

**STUDI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA  
BEKATUL DAN SUSU SKIM TERFERMENTASI PROBIOTIK  
(*Lactobacillus plantarum* B2 DAN *Lactobacillus acidophilus*)**

*Study of Antioxidant Activity in Rice Bran and Skim Milk Media Fermented  
by Probiotic (*Lactobacillus plantarum* B2 and *Lactobacillus acidophilus*)*

Elok Zubaidah\*, Ella Saparianti, Josep Hindrawan  
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian-Fakultas Teknologi Pertanian- Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran-Malang 65145  
Penulis Korespondensi: email elzoeba@yahoo.com dan elok@ub.ac.id

**ABSTRAK**

Saat ini banyak dikembangkan produk baru khususnya pangan probiotik yang berbasis sereal. Bekatul merupakan hasil samping proses penggilingan padi yang mengandung serat tidak larut dan antioksidan, beberapa diantaranya berikatan kovalen dengan serat tidak larut sehingga bioavailabilitasnya rendah. Guna meningkatkan bioavailabilitas antioksidan fenolik yang terikat pada serat tidak larut diperlukan mikrob yang memiliki enzim untuk memetabolisme serat, diantaranya adalah BAL (probiotik). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bioavailabilitas antioksidan pada bekatul dan susu skim yang terfermentasi BAL probiotik menggunakan 2 jenis isolat (*L. plantarum* B2 dan *L. acidophilus*). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 2 faktor. Faktor I yaitu jenis substrat (bekatul dan susu skim). Faktor II yaitu jenis isolat (*L. plantarum* B2 dan *L. acidophilus*). Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varians (ANOVA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan terbaik diperoleh pada jenis media bekatul yang difermentasi isolat BAL *L. plantarum* B2. Hasil perlakuan terbaik memiliki nilai total LAB sebesar  $3.35 \times 10^{10}$  cfu/mL, total asam sebesar 0.86%, pH sebesar 4.13, serat kasar sebesar 1.32%, total fenol sebesar 53.14 ppm, dan aktivitas antioksidan sebesar 86.41%.

Kata kunci: bekatul, bakteri asam laktat probiotik, antioksidan

**ABSTRACT**

Many cereal-based functional food products have been developed nowadays including probiotic and prebiotic products. Rice bran as a by product of rice milling mostly consists of insoluble fibers and antioxidants that potential for functional food products such as lactic acid bacteria (LAB) fermented products. This research was aimed to evaluate the increase in bioavailability of antioxidant of LAB-fermented (probiotic) rice bran and skim milk as well as to identify the most effective isolate of LAB to increase antioxidant bioavailability. The randomized block design with two factors (fermentation substrate: rice bran 16% and skim milk 16%; isolates: *L. plantarum* B2 and *L. acidophilus*) was applied. The experiment was conducted with three replications. The results showed that the best treatment was *L. plantarum* B2-fermented rice bran with total LAB of  $3.35 \times 10^{10}$  cfu/mL, total acid of 0.86%, pH of 4.13, insoluble fibers of 1.32%, total phenol of 53.14 ppm, and antioxidant activity of 86.41%.

Keywords: rice bran, skim milk, probiotic, antioxidant activity

**PENDAHULUAN**

Saat ini banyak dikembangkan produk pangan probiotik yang berbasis sereal. Pangan probiotik merupakan produk hasil fermentasi susu atau bahan baku lainnya dengan menggunakan bakteri probiotik, diantaranya bakteri asam laktat (BAL). Bakteri probiotik diketahui memiliki efek

kesehatan diantaranya mampu mencegah diare dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh.

Bekatul merupakan hasil samping proses penggilingan padi dengan kandungan serat pangan yang tinggi. Lebih dari 20% pada bekatul adalah serat pangan yang sebagian besar diantaranya tidak dapat larut (Anonymous, 2002a). Bekatul mengandung

antioksidan dalam jumlah besar seperti tokoferol, tokotrienol, orizanol dan fenolik (asam ferulat, vanilat dan kumarat). Senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan menghambat oksidasi lemak sampai 90% serta dapat mencegah berbagai penyakit (Anonymous, 2002b).

