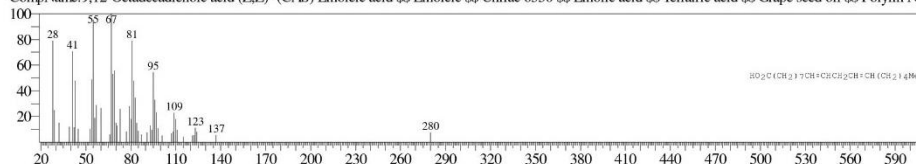
Line#:2 R.Time:50.058(Scan#:6008) MassPeaks:399
 RawMode:Averaged 50.050-50.067(6007-6009) BasePeak:67.05(420222)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:191097 Library:WILEY7.LIB

SI:92 Formula:C18 H32 O2 CAS:60-33-3 MolWeight:280 RetIndex:0

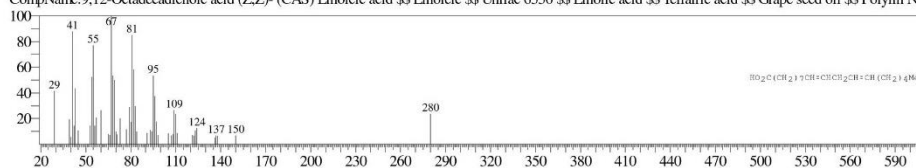
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- (CAS) Linoleic acid \$\$ Unifac 6550 \$\$ Linoleic acid \$\$ Telfairic acid \$\$ Grape seed oil \$\$ Polylin No



Hit#:2 Entry:191098 Library:WILEY7.LIB

SI:91 Formula:C18 H32 O2 CAS:60-33-3 MolWeight:280 RetIndex:0

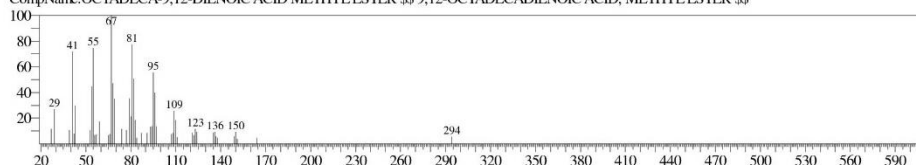
CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- (CAS) Linoleic acid \$\$ Unifac 6550 \$\$ Linoleic acid \$\$ Telfairic acid \$\$ Grape seed oil \$\$ Polylin No



Hit#:3 Entry:205831 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C19 H34 O2 CAS:2462-85-3 MolWeight:294 RetIndex:0

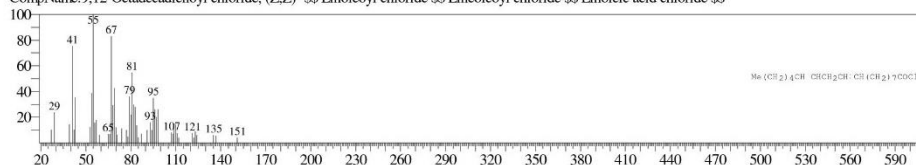
CompName:OCTADECANA-9,12-DIENOIC ACID METHYL ESTER \$\$ 9,12-OCTADECADIENOIC ACID, METHYL ESTER \$\$



Hit#:4 Entry:209385 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C18 H31 Cl O CAS:7459-33-8 MolWeight:298 RetIndex:0

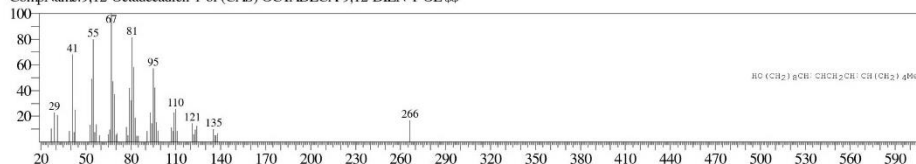
CompName:9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)- \$\$ Linoleoyl chloride \$\$ Lineoleyl chloride \$\$ Linoleic acid chloride \$\$



Hit#:5 Entry:175623 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C18 H34 O CAS:1577-52-2 MolWeight:266 RetIndex:0

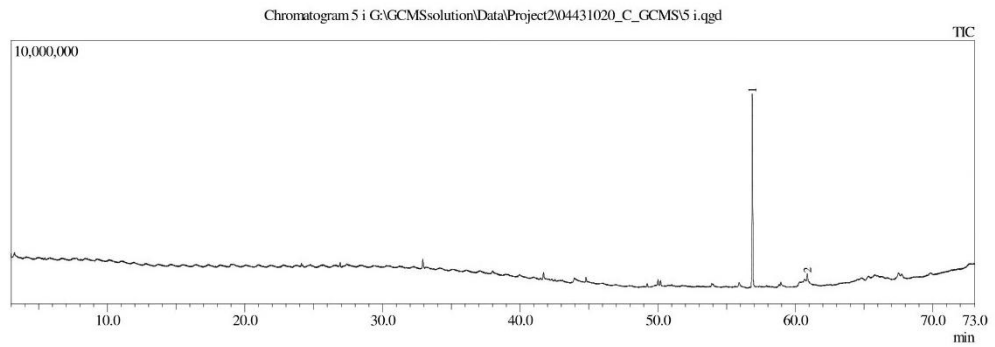
CompName:9,12-Octadecadien-1-ol (CAS) OCTADECANA-9,12-DIEN-1-OL \$\$



