

PENINGKATAN KONSENTRASI SENYAWA FENOLIK ANTIOKSIDAN DARI DEDAK DENGAN CARA FERMENTASI

Novita Wulandari Aruben (L2C0 06080)

Jurusan Teknik Kimia Fak. Teknik Universitas Diponegoro
Jln.Prof.Soedharto, Tembalang, Semarang, 50239, Telp/Fax : (024) 7460058
Dosen Pembimbing: Dyah Hesti Wardhani, ST, MT, Ph.D

ABSTRACT

*The purpose of this research was to increase the antioxidant capacity (activity) and the total amount of phenolic of rice bran with fermentation process by *Saccharomyces cerevisiae* and *Rhizopus oligosporus*. The observation was carried out for 7 days. The total amount of phenolic was calculated as gallic acid equivalent and the antioxidant capacity was represented as DPPH scavenging activity. The results showed that the total amount of phenolic after the 4th day fermentation increased from 1.746 mg EAG/g to 4.519 mg EAG/g (*Saccharomyces cerevisiae*) and 1.071 mg EAG/g to 5.01 mg EAG/g (*Rhizopus oligosporus*). DPPH radical scavenging capacity after the 4th day fermentation increased from 66.78% to 90.493% (*Saccharomyces cerevisiae*) and 73.31% to 91.294% (*Rhizopus oligosporus*). Hence, it can be concluded that fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* and *Rhizopus oligosporus* are able to increase antioxidant contents.*

Key word: bran, fermentation, antioxidant, phenolic total, DPPH

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk meningkatkan kapasitas antioksidan (aktivitas) dan jumlah total fenolik dari dedak padi dengan proses fermentasi menggunakan mikroorganisme *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus*. Pengamatan ini dilakukan selama 7 hari. Konsentrasi Total Fenolik dihitung sebagai milligram ekuivalen asam galat dan kapasitas antioksidan dinyatakan sebagai aktivitas pengikatan DPPH radikal. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi total fenolik setelah 4 hari fermentasi meningkat dari 1.746 mg EAG/g menjadi 4.519 mg EAG/g (*Saccharomyces cerevisiae*) dan 1.071 mg EAG/g menjadi 5.01 mg EAG/g (*Rhizopus oligosporus*). Aktivitas pengikatan DPPH radikal setelah 4 hari fermentasi juga meningkat dari 66.78% menjadi 90.493% (*Saccharomyces cerevisiae*) dan 73.31% menjadi 91.294% (*Rhizopus oligosporus*). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa fermentasi dengan ragi tape (*Saccharomyces cerevisiae*) dan ragi tempe (*Rhizopus oligosporus*) dapat meningkatkan kandungan antioksidan.

Kata kunci: dedak, fermentasi, antioksidan, total fenolik, DPPH

I. PENDAHULUAN

Padi merupakan komoditas pertanian yang paling penting di Indonesia dikarenakan penggunaannya sebagai pangan pokok. Dedak padi yang merupakan salah satu hasil samping dari penggilingan padi dalam memproduksi beras, yaitu bagian luar (kulit ari) beras yang dibuang pada waktu dilakukan pemutihan beras. Padi mempunyai komposisi, 70-72% endosperm, 20% sekam padi, 7-8.5% dedak padi, dan 2-3% embrio (Ju and Vali, 2005). Pemanfaatan dedak padi di Indonesia sampai saat ini adalah sebagai pakan ternak. Padahal, dedak padi ini menyimpan banyak potensi jika dilihat dari komposisinya. Kandungan karbohidrat dedak padi yang mencapai 79-83% berat kering yang didominasi oleh pati. Serat seperti selulosa dan hemiselulosa dan pentosa ditemukan sekitar 6%. Kadar lemak dan proteinnya masing-masing 1-2% dan 7-14% (Vermerris and Nicholson, 2006). Dedak padi mengandung berbagai macam komponen bioaktif seperti fitosterol, tokoferol, tokotrienol, dan juga orizanol. Di mana komponen bioaktif yang terdapat dalam dedak padi 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 seperti golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, dan tokoferol. Taylor dkk., (1995) dan Shin dkk., (1992) melaporkan senyawa antioksidan yang dominan ditemukan pada dedak adalah turunan vitamin E dan orizanol. Riset terdahulu menyebutkan bahwa fermentasi dapat meningkatkan aktifitas antioksidan dari berbagai sumber seperti pada kedelai (Lin dkk., 2006, Esaki dkk., 1997, McCue and Shetty, 2003, Wardhani dkk., 2009), ampas buah cranberry (Vattem & Shetty, 2002), tempe dari kacang faba dan oat (Berghofer dkk., 1998), produk samping minyak zaitun (Bouzid dkk., 2005) dan beras (Bhanja dkk., 2008, Liang dkk., 2009).

II. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk meningkatkan kandungan senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan pada dedak melalui proses fermentasi. Juga untuk membandingkan pengaruh mikroorganisme yang digunakan pada fermentasi dedak dan waktu terhadap kandungan senyawa fenolik dan aktifitas antioksidannya.

III.METODE PENELITIAN

Alat

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi: oven mikrowave, sentrifuge, spektrofotometer, autoklaf, *counting chamber*, cawan petri, erlenmeyer.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi: dedak padi, ragi tempe (*Rhizopus oligosporus*), ragi tape (*Saccharomyces cerevisiae*), etanol, metanol, larutan Na₂CO₃, asam galat, radikal DPPH (1,1, difenil-2-dipikrilhidrazil), reagen folin ciokalteu (RFC), dan akuades.

Pembuatan suspensi mikroorganisme

Suspensi mikroorganisme disiapkan dengan menginokulasi 0,1 g ragi tape dan ragi tempe ke kaldu *Potatos Dextrose Broth* (PDB) aseptik. Pengenceran dilakukan dengan mentransfer 0,1 ml dari broth mula-mula ke 9.5 ml akuades steril. Lakukan 3x pengenceran dengan cara yang sama. Setelah diinkubasikan selama 3 hari yang pertama pada 30°C, ambil 0,1 ml dari tiap pengenceran dan inokulasikan ke PDB selanjutnya dalam erlenmeyer. Setelah diinkubasikan selama 3 hari yang kedua pada 30°C hitung konsentrasi mikroorganisme menggunakan *counting chamber*. Lakukan pengenceran seperlunya hingga konsentrasi sel/spora berkisar 10⁶-10¹⁰ spora/ml suspensi. Suspensi mikroorganisme siap digunakan.

Fermentasi dedak

Untuk masing-masing mikroorganisme, 100 g dedak dan 50 ml akuades yang ditempatkan pada botol tertutup yang terpisah disterilkan pada 121°C selama 15 menit. Setelah mencapai suhu kamar, akuades dan suspensi sel dicampurkan ke dedak secara aseptik kemudian dikocok 5 menit hingga homogen. Tuangkan dedak terinokulasi pada 8 buah cawan petri dan diinkubasikan pada suhu kamar. Dengan prosedur yang sama namun tanpa penambahan suspensi sel, sample kontrol disiapkan sebagai pembanding.

Ekstraksi dedak terfermentasi untuk analisa konsentrasi total fenolik (KTP) dan pengikatan radikal DPPH

Satu gram dedak terfermentasi bersama 5 ml etanol 50% ditaruhkan pada gelas erlenmeyer yang ditutup kapas. Tempatkan erlenmeyer ini pada oven mikrowave. Set oven mikrowave pada power sedang (*mid low*) selama 2 menit. Pisahkan ekstrak dan padatan menggunakan

sentrifuge (4000 rpm, 5 menit), saring dengan kertas saring. Ekstrak yang didapat dianalisa KTF dan pengikatan radikal DPPH.

Analisa Pertumbuhan mikroorganisme

Dedak terfermentasi yang masih baru (1 gram) disuspensikan dengan 9 ml akuades pada erlenmeyer dan letakan pada inkubator goyang 150 rpm selama 20 menit. Lakukan pengenceran jika diperlukan. Hitung jumlah sel menggunakan *counting chamber*.

Analisa pH

pH dedak terfermentasi diukur berdasarkan metode Cho dkk. (2008). Campurkan satu gram dedak terfermentasi dengan 9 ml akuades pada erlenmeyer dan letakan pada inkubator goyang 150 rpm selama 20 menit. Kemudian ukur pH suspensi tersebut menggunakan pH indikator.

