PENGARUH FERMENTASI TERHADAP TOTAL FENOLIK, AKTIVITAS PENGHAMBATAN RADIKAL DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK TEPUNG BIJI TERATAI (*Nymphaea pubescens* Willd.)

(Effect of Fermentation on Total Phenolic, Radical Scavenging Activity and Antibacterial Activity of Waterlily (*Nymphaea pubescens* Willd.) Seed Flour Extract)

Nazarni Rahmi¹⁾, Nadra Khairiah¹⁾, Rufida¹⁾, Sri Hidayati¹⁾, Anton Muis²⁾

¹⁾Baristand Industri Banjarbaru, Jl. Panglima Batur Barat No. 2 Banjarbaru, 70711, Indonesia

²⁾Baristand Industri Manado, Jl. Diponegoro No. 21-23, Manado, 95112, Indonesia

e-mail: nazarni.rahmi@gmail.com

Diterima 05 September 2019, Revisi akhir 25 November 2019, Disetujui 11 Maret 2020

ABSTRAK. Tepung biji teratai dibuat dari biji teratai matang yang dihaluskan. Tepung ini biasa digunakan sebagai bahan kue dan makanan lokal khas Kalimantan Selatan. Biji teratai mempunyai khasiat antidiare dan memiliki beberapa sifat fungsional lainnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh fermentasi terhadap total fenolik, aktivitas antiradikal dan antibakteri pada tepung biji teratai. Biji teratai dihaluskan, diayak dengan ayakan 60 mesh dan difermentasi menggunakan *L. plantarum* JBSxH.6.4, BIMO-CF dan fermentasi spontan, masing-masing selama 48 jam. Hasil fermentasi ditiriskan, dikeringkan dan diekstrak menggunakan pelarut etil asetat dan air dengan perbandingan 70:30. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dan ditentukan total fenolik dengan metode Folin-ciocalteu, aktivitas penghambatan radikal menggunakan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dan antibakteri dengan metode difusi agar. Selanjutnya, hasil ini dibandingkan dengan perlakuan tanpa fermentasi. Hasil pengujian menunjukkan terjadi peningkatan kandungan total fenolik $70,52 \pm 0,53$ menjadi $99,82 \pm 0,60$ mg/g GAE, aktivitas penghambatan radikal $80,37 \pm 0,89$ menjadi $87,64 \pm 0,68\%$ dan aktivitas antibakteri yang ditunjukkan oleh penghambatan terhadap bakteri *E. coli*, *Salmonella* dan *S. aureus*. Fermentasi mampu meningkatkan kandungan total fenolik dan aktivitas biologis pada tepung teratai, sehingga berpotensi digunakan sebagai bahan pangan fungsional.

Kata kunci: antibakteri, biji teratai, DPPH, fermentasi, total fenolik

ABSTRACT. Waterlily seed flour is made from mature grinded waterlily seed. The flour is commonly used as cake and local food ingredient of South Borneo. Waterlily seeds have antidiarrheal and other functional properties. This study aimed to determine the effect of fermentation on total phenolic, antiradical and antibacterial activity in waterlily seed flour. Seeds were grinded, sifted through 60 mesh screen and fermented using *L. plantarum* JBSxH.6.4, BIMO-CF and spontaneous fermentation for 48 hours respectively. The fermented products were drained, dried and extracted using ethyl acetate and water solution with 70:30 ratio. The extract obtained was evaporated and determined its total phenolic by the Folin-ciocalteu method, antiradical activity using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and antibacterial by agar diffusion method. Furthermore, they were compared with the unfermented one. The results showed the increasing of total phenolic from 70.52 ± 0.53 to 99.82 ± 0.60 mg/g GAE, antiradical activity from 80.37 ± 0.89 to $87.64 \pm 0.68\%$ and antibacterial activity which indicate by the inhibition of *E. coli*, *Salmonella* and *S. aureus*. Fermentation in waterlily flour increased the total phenolic content and its biological activity, so it has the potential to be used as functional food.

Keywords: antibacterial, DPPH, fermentation, total phenolic, waterlily seed

1. PENDAHULUAN

Tanaman teratai merupakan tanaman air yang tersebar luas dan merata di seluruh dunia,

baik daerah gersang di Afrika maupun dingin di Eropa. Diperkirakan terdapat 40 spesies dan 200 varietas teratai di dunia (Fitrial & Khairina, 2011).

Habitat asli teratai adalah rawa-rawa atau sungai yang tidak terlalu dalam dan berair tenang (Ismuhajarah *et al.*, 2016). Tanaman ini tumbuh hampir di seluruh daerah rawa di Kalimantan Selatan. Potensi penyebaran tanaman ini cukup besar mengingat luas daerah rawa di Indonesia mencapai 33,43 juta ha dengan lahan rawa potensial di Kalimantan Selatan yang mencapai 500.000 ha (Haryono, 2013).

Teratai telah lama digunakan sebagai bahan baku pangan tradisional dan obat-obatan. Namun, tidak semua jenis teratai dapat dikonsumsi. Biji teratai putih (*Nymphaea pubescens*) adalah jenis teratai yang banyak dimanfaatkan sebagai tepung untuk pembuatan kue tradisional di Kalimantan (Fitrial & Khairina, 2011), roti di Filipina dan India, serta jenang di Tuban (Marianto, 2001; Sastrapradja & Bimantoro, 1981). Tepung biji teratai berpotensi sebagai bahan pangan pengganti beras dan gandum karena kandungan pati yang mencapai 63,03% (Fitrial & Khairina, 2011). Selain itu, nilai nutrisi biji teratai juga cukup baik, Fitrial & Khairina (2011) menyebutkan komposisi kimia biji teratai meliputi karbohidrat 88,36% (bk), protein 10,39% (bk), lemak 0,58% (bk) dengan serat pangan total mencapai 7,98% (bk).