Lebih dari 1% antioksidan fenolik berikatan kovalen dengan serat tidak larut sehingga bioavailabilitasnya rendah. Antioksidan fenolik sulit untuk diekstrak karena banyak ikatan kovalen pada serat tidak larut bekatul dapat dihidrolisis oleh enzim mikrob (Miller, 2001). Bioavailabilitas antioksidan fenolik yang terikat pada serat tidak larut dapat ditingkatkan dengan memanfaatkan mikrob yang memiliki enzim untuk memetabolisme serat, diantaranya adalah bakteri asam laktat (probiotik). Bakteri asam laktat memiliki enzim hidrolitik untuk memetabolisme serat tidak larut (selulosa, hemiselulosa). Terlepasnya ikatan kovalen pada serat tidak larut bekatul menyebabkan bioavailabilitas antioksidan fenolik meningkat (Karppinen, 2003).

Beberapa isolat BAL indigenus dari bekatul berpotensi sebagai probiotik, diantaranya adalah *L. plantarum* B2 (Zubaidah dan Farida, 2006). Hasil uji kemampuan sebagai probiotik secara in vitro menunjukkan bahwa BAL indigenus memiliki kemampuan probiotik (ketahanan terhadap asam lambung, garam bile dan kemampuan menghambat bakteri patogen) yang lebih tinggi dibanding probiotik komersial *L. casei*. Selain itu BAL indigenus memiliki kecepatan pertumbuhan yang lebih tinggi dari BAL probiotik komersial *L. casei* dan *L. plantarum*. namun belum diketahui apakah memiliki kemampuan menghidrolisis serat, khususnya serat pada bekatul.

Pada penelitian ini digunakan juga susu skim sebagai media pembanding. Hal ini dikarenakan proses fermentasi oleh BAL umumnya menggunakan susu skim sebagai media fermentasi, serta membandingkan aktivitas antioksidan produk probiotik berbasis sereal dengan produk probiotik berbasis susu. Menurut Baublis (2000), susu skim mempunyai beberapa komponen yang berpotensi sebagai antioksidan, antara lain vitamin A, C, E, asam amino, polisakarida dan protein yang memiliki gugus sulfhidril.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bioavailabilitas antioksidan pada

bekatul dan susu skim yang terfermentasi BAL probiotik menggunakan 2 jenis isolat (*L. plantarum* B2 dan *L. acidophilus*).

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah isolat *L. plantarum* B2 dan *L. acidophilus* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan-Universitas Brawijaya, bekatul varietas IR 64 diperoleh dari penggilingan padi di kota Malang, susu skim, MRS Broth dan MRS Agar, pepton, alkohol 70%, aquades, spiritus, 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). Peralatan yang digunakan antara lain autoklaf (HL-36 AE Hiramaya, Jepang), inkubator (Binder BD53 Jerman), laminar air flow, pH meter (model pH-3C), spektrofotometer (Unico uv-2100 spectrophotometer),

### Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial, dengan 2 faktor, faktor 1. Jenis substrat (bekatul 16% dan susu skim 16%), faktor 2 Jenis isolat (*L. plantarum* B2 dan *L. acidophilus*) seluruh perlakuan diulang 3 kali. Data yang diperoleh diuji secara deskriptif.

### Pelaksanaan Penelitian

Bekatul lolos saringan 60 mesh disterilisasi pada suhu 121 °C selama 5 menit. Bekatul dan susu skim ditimbang masing-masing 16 gram kemudian ditambahkan akuades 100 mL, selanjutnya dipanaskan pada suhu 85 °C selama 10 menit sambil diaduk agar homogen. Masing-masing media fermentasi kemudian disterilisasi pada suhu 121 °C selama 10 menit, kemudian didinginkan hingga suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan starter *L. plantarum* B2 dan *L. acidophilus* pada masing-masing media sebanyak 2% (v/v) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 12 jam (sampai salah satu media fermentasi telah mencapai pH < 4.5).