Konsentrasi Total Fenolik (KTF)

Sampel (50 µl), 3 ml akuades dan RFC (250 µl) diletakkan pada tabung reaksi. Selanjutnya, larutan sodium karbonat (10%, 750 µl) serta akuades ditambahkan hingga volume total campuran 5 ml. Dua jam kemudian, absorbansi sampel dibaca pada panjang gelombang 765 nm. Absorbansi sampel dibandingkan dengan kurva standar asam galat (Singleton dkk, 1999). KTF diekspresikan sebagai milligram ekuivalen asam galat per gram dedak terfermentasi (mg EAG/g).

Pengikatan radikal DPPH (1,1, difenil-2-dipikrilhidrazil)

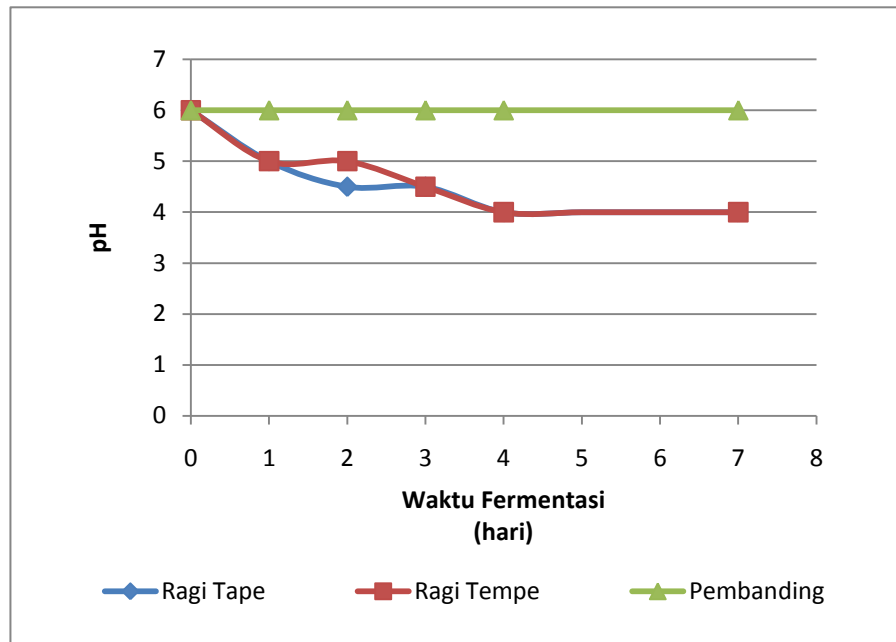
Sampel ekstrak (0,1 ml) ditambahkan ke 3,9 ml DPPH 6×10^{-2} mM dalam metanol yang baru disiapkan. Serapan diukur pada 515 nm setelah 30 menit. Larutan DPPH ditambah 0,1 ml metanol digunakan sebagai kontrol (William dkk, 1995). Persentase radikal DPPH tersisa dihitung sebagai berikut:

$$\text{Pengikatan DPPH (\%)} = \left(\frac{\text{Serapan}_{\text{kontrol}} - \text{Serapan}_{\text{sample}}}{\text{Serapan}_{\text{kontrol}}} \right) \times 100$$