Biji teratai juga mengandung senyawa fitokimia seperti alkaloid, saponin, tanin, glikosida, flavonoid, steroid dan triterpenoid. Senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan antibakteri yang tinggi. Hal ini didukung dengan kemampuan biji teratai dan ekstrak etil asetat biji teratai dalam mencegah dan menghambat pertumbuhan bakteri patogen penyebab diare (EPEC K.1.1) (Fitrial *et al.*, 2008). Meskipun demikian, biji teratai juga mempunyai kandungan senyawa anti nutrisi dan kualitas organoleptik yang rendah (*grassy flavour*) sehingga membatasi pemanfaatannya dalam industri pangan. Beberapa perlakuan dapat digunakan untuk mengeliminasi kekurangan tersebut, seperti proses germinasi, kimia dan fermentasi.

Fermentasi mampu meningkatkan viskositas, kemampuan gelatinisasi, daya rehidrasi dan kemudahan melarut dalam tepung. Menurut Aini, Wijonarko & Sustriawan (2016), fermentasi mampu menurunkan suhu puncak dan waktu gelatinisasi pada tepung jagung. Penelitian Pranoto, Anggrahini & Efendi (2013) juga melaporkan adanya kenaikan protein dan pati tercerna pada sorgum yang difermentasi dengan *L. plantarum*. Selain itu, penambahan mikroba pada tepung-tepungan dapat memperbaiki kualitas tepung, seperti penambahan bakteri asam laktat

(BAL) yang akan meningkatkan pengembangan roti (Gerez, Rollán & De Valdez, 2006). Namun, mikroba yang berkontribusi saat fermentasi juga dapat menghasilkan asam-asam organik yang dapat menutupi aroma dan cita rasa sepat yang cenderung tidak disukai konsumen. Selain itu, fermentasi dapat menghilangkan komponen penimbul warna, dan protein pada mocaf sehingga menghasilkan warna tepung yang lebih putih (Husniati & Widhyastuti, 2013).

Di sisi lain, fermentasi mampu meningkatkan aktivitas biologis produk fermentasi. Rahmi, Harmayani, Santosa & Darmadji (2016) menyebutkan *L. plantarum* yang diisolasi dari fermentasi jarak tigarun dapat meningkatkan senyawa fenolik, aktivitas antiradikal dan antibakteri pada produk pangan karena kemampuannya dalam menghidrolisis komponen fitokimia. Menurut Tamang *et al.* (2016), transformasi yang terjadi selama fermentasi dapat menghasilkan komponen antioksidan dan antimikroba serta memperkaya komponen bioaktif yang menyehatkan. Penelitian Fitrial *et al.* (2008) menunjukkan kandungan fitokimia pada biji teratai dapat menghambat bakteri penyebab diare. Setelah fermentasi, kandungan fitokimia ini sangat mungkin bertransformasi menghasilkan komponen yang lebih aktif. Rodríguez *et al.* (2009) melaporkan hasil hidrolisis senyawa fitokimia seperti tanin dan flavonoid akan menghasilkan monomer fenolik yang lebih tinggi dengan memutus ikatan glikosida kemudian melepaskan aglikon yang lebih aktif secara biologis.

Starter *L. plantarum* JBSxH.6.4 merupakan isolat BAL dari jarak tigarun yang mempunyai aktivitas tannase, β -glukosidase dan galat dekarboksilase (Nazarni, 2016), sedangkan *Biological Modified Cassava Flour* (BIMO-CF) merupakan starter mocaf yang terdiri dari berbagai campuran BAL dan khamir dalam bentuk bubuk serta diperkaya dengan nutrisi (Yulifianti & Ginting, 2012). Penggunaan starter *L. plantarum* dan BIMO-CF maupun fermentasi spontan (BAL *indigenus*) untuk proses fermentasi tepung biji teratai diharapkan dapat mereduksi keterbatasan sifat fisik, kimia dan organoleptik tepung biji teratai. Peningkatan juga diharapkan pada aktivitas biologis dalam hal ini aktivitas penghambatan radikal dan antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh fermentasi menggunakan starter *L. plantarum*, BIMO-CF dan fermentasi spontan terhadap kandungan total fenolik, aktivitas penghambatan radikal dan antibakteri pada tepung biji teratai. Dengan

demikian, proses fermentasi terpilih nantinya dapat meningkatkan manfaat dan nilai jual tepung biji teratai sebagai salah satu bahan pangan fungsional.

2. METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah biji teratai putih yang diperoleh dari daerah hulu Sungai Utara, Kalimantan Selatan. Bakteri *Lactobacillus plantarum* (JBSxH.6.4) yang diperoleh dari hasil isolasi jaruk tigarun, kultur mocaf BIMO-CF, bakteri patogen *E. coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 0363 P. Media dan bahan kimia *analytical grade* antara lain etanol, etil asetat, metanol, akuades, 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl/ DPPH (Sigma), reagen Folin Ciocalteu (Sigma), standar Asam galat (Sigma), *Buffered pepton water* (Merck), *Nutrient Broth* (Oxoid), dan *Nutrient Agar*.

Alat yang digunakan meliputi *rotary evaporator* (Buchi), oven (Mettler), inkubator (Mettler ICP-500), *Autoclave* (TOMY SX-500), spektrofotometer UV-vis (Shimadzu UV 1800), timbangan digital CHQ DJ 1002B), *Hotplate* (Dragon lab MS-H-Pro), *blank disc* (Oxoid), mikropipet (*Eppendorf*) dan alat-alat gelas.