Analisis dilakukan pada saat sebelum dan sesudah fermentasi, meliputi total bakteri asam laktat (Lay, 1994), total asam, pH dan serat kasar (AOAC dalam Soedarmadji et al., 1997), aktivitas antioksidan metode DPPH dan total fenol metode *Folin Ciocalteu*. Data dianalisis secara deskriptif, Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode ranking (Tabucanon, 1988).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Total BAL

Penggunaan media fermentasi yang berbeda antara bekatul dan susu skim berpengaruh terhadap pertumbuhan total BAL (*L. plantarum* B2 dan *L. acidophilus*) selama fermentasi. Pada media fermentasi bekatul, rerata total BAL *L. plantarum* B2 lebih tinggi dari pada rerata total BAL komersial *L. acidophilus* (Tabel 1). Hal tersebut nampak dari peningkatan jumlah BAL sebelum dan sesudah fermentasi. Isolat BAL *L. plantarum* B2 diduga lebih adaptif terhadap media bekatul karena merupakan bakteri indigenus dari bekatul tersebut. Beberapa mikroba yang diisolasi dari suatu media menunjukkan pertumbuhan yang lebih tinggi pada media habitatnya dan memiliki kemampuan metabolisme yang lebih tinggi karena enzim-enzim sudah beradaptasi dengan lingkungannya. Charalampopoulos *et al.* (2002) menyatakan bahwa kultur indigenus memiliki kecepatan pertumbuhan terhadap substrat sesuai habitatnya lebih cepat. Isolat BAL indigenus banyak diaplikasikan pada substrat sesuai asalnya, dan memiliki kemampuan metabolisme yang lebih kompetitif karena sudah beradaptasi dengan lingkungannya (Muller dan Wolin, 2000).

Isolat BAL *L. plantarum* B2 pada bekatul diduga lebih mampu memfermentasi media yang mengandung maltosa, sukrosa, glukosa dan fruktosa, dan umumnya terdapat pada tanaman, sesuai dengan habitat *L. plantarum*. Menurut Charalampopoulos *et al.* (2002) *L. plantarum* lebih menyukai pada media yang

mengandung maltosa, sukrosa, glukosa dan fruktosa. Yoshinaga (1997) menyatakan bahwa komponen gula sederhana pada bekatul yang utama adalah sukrosa, glukosa, maltosa dan maltotriosa.

Pada media susu, pada jam ke-12 *L. plantarum* B2 memiliki nilai total BAL yang lebih rendah dari *L. acidophilus* (Tabel 1). Hal ini diduga disebabkan media fermentasi susu merupakan habitat alami dari isolat BAL komersial *L. acidophilus*, sehingga diduga ada kecocokan dan kesesuaian nutrisi pada substrat sebagai sumber energi mikroba. Kecepatan pertumbuhan isolat BAL *L. plantarum* B2 pada media susu skim yang rendah diduga akibat keterbatasan bakteri tersebut dalam memanfaatkan sumber gula laktosa. Rosenberg (1999) menyatakan bahwa untuk menghasilkan energi, *Lactobacillus plantarum* memiliki kemampuan memecah karbohidrat kompleks lebih tinggi dari pada gula laktosa.

Penggunaan media fermentasi yang berbeda antara bekatul dan susu skim berpengaruh terhadap pertumbuhan total BAL (*L. plantarum* B2 dan *L. acidophilus*) selama fermentasi. Bekatul sebagai media fermentasi memberikan peningkatan total BAL yang lebih tinggi dibandingkan dengan media susu skim. Bekatul banyak mengandung vitamin B kompleks, beta karoten, vitamin C, D, dan mineral yang penting bagi pertumbuhan seperti kalsium, fosfat dan besi (Cheruvanky, 2003). Menurut Charalampopoulos *et al.* (2002), sereal memiliki kandungan vitamin, serat pangan dan mineral kecuali fosfor yang lebih tinggi

Tabel 1. Hasil analisa mikrobiologi dan kimiawi media bekatul dan susu skim terfermentasi isolat *L. plantarum* B2 dan *L. acidophilus* pada jam ke-0 dan jam ke-12