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

III.1. pH

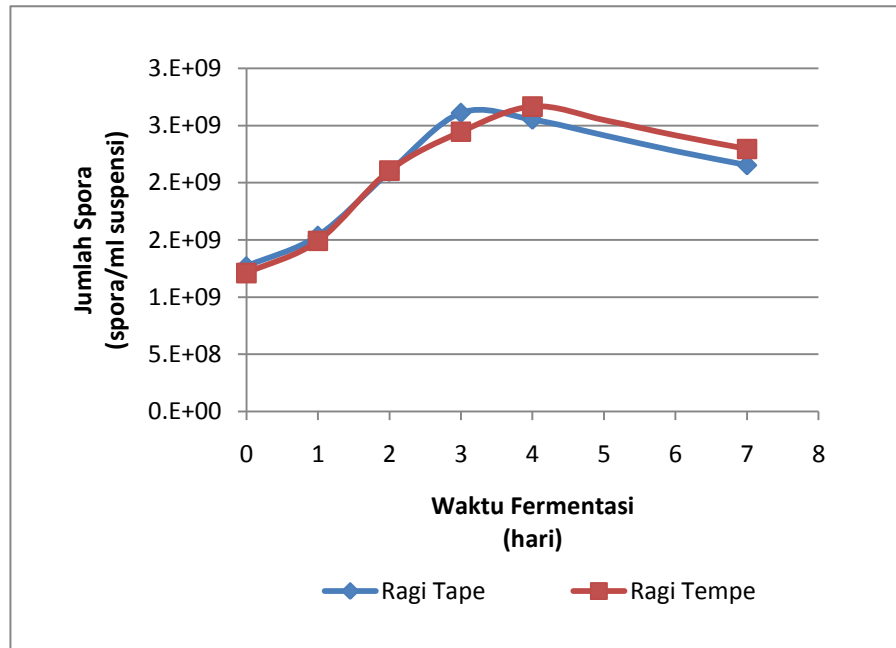
Pada penelitian ini, dedak difermentasi menggunakan ragi tempe dan ragi tape. Selama fermentasi diamati kondisi pH, jumlah spora, konsentrasi fenolik total dan aktivitas pengikatan DPPH radikal. Hasil yang didapat dibandingkan dengan dedak yang tidak difermentasi.



Gambar 1. Grafik Hubungan pH dengan Waktu Fermentasi

Gambar 1 menunjukkan bahwa fermentasi oleh ragi tape (*Saccharomyces cereviciae*) ataupun ragi tempe (*Rhizopus oligosporus*) menurunkan pH dedak. pH turun dari 6 menjadi 4 setelah 4 hari masa inkubasi. Secara umum, tren penurunan pH oleh ragi tape maupun tempe adalah sama. Sedangkan sample pembanding (dedak non-fermentasi) tidak mengalami penurunan pH. Terjadinya penurunan pH disebabkan karena selama proses fermentasi dihasilkan asam-asam organik seperti asam laktat, asam asetat, dan lain-lain (Chong dkk, 2001).