Preparasi dan Fermentasi Biji Teratai

Biji teratai dikeringkan dan ditumbuk untuk menghilangkan kulit luarnya. Biji yang sudah terkelupas kulitnya dihaluskan dengan cara digiling dan diayak sampai diperoleh tepung halus (ukuran 60 mesh). Selanjutnya, tepung difermentasi dengan tiga cara yaitu secara spontan atau alami, penambahan starter BIMO-CF dan penambahan kultur starter *L. plantarum*. Fermentasi spontan dilakukan dengan cara mencampurkan 50 g tepung biji teratai dan akuades dengan perbandingan 1:2 (b/v) dalam wadah kaca dan diinkubasi pada suhu 36 ± 1 °C selama 72 jam. Fermentasi dengan penambahan kultur starter dilakukan sesuai metode Pranoto *et al.* (2013) dan Aini *et al.* (2016) dengan sedikit modifikasi. Kultur starter *L. plantarum* dan BIMO-CF yang telah di remajakan (umur 24 jam; $\pm 1,0 \times 10^9$ CFU/mL) ditambahkan sebanyak 10% kedalam campuran tepung biji teratai dan akuades dengan perbandingan 1:2 (b/v). Masing-masing diinkubasi pada suhu 36 ± 1 °C selama 72 jam. Setelah inkubasi, sampel tepung ditiriskan dan dikeringkan dengan sinar matahari selama 7 jam, dilanjutkan dalam pengering kabinet pada suhu 60 °C selama 24 jam. Sampel yang telah kering dihaluskan

kembali dan diayak dengan ayakan 60 mesh kemudian disimpan dalam kantong polietilen pada suhu 4°C hingga dianalisis. Sampel berupa tepung biji teratai tanpa perlakuan juga dibuat sebagai pembanding.

Penentuan Komposisi Kimia/ Proksimat.

Sampel tepung masing-masing diuji kadar proksimat dengan metoda uji SNI 01-2891-1992 tentang cara uji makanan dan minuman.

Penentuan Total Fenolik

Sampel tepung diekstrak dengan etil asetat dan akuades (3:1) sesuai prosedur dari Fitriani *et al.* (2008) dan ditentukan kadar senyawa fenolik menggunakan pereaksi *Folin-ciocalteu* mengikuti metoda Yen & Hung (2000) dengan sedikit modifikasi. Satu mL ekstrak ditambahkan ke dalam 2 mL larutan Na_2CO_3 konsentrasi 2%. Setelah tiga menit, larutan tersebut ditambahkan 0,1 mL reagen *Folin-ciocalteu* konsentrasi 50%. Kemudian, absorbansi diukur pada panjang gelombang 750 nm setelah 30 menit. Hasil ditunjukkan dalam mg/g ekuivalen asam galat.

Penentuan Aktivitas Penghambatan Radikal DPPH

Penentuan aktivitas penghambatan radikal dengan metoda DPPH (Sreeramulu & Raghunath, 2010) dengan sedikit modifikasi sebagai berikut, sebanyak 100 µL ekstrak sampel uji ditambah 2,9 mL reagen DPPH (0,1 mM dalam metanol) dan divortex merata. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar dalam ruang gelap selama 30 menit. Perubahan warna DPPH diukur pada panjang gelombang 517 nm. Persentase hambatan dari ekstrak dihitung dengan persamaan (1) berikut :

% inhibisi =

$$\frac{\text{Absorbansi blanko DPPH} - \text{Absorbansi sampel uji}}{\text{Absorbansi blanko DPPH}} \times 100\% \dots (1)$$

Penentuan Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri sebagai skrining awal dilakukan dengan teknik difusi kertas cakram sesuai metode CLSI (Cockerill *et al.*, 2012). Biakan bakteri patogen *E. coli*, *S. typhimurium* dan *S. aureus* yang telah diremajakan (umur 24 jam) dipindahkan dalam media 20 mL *Nutrient Broth* (NB) dan diinkubasi 24 jam. Sebanyak 1 mL masing-masing kultur bakteri uji (sekitar $1,0 \times 10^6$ CFU/mL), diinokulasi kedalam 100 mL *Nutrient Agar* (NA), digoyang sampai homogen dan dituang ke dalam petri, kemudian ditunggu sampai media

mengeras. Kertas cakram steril diameter 6 mm dicelup dengan ekstrak biji teratai, dikeringanginkan dan diletakkan dalam petri berisi masing-masing kultur uji. Larutan antibiotik kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif dan larutan akuades sebagai kontrol negatif. Inkubasi dilakukan selama 24-48 jam pada suhu 37 °C. Terbentuknya zona jernih pada kultur di petri menunjukkan adanya aktivitas antibakteri.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Proksimat Tepung Biji Teratai

Biji teratai yang tidak difermentasi mempunyai kandungan karbohidrat sebesar 55,81% bk, protein 7,04% dan lemak 0,14% (Tabel 1). Secara umum, fermentasi meningkatkan kandungan karbohidrat, protein dan lemak pada tepung biji teratai. Kenaikan karbohidrat tertinggi terdapat pada tepung biji teratai yang difermentasi dengan starter BIMO-CF, diikuti oleh starter *L. plantarum* dan fermentasi spontan. Meningkatnya

kandungan karbohidrat diduga karena hidrolisis serat kasar menjadi molekul sederhana mono dan disakarida oleh bakteri selulolitik. Tabel 1 menunjukkan terjadi penurunan yang cukup besar terhadap kandungan serat kasar awal (tanpa fermentasi) dan setelah difermentasi. Serat pada tanaman dapat berupa komponen dinding sel tanaman yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa, pektin, lignin dan mucilage (Agus, 2011). Menurut Subagio (2006), mikrobia penghasil selulolitik mampu menghancurkan dinding sel yang menyebabkan terjadinya liberasi granula pati. Selain itu, biokonversi selulosa juga menghasilkan disakarida dan monosakarida larut. Mikroorganisme penghasil selulolitik seperti bakteri, fungi dan Actinomycetes juga menghasilkan enzim-enzim yang memecah pati menjadi gula sederhana dan selanjutnya memetabolisme gula sederhana menjadi asam-asam organik seperti asam laktat (Husniati & Widhyastuti, 2013).