Jenis Media dan Isolat	Parameter Uji								
	Total BAL (cfu/ml)			Total Asam (%)			pH		
	Jam ke-0	Jam ke-12	Peningkatan	Jam ke-0	Jam ke-12	Peningkatan	Jam ke-0	Jam ke-12	Peningkatan
<b>Bekatul</b>									
<i>L. plantarum</i> B2	9.00x10 <sup>7</sup>	3.35x10 <sup>10</sup>	3.34x10 <sup>10</sup>	0.22	0.8589	0.6428	6.40	4.13	2.27
<i>L. acidophilus</i>	1.10x10 <sup>8</sup>	8.83x10 <sup>9</sup>	8.72x10 <sup>9</sup>	0.23	0.7883	0.5489	6.33	4.33	2.00
<b>Susu Skim</b>									
<i>L. plantarum</i> B2	5.10x10 <sup>7</sup>	9.50x10 <sup>8</sup>	8.99x10 <sup>8</sup>	0.26	0.3302	0.0630	6.20	5.50	0.70
<i>L. acidophilus</i>	8.90x10 <sup>7</sup>	3.77x10 <sup>9</sup>	3.68x10 <sup>9</sup>	0.29	0.3427	0.0493	6.00	5.33	0.67

dibandingkan susu. Menurut Gilliland (1986) golongan *Lactobacillus* memiliki kemampuan terbatas dalam menghidrolisis laktosa maupun protein dalam media susu. Kecepatan pertumbuhan *L. acidophilus* lebih tinggi pada medium bekatul dibanding medium susu, yaitu pada medium bekatul penurunan pH pada jam ke 12 sebesar 4.32, kenaikan total asam 1.05%, sedang pada media susu penurunan pH sebesar 5.91 dan kenaikan total asam sebesar 0.65% (Zubaidah dan Hudayah, 2006). Hal ini mengindikasikan bahwa *L. acidophilus* memiliki kemampuan memetabolisme laktosa lebih rendah dibanding sumber gula selain laktosa.

### Total Asam dan pH

Pada Tabel 1 terlihat bahwa setelah 12 jam fermentasi terjadi kenaikan total asam dan penurunan pH pada semua media fermentasi, baik bekatul maupun susu skim. Secara umum peningkatan total asam pada media bekatul lebih tinggi daripada media susu skim. Hal tersebut berkaitan dengan keberadaan total BAL dalam media fermentasi bekatul, yaitu semakin tinggi total BAL maka aktivitas metabolisme juga semakin tinggi sehingga akumulasi produk metabolit yang dihasilkan semakin banyak. Selama proses fermentasi, gula mengalami proses metabolisme menjadi asam-asam organik, diantaranya adalah asam laktat, sehingga semakin banyak BAL maka jumlah asam laktat yang dihasilkan semakin tinggi serta meningkatnya total asam media fermentasi.

Kultur BAL lebih banyak menggunakan glukosa daripada galaktosa sebagai sumber energi dalam proses metabolismenya. Selanjutnya, hasil hidrolisis laktosa diubah menjadi asam laktat melalui jalur *Emden Meyerhof* oleh bakteri homofermentatif (Gilliland, 1986). Menurut Jay (1992), *Lactobacillus acidophilus* dan *Lactobacillus plantarum* termasuk dalam bakteri asam laktat homofermentatif. Oleh karena itu kedua BAL tersebut dapat menghasilkan asam laktat sebagai metabolit primer.

Pada Tabel 1 terlihat bahwa rerata peningkatan total asam tertinggi adalah pada media bekatul dengan isolat BAL *L. plantarum* B2. Isolat BAL probiotik indigenus *L. plantarum* B2 diduga lebih adaptif terhadap media bekatul karena merupakan bakteri indigenus dari bekatul

tersebut, yang menunjukkan pertumbuhan tertinggi, sehingga menghasilkan total asam tertinggi pula. Peningkatan total asam merupakan salah satu akibat proses fermentasi yang terjadi karena adanya akumulasi asam laktat sebagai produk utama dari aktifitas bakteri BAL probiotik. Proses pertumbuhan sel diikuti dengan terbentuknya metabolit berupa asam laktat yang dihasilkan dari perombakan gula, protein dan asam-asam lain. Charalampopoulos *et al.* (2002) menyatakan bahwa asam laktat merupakan metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat sebagai hasil pemecahan gula-gula sederhana. Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL akan terekskresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam media fermentasi sehingga akan meningkatkan keasaman.