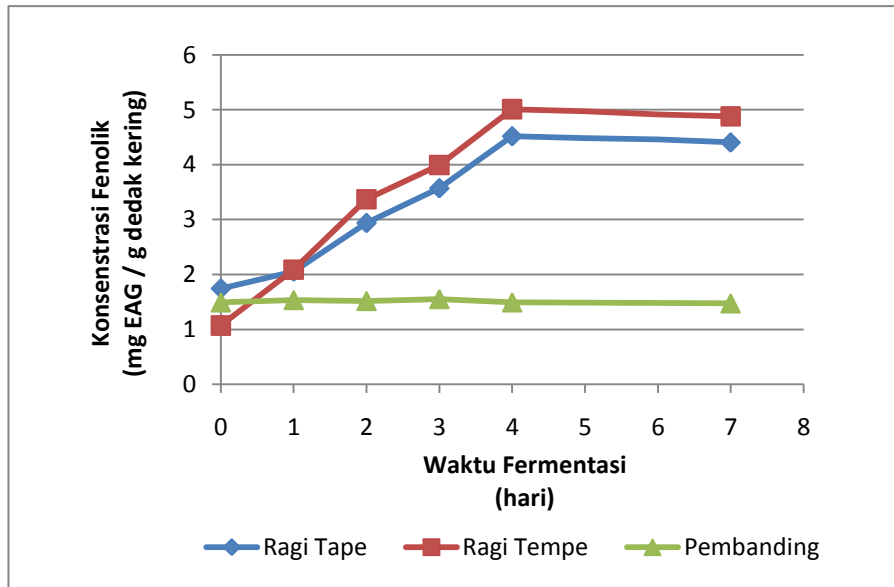
III.2. Pertumbuhan Mikroorganisme



Gambar 2. Grafik Hubungan Waktu Fermentasi dengan Pertumbuhan Mikroorganisme

Pertumbuhan mikroorganisme mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Rentang pertumbuhannya yang signifikan dapat dilihat dari hari pertama sampai hari ke-4 masa inkubasi. Spora hasil fermentasi *Saccharomyces cereviciae* dan *Rhizopus oligosporus* meningkat dari 1.269×10^9 menjadi 2.551×10^9 dan 1.211×10^9 menjadi 2.665×10^9 . Hal ini menunjukkan bahwa mikroorganisme tersebut berada pada fase eksponensial yaitu fase tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme. Meningkatnya jumlah mikroorganisme disebabkan oleh kesesuaian substrat untuk pertumbuhan mikroba, sehingga mikroba dapat berkembang biak secara optimal. Setelah hari ke-4, mikroorganisme berada pada fase kematian yang ditandai dengan penurunan jumlah mikroorganisme. Hal ini disebabkan oleh substrat yang semakin lama semakin habis sehingga memperlambat laju pertumbuhan mikroorganisme. Di samping itu, turunnya pH juga dapat mematikan pertumbuhan mikroorganisme. Mikroorganisme secara umum akan tumbuh secara optimal pada rentang pH 6,5 - 8 dan mengalami penurunan jumlah mikroorganisme pada pH di bawah 5 (Chong dkk, 2001).

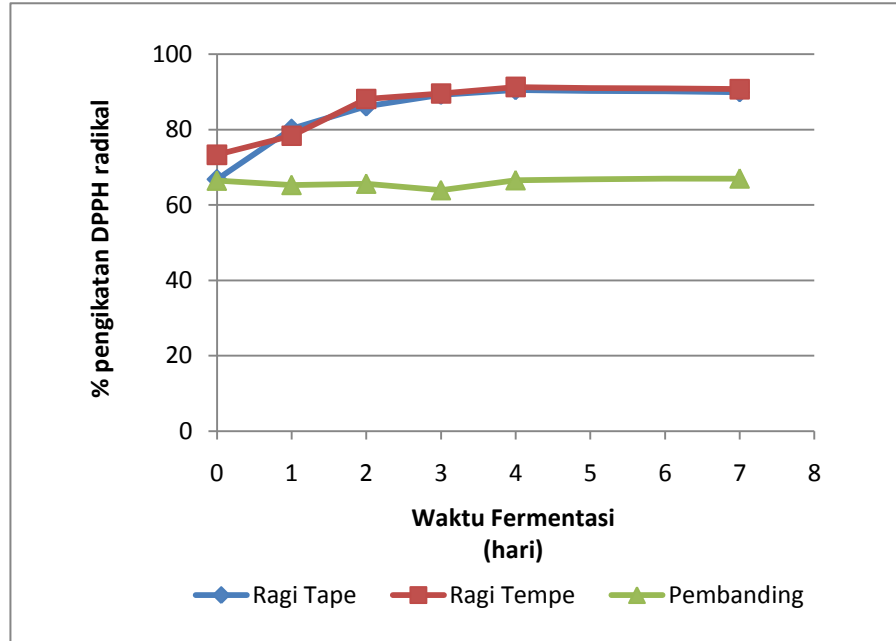
III.3. Konsentrasi Total Fenolik (KTF)



Gambar 3. Grafik Hubungan Konsentrasi Total Fenolik dengan Waktu Fermentasi

Gambar 3 menunjukkan bahwa dedak yang terfermentasi mengalami peningkatan kadar fenolik total dibandingkan dengan dedak yang tidak terfermentasi (pemanding). Kadar fenolik semakin tinggi dengan semakin bertambahnya waktu fermentasi. Secara umum fermentasi dedak dengan menggunakan ragi tempe menghasilkan fenolik yang lebih banyak. Pada fermentasi hari ke-4 kandungan total fenoliknya meningkat dari 1.746 mg EAG/g menjadi 4.519 mg EAG/g (*Saccharomyces cereviciae*) dan 1.071 mg EAG/g menjadi 5.01 mg EAG/g (*Rhizopus oligosporus*). Meningkatnya kadar fenolik total selama fermentasi kemungkinan disebabkan karena mikroorganisme yang digunakan memproduksi enzim β -glukosidase. Enzim ini memainkan peranan penting dalam proses biotransformasi seperti modifikasi metabolit sekunder. Enzim ini berfungsi memotong ikatan glukosa atau oligosakarida tertentu pada dedak dan membebaskan fenolik dalam proses fermentasi (Hsieh dan Graham, 2001). Semakin bertambahnya waktu fermentasi maka semakin banyak pula fenolik bebas yang dihasilkan.