Tabel 1. Komposisi kimia tepung biji teratai

Komposisi kimia %	Tanpa fermentasi	Fermentasi spontan	Fermentasi BIMO-CF	Fermentasi <i>L. Plantarum</i>
Karbohidrat	55,81	61,33	73,43	65,06
Protein	7,04	8,26	8,15	8,55
Lemak	0,14	0,63	0,79	0,30
Kadar abu	0,71	0,54	0,59	0,27
Serat kasar	47,02	9,20	9,77	8,31
Kadar air	13,70	8,44	8,26	8,29

Meningkatnya kadar protein setelah fermentasi pada semua perlakuan diduga berhubungan dengan terbentuknya protein sel tunggal dari mikroorganisme yang terlibat dalam fermentasi. Hal ini sejalan dengan penelitian Husniati dan Widhyastuti (2013) yang menyatakan kenaikan protein pada tepung mocaf disebabkan oleh terikutnya sel mikroba yang berperan selama fermentasi. Fermentasi juga dapat meningkatkan protein tercerna karena terjadinya hidrolisis protein dan tanin akibat aktivitas proteolisis yang menghasilkan peptida dan asam amino (Pranoto *et al.*, 2013). Seperti yang disebutkan sebelumnya biji teratai mengandung tanin, flavonoid dan polifenol (Fitrial & Khairina, 2011) yang dapat membentuk kompleks dengan protein. (Duodu *et al.*, 2003) menyebutkan flavonoid dan senyawa fenolik mengandung gugus hidroksil yang dapat berinteraksi dengan protein dan membentuk kompleks. Menurut Dallagnol & Pescuma (2012); Osawa *et al.* (2000); Rodríguez *et al.* (2009) BAL golongan *L. plantarum* pada fermentasi gandum,

quinoa dan sayuran mempunyai aktivitas proteolitik dan tannase. Tannase akan memecah kompleks tanin dan protein, sehingga hidrolisis dapat terjadi. Kemudian, proteolisis akan memecah ikatan peptida lebih lanjut menjadi unit yang lebih kecil menghasilkan peptida dan asam amino yang lebih banyak. Aktivitas ini yang mungkin menyebabkan kadar protein pada tepung yang difermentasi dengan *L. plantarum* lebih tinggi dibanding dengan fermentasi lainnya.

Kenaikan kadar lemak pada tepung biji teratai setelah fermentasi diduga karena ada sintesis atau produksi lemak oleh mikroorganisme terutama khamir. Seperti halnya kadar protein, meningkatnya kadar lemak berhubungan dengan terbentuknya minyak sel tunggal. Menurut Adrio (2017), kemampuan lipogenesis ini paling banyak terjadi pada golongan khamir yaitu *Oleaginous yeast*. Golongan khamir ini mampu menghasilkan dan mengakumulasi lemak lebih dari 20% berat kering selnya (Ratledge, 2004). *Oleaginous yeast* mampu mengalihkan aliran karbon dari produksi

energi menjadi sintesis lemak dalam medium yang mengandung berbagai sumber karbon melimpah termasuk gula asal lignoselulosa yang minim nitrogen (Adrio, 2017; Ratledge, 2004). Lebih lanjut disebutkan lemak yang dihasilkan berupa trigliserida dan asam-asam lemak yang mirip dengan lemak kakao (Akindumilat & Roy, 1998). Fermentasi pangan asal tanaman seperti sayur, sereal, biji-bijian dan buah umumnya didominasi oleh *yeast* dan BAL (Mugula *et al.*, 2003; Pranoto *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2009). Kelompok mikroorganisme ini bekerja secara sinergis dalam menghidrolisis kompleks protein dan karbohidrat yang menghasilkan komponen sederhana termasuk senyawa volatil dan asam bahkan mensintesis senyawa fungsional tertentu. Beberapa kelompok *Oleaginous yeast* antara lain adalah *Y. lipolytica*, *L. starkey*, *R. toruloides*, *Rhodotorula glutinis*, *Trichosporon fermentans*, dan *Cryptococcus curvatus* (Adrio, 2017). *Apiotrichum curvatum* (*Candida curvata*) merupakan salah satu khamir yang mampu mengakumulasi lemak dalam bentuk droplet minyak intraselular sebanyak 60% dari berat kering selnya (Akindumilat & Roy, 1998). Meski dalam penelitian ini tidak menghitung dan mengidentifikasi jenis khamir yang terlibat selama fermentasi, namun diduga ada keterlibatan jenis *yeast* penghasil minyak sel tunggal tersebut. Seperti yang dilaporkan Akindumilat & Roy (1998); Vega, Glatz & Hammond (1988) bahwa *Apiotrichum curvatum* juga mampu menghasilkan lemak/minyak pada fermentasi pangan asal tanaman seperti jus tomat dan jus pisang.

Kadar abu pada semua perlakuan terhadap tepung biji teratai menurun setelah fermentasi. Kadar abu sebelum fermentasi adalah 0,71% kemudian menurun dengan kisaran 0,59-0,27% setelah fermentasi (Tabel 1). Penurunan kadar abu pada tepung diperkirakan bukan karena proses

fermentasi namun akibat proses pelepasan sebagian mineral dalam air perendaman saat fermentasi. Hal ini sejalan dengan penelitian Aini *et al.* (2016) yang menyatakan kadar abu pada tepung jagung yang difermentasi BAL turun karena proses pelepasan mineral saat perendaman.

Kadar air tepung biji teratai setelah di fermentasi turun dari 13,70% menjadi kisaran 8,29–8,44%. Turunnya kadar air pada tepung disebabkan selama fermentasi terjadi hidrolisis karbohidrat, protein dan senyawa organik lainnya oleh enzim-enzim mikroba yang merubah komponen air terikat menjadi air bebas. Air bebas yang terbentuk ini akan mudah menguap saat proses pengeringan tepung, sehingga kadar air menjadi turun. Hal ini juga sejalan dengan penelitian Syahputri & Wardani (2015) yang menyebutkan terjadi penurunan kadar air tepung jali yang difermentasi dengan ragi tape.

Kandungan Total Fenolik

Ekstrak biji teratai yang tidak difermentasi mengandung total fenolik sebesar $70,52 \pm 0,53$ mg/g GAE (Tabel 2). Setelah difermentasi terjadi kenaikan total fenolik berturut-turut dari fermentasi dengan BIMO-CF, fermentasi spontan kemudian diikuti fermentasi dengan *L. plantarum* JBSxH.6.4. Ekstrak tepung yang difermentasi dengan BIMO-CF menunjukkan kenaikan tertinggi sebesar $99,82 \pm 0,60$ mg/g GAE, atau terjadi kenaikan sekitar 29,35%. Fermentasi spontan dan fermentasi *L. plantarum* menunjukkan kenaikan berturut-turut sebesar 19,4% dan 5,49%. Hal ini menunjukkan bahwa proses fermentasi mampu meningkatkan kandungan total fenolik pada tepung biji teratai. Hal yang sama juga ditemui pada jus mulberi yang difermentasi dengan BAL (Kwaw *et al.*, 2018).