Penurunan pH pada media fermentasi disebabkan adanya akumulasi asam-asam organik yang dihasilkan oleh BAL selama proses fermentasi. Nilai pH yang terukur adalah konsentrasi ion hidrogen yang ada akibat asam-asam yang mengalami disosiasi, yang tergantung dari sifat-sifat asam organik yang dihasilkan oleh BAL. Penurunan pH pada media fermentasi sejalan dengan hasil analisis total asam sehingga dapat dikatakan bahwa aktivitas BAL dalam menghasilkan asam organik pada media fermentasi bekatul lebih tinggi daripada susu skim. Penurunan pH tersebut menunjukkan bahwa semakin lama fermentasi, semakin banyak asam-asam organik yang terakumulasi dalam media yang mengakibatkan terjadinya penurunan pH media.

Asam laktat yang dihasilkan oleh BAL akan terekskresikan keluar sel dan akan terakumulasi dalam media fermentasi sehingga akan meningkatkan keasaman. Peningkatan akumulasi asam dalam media fermentasi ini dapat diketahui dengan penurunan pH. Akumulasi asam laktat dan asam asetat yang dihasilkan melalui metabolisme bakteri asam laktat dapat menurunkan pH media fermentasi (Charalampopoulos *et al.*, 2002).

Jumlah dan jenis asam organik yang dihasilkan selama fermentasi bergantung pada spesies, komposisi media fermentasi dan kondisi pertumbuhan BAL (Lindgren dan Dobrogosz, 1990 dalam Yang, 2000). Pada media fermentasi bekatul, penurunan pH oleh isolat BAL indigenus asal bekatul



*L. plantarum* B2 lebih tinggi dibandingkan isolat BAL komersial *L. acidophilus*. Hal ini sesuai dengan hasil analisis total asam yang menyatakan *L. plantarum* B2 memiliki peningkatan total asam tertinggi pada jam ke-12. Tabel 1 juga memperlihatkan penurunan nilai pH pada media susu skim, pada jam ke-12 diketahui *L. acidophilus* memiliki penurunan lebih rendah dibanding *L. plantarum* B2. Hasil analisis ini sejalan dengan analisis total asam yang menyebutkan bahwa *L. acidophilus* memiliki peningkatan total asam yang lebih rendah dibanding *L. plantarum* B2.

### Serat Kasar

Pada media fermentasi susu skim, baik sebelum maupun sesudah fermentasi tidak mengandung serat, hal ini terjadi karena susu skim tidak mengandung serat kasar. Pada media bekatul, selama fermentasi terjadi penurunan kadar serat kasar sejalan dengan kenaikan total BAL, diduga semakin meningkat jumlah BAL semakin banyak BAL yang memanfaatkan serat untuk metabolisme sel. Karppinen (2003) menjelaskan, serat kasar dapat difermentasi oleh bakteri asam laktat meskipun kecepatan fermentasinya lebih lambat dari pada serat pangan larut. Hal ini disebabkan keterbatasan enzim hidrolitik pemecah serat pangan tidak larut. bakteri asam laktat memiliki kemampuan memfermentasi selulosa menjadi SCFA (*Short Chain Fatty Acid*). Pada media fermentasi bekatul penurunan kadar serat kasar oleh isolat BAL *L. plantarum* B2 lebih tinggi dibandingkan isolat BAL komersial *L. acidophilus* (Tabel 2). Hal ini sesuai dengan

hasil analisis total BAL yang menyatakan *L. plantarum* B2 memiliki peningkatan total BAL tertinggi pada jam ke-12.

### Total Fenol

Tabel 2 memperlihatkan peningkatan total fenol pada media bekatul yang difermentasi *L. plantarum* B2 lebih tinggi daripada *L. acidophilus*. Hasil analisis ini sejalan dengan analisis serat kasar yang menunjukkan isolat *L. plantarum* B2 memiliki kemampuan menurunkan serat kasar lebih tinggi. Kenaikan total fenol akibat fermentasi diduga adanya senyawa fenolik yang dibebaskan selama proses fermentasi bekatul.