5.3 Hasil GC-MS Ekstrak Dedak Fermentasi Hari ke 7

Sample Information

Analyzed by : Admin
 Analyzed : 11/10/2020 1:49:18 PM
 Sample Name : 5 i
 Sample ID :
 Injection Volume : 1.00
 Data File : G:\GCMSsolution\Data\Project2\04431020_C_GCMS\5 i.qgd
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System1\Tune\1\1_Agus 2019.qgt

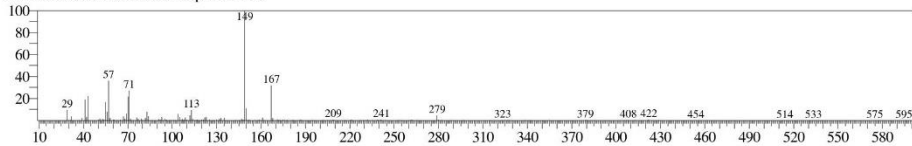


Peak#	Peak Report TIC					
	R.Time	LTime	F.Time	Area	Area%	Height
1	56.876	56.783	57.008	28861146	96.31	7302293
2	60.871	60.800	60.950	1104840	3.69	259352
				29965986	100.00	7561645

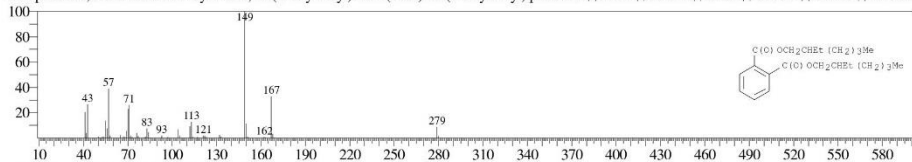


<< Target >>

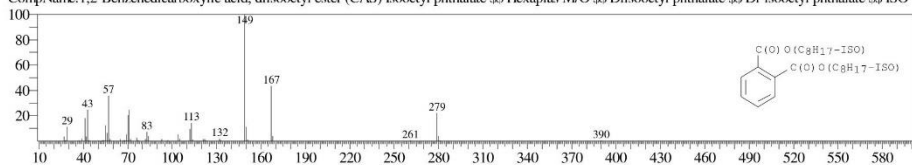
Line#:2 R.Time:60.875(Scan#:7306) MassPeaks:358
 RawMode:Averaged 60.867-60.883(7305-7307) BasePeak:148.95(54694)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



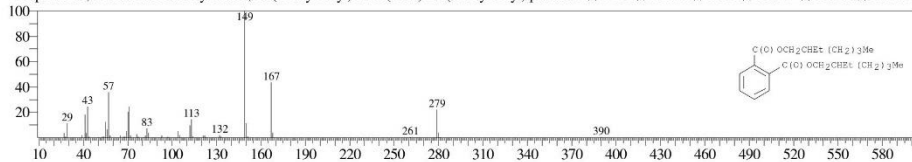
Hit#:1 Entry:279557 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C24 H38 O4 CAS:117-81-7 MolWeight:390 RetIndex:0
 CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS) Bis(2-ethylhexyl) phthalate \$\$ DOP \$\$ DEHP \$\$ DOF \$\$ DNOP \$\$ Octoil \$\$ Flexim



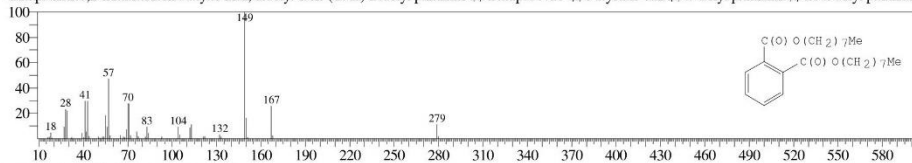
Hit#:2 Entry:279572 Library:WILEY7.LIB
 SI:91 Formula:C24 H38 O4 CAS:27554-26-3 MolWeight:390 RetIndex:0
 CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester (CAS) Isooctyl phthalate \$\$ Hexaplas M/O \$\$ Diisooctyl phthalate \$\$ Di-isooctyl phthalate \$\$ ISO-



Hit#:3 Entry:279555 Library:WILEY7.LIB
 SI:91 Formula:C24 H38 O4 CAS:117-81-7 MolWeight:390 RetIndex:0
 CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester (CAS) Bis(2-ethylhexyl) phthalate \$\$ DOP \$\$ DEHP \$\$ DOF \$\$ DNOP \$\$ Octoil \$\$ Flexim



Hit#:4 Entry:279545 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C24 H38 O4 CAS:117-84-0 MolWeight:390 RetIndex:0
 CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, dioctyl ester (CAS) Dioctyl phthalate \$\$ Dinopol NOP \$\$ Polycizer 162 \$\$ n-Octyl phthalate \$\$ Di-n-octyl phthalat



Hit#:5 Entry:279574 Library:WILEY7.LIB
 SI:90 Formula:C24 H38 O4 CAS:27554-26-3 MolWeight:390 RetIndex:0
 CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, diisooctyl ester (CAS) Isooctyl phthalate \$\$ Hexaplas M/O \$\$ Diisooctyl phthalate \$\$ Di-isooctyl phthalate \$\$ ISO-