Tabel 2. Total fenolik dan aktivitas penghambatan radikal DPPH dari ekstrak tepung teratai

Perlakuan	Total fenolik (mg/ gr GAE)	Penghambatan radikal DPPH (%)
Tanpa fermentasi	$70,52 \pm 0,53$	$80,37 \pm 0,89$
Fermentasi spontan	$87,53 \pm 4,56$	$85,61 \pm 3,44$
Fermentasi dengan BIMO-CF	$99,82 \pm 0,60$	$87,64 \pm 0,68$
Fermentasi dengan <i>L. plantarum</i> JBSxH.6.4	$74,62 \pm 0,00$	$83,68 \pm 2,24$

Kenaikan total fenolik pada biji teratai yang telah difermentasi terkait erat dengan aktivitas metabolisme dari mikroba selama fermentasi yang mampu memodifikasi komponen bioaktif seperti kelompok polifenol, tanin dan flavonoid. Keberadaan BAL dalam fermentasi berkontribusi

terhadap konversi fenolik kompleks menjadi sederhana dan depolimerisasi fenolik yang memiliki berat molekul tinggi (Othman *et al.*, 2009). Penelitian Kwaw *et al.* (2018) menyebutkan terjadi kenaikan jumlah asam fenolik sederhana seperti asam siringat, asam galat dan asam ferulat

pada jus mulberi yang difermentasi dengan BAL. Hal ini berhubungan dengan konversi fenolik kompleks menjadi bentuk bebas dan depolimerisasi komponen fenolik oleh fenol oksidase dari BAL (Jin *et al.*, 2014). BAL jenis *L. plantarum* dilaporkan mempunyai kemampuan memetabolisme dan mendegradasi beberapa komponen fenolik (Rodríguez *et al.*, 2009) dan mempunyai aktivitas tannase yang mampu mendegradasi tanin/asam tanat menjadi asam galat dan pirogalol (Osawa *et al.*, 2000), serta mempunyai aktivitas β -glukosidase yang dapat menghidrolisis fenolik dan flavonoid dengan memotong gugus gula dan menghasilkan aglikon yang lebih aktif (Wijayanti *et al.*, 2017). Bakteri *L. plantarum* JBSxH.6.4 merupakan isolat BAL dari jaruk tigarun yang telah terbukti mempunyai aktivitas tannase, galat dekarboksilase dan β -glukosidase (Nazarni, 2016).

Fermentasi dengan starter BIMO-CF dan fermentasi spontan menunjukkan kandungan total fenolik yang lebih tinggi dibanding dengan fermentasi menggunakan kultur tunggal *L. plantarum* JBSxH.6.4. Hal ini karena starter BIMO-CF dan fermentasi spontan mengandung konsorsium mikroorganisme yang bekerja sinergis menghidrolisis dinding sel sekaligus sintesis komponen bioaktif dengan berat molekul yang lebih rendah. Selain menginduksi pecahnya dinding sel yang menyebabkan terlepasnya berbagai komponen bioaktif, selama fermentasi senyawa fenolik yang terikat juga akan dilepaskan secara enzimatis (Zhang *et al.*, 2012). Đorđević *et al.*, (2010) menyebutkan keterlibatan khamir dan BAL yang mampu meningkatkan kandungan fenolik dalam fermentasi sereal, sedangkan (Cai *et al.*, 2012) melaporkan keterlibatan kapang *A. oryzae* dan *A. niger* yang mampu meningkatkan kandungan fenolik dalam fermentasi *oat*. Lebih lanjut disebutkan bahwa kedua kapang tersebut juga menghasilkan enzim-enzim seperti glukosida hidrolase, selulase/silanase dan esterase yang bekerja dengan memutus ikatan dinding sel dan melepaskan nutrisi dan gugus fenolik terikat. Komponen bioaktif yang lepas selanjutnya dikonversi menjadi molekul yang lebih sederhana dan aktif. Kecenderungan kenaikan total fenolik setelah difermentasi juga ditemui juga pada fermentasi sereal (Đorđević *et al.*, 2010), *oat* (Cai *et al.*, 2012), jaruk tigarun (Nazarni *et al.*, 2016), jus buah ara (Wijayanti *et al.*, 2017), dan herbal *A. formosanus* (Ng *et al.*, 2011).

Aktivitas Penghambatan Radikal DPPH

Aktivitas penghambatan radikal dari ekstrak tepung biji teratai ditunjukkan dalam bentuk persen hambatan terhadap radikal DPPH. Metode pengujian dengan DPPH merupakan salah satu cara untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari suatu sampel. Metode ini banyak digunakan karena relatif mudah dan praktis (Đorđević *et al.*, 2010). Tabel 2 menunjukkan penghambatan terhadap radikal DPPH berkisar antara $80,37 \pm 0,89$ hingga $87,64 \pm 0,68\%$. Secara umum terlihat bahwa fermentasi ternyata meningkatkan aktivitas penghambatan radikal DPPH. Fermentasi dapat menginduksi kerusakan struktur dinding sel sehingga komponen fenolik yang terikat pada dinding sel terlepas kemudian melalui proses enzimatis menjadi bebas atau bahkan disintesis menjadi berbagai komponen bioaktif yang dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Đorđević *et al.*, 2010; Jin *et al.*, 2014). Meningkatnya aktivitas penghambatan radikal setelah di fermentasi juga ditemui pada jus pepaya dan kubis merah yang di fermentasi dengan *L. plantarum* (Chen *et al.*, 2018; Hunaefi *et al.*, 2013) dan sereal yang difermentasi dengan *L. rhamnosus* (Đorđević *et al.*, 2010).