Selama fermentasi terjadi peningkatan total fenol pada media fermentasi bekatul yang sejalan dengan analisis serat kasar, semakin tinggi penurunan kadar serat kasar semakin tinggi senyawa fenolik yang terdeteksi. Hal ini diduga disebabkan degradasi serat oleh BAL menjadi senyawa yang lebih sederhana, menyebabkan terlepasnya ikatan kovalen senyawa fenolik dengan serat tidak larut bekatul sehingga keberadaannya meningkat. Menurut Miller (2001), antioksidan fenolik sulit untuk diekstrak karena terikat pada serat tidak larut bekatul. Ikatan kovalen pada serat tidak larut bekatul dapat dihidrolisis oleh enzim mikrob. Terlepasnya ikatan kovalen pada serat tidak larut bekatul menyebabkan keberadaan antioksidan fenolik meningkat (Karppinen, 2003). Baublis (2000) menambahkan, modifikasi senyawa fenolik pada bekatul melalui pencernaan yang melibatkan mikrob memberi hasil yang berbeda terhadap bioavailabilitas dan aktivitas

Tabel 2. Hasil analisa serat kasar, total fenol dan aktivitas antioksidan media bekatul dan susu skim terfermentasi isolat *L. plantarum* B2 dan *L. acidophilus* pada jam ke-0 dan jam ke-12

Jenis Substrat dan Isolat	Jenis Uji								
	Serat (%)			Total Fenol (ppm)			Antioksidan (%)		
	Jam ke-0	Jam ke-12	Penu-runan	Jam ke-0	Jam ke-12	Pe-ningkatan	Jam ke-0	Jam ke-12	Peningkatan/ Penurunan
Bekatul									
<i>L. plantarum</i> B2	1.61	1.32	0.29	37.94	53.14	15.20	73.95	86.41	+12.46
<i>L. acidophilus</i>	1.65	1.43	0.22	34.68	44.53	9.85	71.74	82.52	+10.78
Susu Skim									
<i>L. plantarum</i> B2	0.00	0.00	0.00	4.07	4.18	0.11	36.89	28.48	-8.41
<i>L. acidophilus</i>	0.00	0.00	0.00	4.61	5.17	0.56	38.83	30.42	-8.41

antiosidannya. Hidrolisis polisakarida tak larut menyebabkan antioksidan fenolik terbebaskan sehingga bioavailabilitasnya akan meningkat. Menurut Dimberg *et al.* (1993), senyawa avenantramida-a merupakan grup antioksidan fenolik yg terdapat pada serealialia diantaranya adalah pada oat.

Menurut Miller (2001), antioksidan fenolik sulit untuk diekstrak karena terikat pada serat tidak larut bekatul. Ikatan kovalen pada serat tidak larut bekatul dapat dihidrolisis oleh enzim mikroba. Terlepasnya ikatan kovalen pada serat tidak larut bekatul menyebabkan bioavailabilitas antioksidan fenolik meningkat (Karppinen, 2003). Lebih dari 20% dari bekatul adalah serat pangan yang sebagian besar diantaranya tidak dapat larut dan tersusun atas selulosa dan hemiselulosa (Anonymous, 2002a). Komponen utama serat pangan dalam gandum meliputi arabinosil, selulosa,  $\beta$ -glukan, lignan, dan fruktan (De Man, 1997). Baublis (2000) menjelaskan bahwa polisakarida tak larut misalnya arabinosil terlewat dahulu dihidrolisis oleh enzim xilanase menghasilkan oligosakarida terferulasi lalu dihidrolisis lagi dengan enzim asam ferulat esterase menghasilkan asam ferulat bebas. Hidrolisis polisakarida tak larut menyebabkan antioksidan fenolik terbebaskan sehingga aktivitasnya akan meningkat. Menurut Kroon *et al.* (1993) asam ferulat terbebaskan dari ikatan kovalen dengan serat pada saat di usus besar.

Muller and Wollin (2000) menambahkan, lignan baru akan dimanfaatkan tubuh setelah dikonversi menjadi enterodiol dan enterolaktin oleh fermentasi bakteri di kolon. Berapapun banyaknya lignan yang terdapat pada saluran pencernaan tidak akan dimanfaatkan tubuh sebelum difermentasi oleh mikroba. Peran mikroba menjadi sangat penting untuk memodifikasi senyawa fenolik bekatul guna meningkatkan bioavailabilitas dan aktivitas antioksidan. Tabel 2 juga menunjukkan rerata total fenol pada media fermentasi susu skim jam ke-0 hingga jam ke-12 baik yang difermentasi *L. plantarum* B2 maupun yang difermentasi *L. acidophilus* tidak mengalami perubahan yang signifikan.