III.4. Pengikatan Radikal DPPH



Gambar 4. Grafik Pengikatan radikal DPPH dengan Waktu Fermentasi

Gambar 4 menunjukkan bahwa dedak terfermentasi mengalami peningkatan aktivitas antioksidan dibandingkan dedak non-fermentasi (pembanding). Persentase pengikatan DPPH radikal maksimum setelah 4 hari fermentasi untuk dedak hasil fermentasi meningkat dari 66.78% menjadi 90.493% (*Saccharomyces cerevisiae*) dan 73.31% menjadi 91.294% (*Rhizopus oligosporus*). Sedangkan dedak non-fermentasi (pembanding) tidak mengalami peningkatan aktivitas antioksidan (konstan). Meningkatnya aktivitas antioksidan disebabkan oleh semakin banyaknya fenolik bebas yang dihasilkan dari proses fermentasi. Semakin tinggi kadar fenolik yang dihasilkan maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya (Bhanja dkk, 2008, Liang dkk, 2009). Besarnya peningkatan sifat-sifat antioksidan pada produk fermentasi tergantung dari mikroorganisme yang digunakan serta kondisi fermentasi itu sendiri (Berghofer dkk, 1998, Lin dkk, 2006, Yoon dkk, 2008).

V. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Fermentasi dedak oleh *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus* dapat meningkatkan kandungan fenolik total dan aktivitas antioksidannya.
2. Setelah 4 hari fermentasi menggunakan mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus*, didapatkan nilai maksimum Konsentrasi Total Fenolik (KTF) dan aktivitas antioksidan dedak padi hampir sama yaitu 4.519 mg EAG/g dan 5.01 mg EAG/g. Nilai maksimum pengikatan DPPH radikalnya juga hampir sama yaitu 90.49 % dan 91.29 %.

VI. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Ibu Dyah Hesti Wardhani, ST, MT, Ph.D selaku dosen pembimbing penelitian, staf laboratorium mikrobiologi dan bioproses yang telah memberikan bantuan dan dukungan pelaksanaan penelitian ini.

VII. DAFTAR PUSTAKA

- Ballard, T. S., Mallikarjunan, P., Zhou, K., And O'keefe, S., 2010 "Microwave-Assisted Extraction Of Phenolic Antioxidant Compounds From Peanut Skins", Food Chemistry, 120, 1185-1192
- Berghofer, E., Grzeskowiak, B., Mundigler, N., Sentall, W. B., Walcak, J., 1998, "Antioxidative Properties Of Faba Bean-, Soybean- And Oat-Tempeh", International Journal Of Food Sciences And Nutrition, 49, 45-54
- Bhanja, T., Rout, S., Banerjee, R., And Bhattacharya, B. C., 2008, " Studies On The Performance Of A New Bioreactor For Improving Antioxidant Potential Of Rice", Lwt, 41, 1459-1465
- Bouزيد, O., Navarro, D., Roche M., Asther M., Haon M., Delattre, M., Lorquin, J, Labat, M., Asther M., Lesage-Meessen, L., 2005, "Fungal Enzymes As A Powerful Tool To Release Simple Phenolic Compounds From Olive Oil By-Product", 40, 1855-1862
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant
- Cho, K. M., Hong, S. Y., Math, R. K., Lee, J. H., Kambiranda, D. M., Kim, J. M., Islam, S. M. A., Yun, M. G., Cho, J. J., Lim, W. J. & D., Y. H. (2008) Biotransformation Of Phenolics (Isoflavones, Flavanols And Phenolic Acids) During The Fermentation Of

Cheonggukjang By *Bacillus Pumilus* Hy1. *Food Chemistry*,

Doi:10.1016/J.Foodchem.2008.09.056.

www.chemical-info.com

www.bioteknik.com