Aktivitas penghambatan tertinggi ditemukan pada ekstrak biji teratai yang difermentasi dengan starter BIMO-CF diikuti oleh fermentasi spontan dan fermentasi dengan *L. plantarum* JBSxH.6.4. Terlihat bahwa fermentasi dengan kultur campuran memberikan aktivitas penghambatan yang lebih baik dibanding dengan kultur tunggal. Hal ini diduga terkait dengan efek sinergis dari kultur campuran, seperti fenomena total fenolik sebelumnya. Konsorsium mikroorganisme bekerja simultan dengan menghidrolisis dinding sel dan mensintesa senyawa yang lebih aktif secara biologis. Selain itu spesies mikroorganisme yang digunakan sebagai starter sangat berpengaruh terhadap perubahan senyawa bioaktif dan aktivitas antioksidan setelah fermentasi (Wijayanti *et al.*, 2017). Meningkatnya aktivitas antioksidan pada makanan fermentasi berbasis tanaman menurut Jin *et al.* (2014) dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti jenis mikroorganisme yang terlibat, pH, temperatur, pelarut, kadar air, waktu fermentasi, jenis makanan dan kondisi aerobik.

Pada penelitian ini terlihat kecenderungan kenaikan persentase hambatan radikal DPPH yang berkorelasi positif dengan kenaikan total fenolik setelah fermentasi. Diduga senyawa fenolik berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan pada tepung biji teratai. Hal ini sejalan dengan penelitian Sreeramulu & Raghunath, (2010) yang

menunjukkan korelasi positif antara kandungan fenolik dan aktivitas penghambatan radikal DPPH pada sayuran. Sementara Ng *et al.* (2011); Verzelloni *et al.* (2007) melaporkan korelasi positif kandungan fenolik terhadap kenaikan aktivitas antioksidan pada fermentasi herbal, wine dan cuka. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa fermentasi mempunyai pengaruh positif terhadap kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan pada sereal yang tingkatnya tergantung pada spesies mikroorganisme yang digunakan (Kariluoto *et al.*, 2006). Aktivitas antioksidan dari fenolik tergantung pada struktur molekul senyawa fenolik yang dipengaruhi oleh gugus hidroksil yang terikat pada struktur dasar aglikon (Pérez-Gregorio *et al.*, 2011). Resonansi antara cincin benzen aromatis dan pasangan elektron bebas pada oksigen fenolik akan menginduksi kenaikan delokasi elektron sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas (Brown *et al.*, 2005; Granato *et al.*, 2011).

Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak tepung biji teratai dapat dilihat pada Tabel 3. Ekstrak biji teratai tanpa di fermentasi mempunyai aktivitas penghambatan terhadap *S. typhimurium*, *E. coli*, dan *S. aureus*. Hal ini sejalan dengan penelitian Fitriani *et al.* (2008) yang menyebutkan bahwa ekstrak etil asetat dari biji teratai mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen *S. typhimurium* dan EPEC K.1.1 penyebab diare. Biji teratai mengandung senyawa fitokimia alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, glikosida dan triterpen (Fitriani *et al.*, 2008). Menurut Marjorie & Cowan (1999) mekanisme penghambatan oleh senyawa flavonoid, tanin dan terpen adalah kemampuannya membentuk kompleks dengan ion metal dan protein serta pengrusakan membran seluler. Lebih lanjut Brown *et al.* (2005) menyebutkan bahwa senyawa flavonoid yang mempunyai kemampuan antimikrobia banyak ditemui pada lapisan biji-bijian dan kulit kayu.

Tabel 3. Aktivitas antibakteri ekstrak tepung biji teratai

Perlakuan	Diameter hambat (mm) bakteri uji		
	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Tanpa fermentasi	11	12	22
Fermentasi spontan	15	14	14
Fermentasi dengan BIMO-CF	20	20,5	24
Fermentasi dengan <i>L. plantarum</i>	22	14,5	24
Kontrol positif (kloramfenikol)	31	35	40
Kontrol negatif (etil asetat)	-	-	-

Gambar 1. Daya hambat ekstrak tepung teratai terhadap bakteri patogen, (a) hambatan terhadap *S. aureus* oleh ekstrak hasil fermentasi *L. plantarum* dan spontan, (b) hambatan terhadap *S. aureus* oleh ekstrak tanpa fermentasi dan hasil fermentasi BIMO-CF, (c) hambatan terhadap *E. coli* oleh ekstrak hasil fermentasi BIMO-CF dan tanpa fermentasi.

Fermentasi spontan menunjukkan aktivitas yang sedikit lebih rendah dibanding dengan penggunaan starter BIMO-CF dan *L. plantarum*.

Hal ini mungkin berhubungan dengan kandungan dan aktivitas BAL yang terdapat pada kedua starter tersebut. BAL menghasilkan komponen antibakteri

berupa asam organik, hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk (Lawalata *et al.*, 2015; Quijano, 2011). Asam organik seperti laktat dan asetat mempunyai efek bakterisidal dan bakteriostatis (Agrawal, 2005), sedangkan hidrogen peroksida mempunyai efek antimikroba karena proses oksidasi gugus sulfhidril yang menyebabkan denaturasi sejumlah enzim, berawal dari peroksidasi lipida membran yang kemudian meningkatkan permeabilitas membran (Quijano, 2011). Seperti halnya hidrogen peroksida, bakteriosin yang dihasilkan oleh BAL dapat meningkatkan permeabilitas membran sitoplasmik yang memicu pelepasan partikel sitoplasmik sehingga menyebabkan kematian sel (Simova *et al.*, 2009). Lebih lanjut Kareem *et al.* (2014) menyebutkan bahwa *L. plantarum* mempunyai aktivitas antimikroba berspektrum luas yang mampu menghambat bakteri patogen gram negatif dan gram positif.