#### Aktivitas Antioksidan

Hasil analisis aktivitas antioksidan pada media fermentasi bekatul sejalan dengan analisis total fenol yaitu semakin

tinggi total fenol yang dilepaskan semakin tinggi aktivitas antioksidannya. Pada jam ke-0 diduga komponen yang terdeteksi memiliki aktivitas antioksidan meliputi tokoferol, tokotrienol, orizanol, beta karoten, protein bekatul yang memiliki gugus sulfhidril (sistin), asam amino seperti asam aspartat dan asam glutamat serta senyawa fenol yang masih terikat pada serat tidak larut.

Pada jam ke-12 terjadi peningkatan aktivitas antioksidan pada media fermentasi bekatul, hal ini diduga disebabkan adanya senyawa fenol yang terbebaskan akibat hidrolisis serat oleh bakteri asam laktat selama fermentasi sehingga aktivitas antioksidan fenolik meningkat. Baublis (2000) menjelaskan, asam ferulat bebas (senyawa fenolik) memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi setelah dihidrolisis oleh enzim mikroba dari polisakarida yang mengikatnya. Senyawa fenolik serealialia sebesar 74  $\mu$ g (0.2% dari fenolik terekstrak) memiliki aktivitas antioksidan dengan menghambat oksidasi lemak sampai 90%.

Pada media fermentasi susu skim, komponen yang berpotensi sebagai antioksidan adalah vitamin A, E, asam amino, dan protein yang memiliki gugus sulfhidril. Pada media fermentasi susu skim terjadi penurunan aktivitas antioksidan. Hal ini diduga antioksidan yang ada pada media fermentasi susu skim telah teroksidasi karena selama inkubasi masih terdapat oksigen di lingkungan fermentasi. Kondisi asam-asam organik yang dihasilkan selama fermentasi tergolong rendah (pH setelah fermentasi berkisar antara 5.33-5.50) sehingga kemampuan asam organik dalam meregenerasi dan menstabilkan vitamin E (antioksidan primer) juga rendah. Selain itu penurunan aktivitas antioksidan pada media fermentasi susu skim juga disebabkan karena gugus sulfhidril protein yang berpotensi sebagai antioksidan telah terdegradasi menjadi asam amino, yaitu asam amino tersebut sudah tidak memiliki aktivitas antioksidan lagi. Baublis (2000) menerangkan, sedikit yang diketahui tentang potensi antioksidan yang ada pada protein. Akan tetapi, selama protein tersebut mengandung gugus pereduksi sulfhidril maka protein tersebut mampu menangkap radikal bebas.

Tabel 2 memperlihatkan pada jam ke-12 peningkatan aktivitas antioksidan pada media fermentasi bekatul lebih tinggi dibanding media fermentasi susu skim.

Tabel 3. Pemilihan perlakuan terbaik

Ranking	Parameter				
	Total BAL (cfu/mL)	Total Asam (%)	pH	Total Fenol (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)
1	RP	RP	RP	RP	RP
2	RA	RA	RA	RA	RA
3	SA	SA	SA	SA	SA
4	SP	SP	SP	SP	SP

Keterangan: RP = Fermentasi bekatul dengan menggunakan *L. plantarum* B2  
 RA = Fermentasi bekatul dengan menggunakan *L. acidophilus*  
 SP = Fermentasi susu skim dengan menggunakan *L. plantarum* B2  
 SA = Fermentasi susu skim dengan menggunakan *L. acidophilus*

Hasil analisis ini sejalan dengan analisis total fenol, yaitu semakin tinggi total fenol yang dibebaskan maka aktivitas antioksidannya juga semakin tinggi.

#### Pemilihan Perlakuan Terbaik

Pemilihan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode ranking (Tabucanon, 1988) berdasarkan parameter pengujian total bakteri asam laktat, total asam, pH, total fenol dan aktivitas antioksidan pada jam ke 12 (Tabel 3). Perlakuan media bekatul terfermentasi *Lactobacillus plantarum* B2 merupakan perlakuan terbaik (Tabel 3), karena perlakuan ini menempati posisi ranking pertama dalam hal total BAL, total asam, total fenol, aktivitas antioksidan tertinggi, serta pH terendah.

#### SIMPULAN

Aktivitas antioksidan pada media fermentasi bekatul lebih tinggi daripada media fermentasi susu skim. Isolat BAL *L. plantarum* B2 memiliki kemampuan lebih tinggi dalam meningkatkan aktivitas antioksidan dibandingkan isolat BAL *L. acidophilus* pada media fermentasi bekatul. Perlakuan terbaik yang diperoleh yaitu perlakuan jenis media bekatul yang difermentasi isolat BAL *L. plantarum* B2. Hasil perlakuan terbaik memiliki nilai total BAL sebesar  $3.35 \times 10^{10}$  cfu/mL, total asam sebesar 0.86%, pH sebesar 4.13, serat kasar sebesar 1.32%, total fenol sebesar 53.14 ppm dan aktivitas antioksidan sebesar 86.41%.

#### DAFTAR PUSTAKA

Anonymous. 2002a. Stabilized Rice Bran. Dilihat tanggal 2 Februari 2004. <<http://www.lifestar.com/Pages/ricebran.html>>

Anonymous. 2002b. Stabilized Rice Bran as a Nutraceutical Food. Innovations in Food Technology. Diakses tanggal 2 Februari 2001. <<http://www.lifestar.com/Pages/ricebran.html>>

Baublis AJ. 2000. *Potential of Wheat-Based breakfast Cereals as Source of Dietary Antioxidants*. The American College of Nutrition, Massachusetts

Charalampopoulos D, Pandiella SS, and Webb C. 2002. Growth studies of potentially probiotik Lactic Acid bacteria in cereal-based substrates. *Journal of Applied Microbiology* 92: 851-859

Cheruvanky R. 2003. What is Rice Bran?. Technical Bulletin New generation Nutrition. Diakses tanggal 12 Februari 2004. <[http://www.moormans.com/equine/Tech.Bulletins/what is bran.htm](http://www.moormans.com/equine/Tech.Bulletins/what%20is%20bran.htm)>

De Man JM. 1997. *Kimia Makanan*. Penerjemah K. Patmawinata. Penerbit ITB, Bandung

Dimberg LH, Theander O, and Lingnert H. 1993. Avenanthramides-a group of phenolic antioxidants in oat. *Cereal Chemistry* 70: 637-64

Gilliland SE. 1986. *Bacteria Starter Culture for Food*. CRC Press Inc., New York

Jay JM. 1992. *Modern Food Microbiology*. Fourth Edition. Chapman & Hall, London

Karppinen S. 2003. Dietary Fiber Component of Rye Bran and Their Fermentation *In Vitro*. Dissertation. Faculty of Science, Department of Bioscience, Divisions of Biochemistry, University of Helsinki, Finlandia

Kroon PA, Faulds CB, Ryden P, Robertson JA, and Williamson G. 1997. Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon. *J. Agric. Food Chem.* 45: 661-667

- Lay BW. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta
- Miller G. 2001. Grain for the health: health effects of newly recognized grain constituent-antioxidants, phenolics, lignans, and phytochemicals. *Journal of the American College of Nutrition* 19: 312S-319S
- Muller TL and Wolin JM. 2000. Pathway of acetate, propionate, and butyrate formation by the human fecal microbial flora. *Applied and Environmental Microbiology Journal* 66: 1589-1592
- Rosenberg CK. 1999. *Probiotics Continuing Education Module*. New Hope Institute of Retailing, Kenmore
- Sudarmadji S, Haryadi, dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Liberty, Yogyakarta
- Tabucanon MT. 1988. *Multiple Criteria Decision Making in Industry*. Elsevier Science Publishers.
- Yang Z. 2000. *Antimicrobial Compound and Extracellular Polysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: Structures and Properties*. Dissertation. Dept. of Food Technology, University of Helsinki, Finlandia
- Yoshinaga K, Nagata H, Kobayashi, Takashi J. 1997. Comparison of free sugar content of rice kernels among varieties and cropping seasons, and changes in the free Sugar content by cooking. 1997. *Bulletin of the Shikoku National Agricultural Experiment Station* 61: 99-105
- Zubaidah E dan Farida. 2006. Isolasi, karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Asam Laktat indigenus asal bekatul. *Prosiding Seminar Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*, Yogyakarta
- Zubaidah E dan Hudayah N. 2006. Kecepatan pertumbuhan isolat BAL indigenus dan komersial pada medium bekatul dan susu skim. Laporan Penelitian Hibah Bersaing, LPPM, Universitas Brawijaya, Malang