4. KESIMPULAN

Fermentasi selama 72 jam menggunakan starter BIMO-CF, *L. plantarum* dan fermentasi spontan mampu meningkatkan kandungan karbohidrat, protein dan lemak pada tepung biji teratai. Hal sebaliknya dengan kadar abu, serat dan kadar air tepung biji teratai yang menurun setelah difermentasi. Fermentasi juga meningkatkan total fenolik dan menghasilkan senyawa bioaktif yang mempunyai aktivitas penghambatan radikal bebas dan aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan tanpa fermentasi. Penggunaan starter pada fermentasi memberikan hasil pengujian aktivitas biologis yang lebih baik dibandingkan dengan fermentasi spontan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrio, J. L. (2017). Oleaginous yeasts: Promising platforms for the production of oleochemicals and biofuels. *Biotechnology and Bioengineering*, 114(9), 1915–1920. <https://doi.org/10.1002/bit.26337>
- Agrawal, R. (2005). Probiotics: An emerging food supplement with health benefits. *Food Biotechnology*, 19(3), 227–246. <https://doi.org/10.1080/08905430500316474>
- Agus santoso. (2011). Serat pangan (dietary fiber) dan manfaatnya bagi kesehatan. *Magistra*, (75), 35–40.
- Aini, N., Wijonarko, G., & Sustrawan, B. (2016). Physical, chemical, and functional properties of corn flour processed by fermentation. *Agritech*, 36(2), 160–169.
- Akindumilat, F., & Roy, M. (1998). Growth and oil production of *Apiotrichum curvatum* in tomato juice. *Journal of Food Protection*, 61(11), 1515–1517.
- Brown, J. E., Cheynier, V., Clifford, M., Dangles, O., Avignon, F., Davies, K. M., ... Wollenweber, E. (2005). Flavonoids in foods. In *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications* (pp. 219–262). <https://doi.org/10.1201/9781420039443>
- Cai, S., Wang, O., Wu, W., Zhu, S., Zhou, F., Ji, B., ... Zhang, D. (2012). Comparative study of the effects of solid-state fermentation with three filamentous fungi on the total phenolic content (TPC), flavonoids, and antioxidant activities of subfractions from oats (*Avena sativa* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 507–513.
- Chen, R., Chen, W., Chen, H., Zhang, G., & Chen, W. (2018). Comparative evaluation of the antioxidant capacities, organic acids, and volatiles of papaya juices fermented by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Food Quality*, 1–12. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2018/9490435>
- Cockerill, F. R., Wikler, M. A., Alder, J., Dudley, M. N., Eliopoulos, G. M., Ferraro, M. J., ... Barbara L. Zimmer. (2012). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard — Ninth Edition* (Ninth Edit, Vol. 32).
- Dallagnol, A. M., & Pescuma, M. (2012). Fermentation of quinoa and wheat slurries by *Lactobacillus plantarum* CRL 778: proteolytic activity. *Appl Microbiol Biotechnol*. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4520-3>
- Đorđević, T. M., Šiler-Marinković, S. S., & Dimitrijević-Branković, S. I. (2010). Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. *Food Chemistry*, 119(3), 957–963. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.049>
- Duodu, K. G., Taylor, J. R. N., Belton, P. S., & Hamaker, B. R. (2003). Factors affecting sorghum protein digestibility. *Journal of Cereal Science*, 38, 117–131. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(03\)00016-X](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(03)00016-X)
- Fitrial, Y., Astawan, M., Soekarto, S. S., Wiryawan, K. G., Wresdiyati, T., & Khairina, R. (2008). Aktivitas antibakteri ekstrak biji teratai (*Nymphaea pubescens* Willd.) terhadap bakteri patogen penyebab diare. *Jurnal Teknol. Dan*

- Industri Pangan*, XIX(2), 158–164.
- Fitrial, Y., & Khairina, R. (2011). *Teratai. Aspek gizi, potensi dan pemanfaatannya sebagai pangan fungsional*. Yogyakarta: Eja Publisher.
- Gerez, C. L., Rollán, G. C., & De Valdez, G. F. (2006). Gluten breakdown by lactobacilli and pediococci strains isolated from sourdough. *Letters in Applied Microbiology*, 42(5), 459–464. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01889.x>
- Granato, D., Katayama, F. C. U., & De Castro, I. A. (2011). Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. *Food Chemistry*, 129(2), 366–373. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.085>
- Haryono. (2013). Kondisi dan potensi lahan rawa di Indonesia. *Lahan Rawa Lumbung Pangan Masa Depan Indonesia*, 1–26. Retrieved from http://www.litbang.pertanian.go.id/buku/Lahan_Rawa/Indeks-Buku-Lahan-Rawa.pdf
- Hunaefi, D., Akumo, D. N., & Smetanska, I. (2013). Effect of fermentation on antioxidant properties of red cabbages. *Food Biotechnology*, 27(1), 66–85. <https://doi.org/10.1080/08905436.2012.755694>
- Husniati dan Widhyastuti, N. (2013). Perbaikan mutu tepung singkong melalui teknologi fermentasi. *Jurnal Riset Industri*, 7(1), 25–33.
- Ismuhajarah, B. N., Noor, G. S., & Erhaka, M. E. (2016). Perbandingan morfologi dan biologi bunga pada dua spesies teratai (*Nymphaea*) di kabupaten Banjar, Kalimantan Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Basah Tahun 2016 Jilid 3*: 89, (2001), 896–900.
- Jin, S., Yuan, S., Kim, Y., Choi, I., & Kim, G. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160, 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.112>
- Kantachote, D., Charemjiratrakul, W., & Umsakul, K. (2008). Antibacterial activities of fermented plant beverages collected in Southern Thailand. *Journal of Biological Sciences*. <https://doi.org/10.3923/jbs.2008.1280.1288>
- Kareem, K. Y., Ling, F. H., Chwen, L. T., Foong, O. M., & Anjas Asmara, S. (2014). Inhibitory activity of postbiotic produced by strains of *Lactobacillus plantarum* using reconstituted media supplemented with inulin. *Gut Pathogens*, 6(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/1757-4749-6-23>
- Kariluoto, S., Aittamaa, M., Korhola, M., Salovaara, H., Vahteristo, L., & Piironen, V. (2006). Effects of yeasts and bacteria on the levels of folates in rye sourdoughs. *International Journal of Food Microbiology*, 106(2), 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.013>
- Kim, T. J., Silva, J. L., Kim, M. K., & Jung, Y. S. (2010). Enhanced antioxidant capacity and antimicrobial activity of tannic acid by thermal processing. *Food Chemistry*, 118(3), 740–746. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.060>
- Kwaw, E., Ma, Y., Tchabo, W., Apaliya, M. T., Wu, M., Sackey, A. S., ... Tahir, H. E. (2018). Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. *Food Chemistry*, 250, 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.009>
- Lawalata, H. J., Sembiring, L., & Rahayu, E. S. (2015). Molecular identification of lactic acid bacteria producing antimicrobial agents from bakasang, an Indonesian traditional fermented fish product. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 16(2), 93. <https://doi.org/10.22146/ijbiotech.16368>
- Marianto, L. . (2001). *Tanaman air*. Bintaro, Jakarta: PT. Agro Media Pustaka.
- Marjorie, & Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564–82. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=88925&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Mugula, J. K., Nnko, S. A. M., Narvhus, J. A., & Sørhaug, T. (2003). Microbiological and fermentation characteristics of togwa , a Tanzanian fermented food. *International Journal of Food Mi*, 80, 187–199.
- Nazarni, R. (2016). *Profil senyawa fenolik pada jaruk tigarun (Crataeva nurvala Buch Ham) dan potensinya sebagai antibakteri*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Nazarni, R., Harmayani, E., Santosa, U., & Darmadji, P. (2016). Identifikasi bakteri asam laktat dan aktivitas penghambatan radikal pada jaruk tigarun (Crataeva nurvala, Buch Ham). *Agritech*, 36(3), 317–326. <https://doi.org/10.22146/agritech.16604>
- Nazarni, R., Purnama, D., Umar, S., & Eni, H. (2016). The effect of fermentation on total phenolic, flavonoid and tannin content and its relation to antibacterial activity in jaruk tigarun (Crataeva nurvala, Buch HAM). *International Food Research Journal*, 23(1), 309–315.
- Ng, C., Wang, C., Wang, Y., Tzeng, W., Shyu, Y., & Ioeng, J. B. I. B. (2011). Lactic acid bacterial

- fermentation on the production of functional antioxidant herbal *Anoectochilus formosanus* Hayata. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111(3), 289–293. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2010.11.011>
- Osawa, R. O., Kuroiso, K., Goto, S., & Shimizu, A. (2000). Isolation of tannin-degrading Lactobacilli from humans and fermented foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(7), 3093–3097.
- Othman, N. Ben, Roblain, D., Chammen, N., Thonart, P., & Hamdi, M. (2009). Antioxidant phenolic compounds loss during the fermentation of Chétoui olives. *Food Chemistry*, 116(3), 662–669. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.084>
- Pérez-Gregorio, M. R., Regueiro, J., Alonso-González, E., Pastrana-Castro, L. M., & Simal-Gándara, J. (2011). Influence of alcoholic fermentation process on antioxidant activity and phenolic levels from mulberries (*Morus nigra* L.). *LWT - Food Science and Technology*, 44(8), 1793–1801. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.03.007>
- Pranoto, Y., Anggrahini, S., & Efendi, Z. (2013). Effect of natural and Lactobacillus plantarum fermentation on in - vitro protein and starch digestibilities of sorghum flour. *Food Bioscience*, 2, 46–52. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2013.04.001>
- Quijano, G. (2011). The benefits of probiotics on human health. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, s1(1), 1–6. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.s1-003>
- Ratledge, C. (2004). Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production. *Biochimie*, 86, 807–815. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2004.09.017>
- Rodríguez, H., Antonio, J., María, J., De, B., López, F., Felipe, D., ... Muñoz, R. (2009). Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132(2–3), 79–90. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.03.025>
- Sastrapradja, & Bimantoro. (1981). *Tumbuhan air*. Bogor: Lembaga Biologi Nasional-LIPI.
- Simova, E. D., Beshkova, D. B., & Dimitrov, Z. P. (2009). Characterization and antimicrobial spectrum of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from traditional Bulgarian dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, 106(2), 692–701. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.04052.x>
- Sreeramulu, D., & Raghunath, M. (2010). Antioxidant activity and phenolic content of roots , tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food Research International*, 43(4), 1017–1020. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.01.009>
- Syahputri, D. A., & Wardani, A. K. (2015). Pengaruh fermentasi jali (*Coix lacryma jobi*-L) pada proses pembuatan tepung terhadap karakteristik fisik dan kimia cookies dan roti tawar. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(3), 984–995.
- Tamang, J. P., Shin, D., Jung, S., & Chae, S. (2016). Functional properties of microorganisms in fermented foods. *Frontiers in Microbiology*, 7(April), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00578>
- Vega, E. Z., Glatz, B. A., & Hammond, E. G. (1988). Optimization of banana juice fermentation for the production of microbial oil. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(3), 748–752.
- Verzelloni, E., Tagliazucchi, D., & Conte, A. (2007). Relationship between the antioxidant properties and the phenolic and flavonoid content in traditional balsamic vinegar. *Food Chemistry*, 105(2), 564–571. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.014>
- Wijayanti, E. D., Candra, N., Setiawan, E., & Cristi, J. P. (2017). Effect of lactic acid fermentation on total phenolic content and antioxidant activity of fig fruit juice (*Ficus carica*). In *Advances in Health Sciences Research* (Vol. 2, pp. 282–289).
- Yen, G. C., & Hung, C. Y. (2000). Effects of alkaline and heat treatment on antioxidative activity and total phenolics of extracts from Hsian-tsao (*Mesona procumbens* Hemsl.). *Food Research International*, 33(6), 487–492. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00073-9](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00073-9)
- Yulifianti, R., & Ginting, E. (2012). Tepung kasava modifikasi sebagai bahan substitusi terigu mendukung diversifikasi pangan. *Buletin Palma*, 12(23), 1–12.
- Zhang, Z., Lv, G., Pan, H., Fan, L., & Socol, C. R. (2012). Production of powerful antioxidant supplements via solid-state fermentation of wheat (*Triticum aestivum* Linn.) by *Cordyceps militaris*. *Food Technol. Biotechnol.*, 9862(1), 32–39.