

## Bekatul Beras Hitam Terfermentasi Memperbaiki Kondisi Kolon Mencit yang Diinduksi Senyawa Karsinogen Azoxymethane

[*Fermented Black Rice Bran Improves Colon Conditions of Azoxymethane-induced Mice*]

Nouverra Nadya Putri<sup>1)</sup>, Slamet Budijanto<sup>1)</sup>, Endang Prangdimurti<sup>1)\*</sup>, dan Bambang Pontjo<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Bogor, Indonesia

<sup>2)</sup> Departemen Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, IPB University, Bogor, Indonesia

Diterima 8 Juli 2022 / Disetujui 27 Desember 2022

### ABSTRACT

Worldwide, colon cancer has become the fourth cause of death in terms of cancer. A high fiber and antioxidants diet help promote a healthy diet and prevent colon cancer. Black rice bran has high content both in fiber and phenolic. The aim of this research was to observe the potential of fermented black rice bran in improving colon conditions profiles of azoxymethane (AOM)-induced mice, comprising lactic acid bacteria (LAB) colony count, short-chain fatty acids (SCFAs) concentration, and malondialdehyde (MDA). *Rhizopus oligosporus* was used for fermenting the black rice bran. Five weeks old male Balb/c mice were divided into four groups (n=6) based on their diets. AOM was injected intraperitoneally and Dextran Sodium Sulphate was added to their drinking water, thus initiating inflammation in the colon. The number of LAB in faeces at the end of intervention in the groups of fermented rice bran group (FRB) ( $9.04 \pm 0.04$  log CFU) and non-fermented rice bran group (NRB) ( $8.99 \pm 0.04$  log CFU) were higher than that of the positive control group ( $8.33 \pm 0.06$  log CFU/g) but fewer as compared to the negative control ( $9.63 \pm 0.05$  log CFU). The concentrations of SCFAs (acetic acid, propionic acid and butyric acid) of the cecum content in the NRB group ( $11.92 \pm 0.00$ ,  $2.31 \pm 0.01$  and  $3.41 \pm 0.01$  mM) were higher than the positive control group ( $8.90 \pm 1.30$ ,  $1.60 \pm 0.16$  and  $2.27 \pm 0.31$  mM). As compared to the positive control group, the concentration of propionic acid of cecum content in the FRB group was higher ( $2.09 \pm 0.32$  mM), but the concentrations of acetic acid and butyric acid were indifferent. The MDA level of the FRB group ( $1.41 \pm 0.03$   $\mu$ mol) was lower than that of the NRB group ( $1.88 \pm 0.05$   $\mu$ mol), and the MDA level of NRB was lower than that of the positive control group ( $2.03 \pm 0.09$   $\mu$ mol). The results showed that both FRB and NRB had a positive role in increasing the number of LAB, ALRP concentrations, and decreasing MDA levels in AOM-induced mice colons.

**Keywords:** black rice bran, colon cancer, LAB, MDA, SCFA

### ABSTRAK

Kanker kolon menempati urutan keempat penyebab kematian akibat kanker di dunia. Pangan tinggi serat dan antioksidan dapat mencegah kanker kolon. Bekatul beras hitam (BBH) memiliki komponen antioksidan fenolik dan serat yang tinggi. Tujuan penelitian ini adalah menguji potensi BBH fermentasi (BBHF) dalam memperbaiki kondisi kolon mencit yang diinduksi karsinogen azoxymethane (AOM), meliputi jumlah koloni bakteri asam laktat (BAL), konsentrasi asam lemak rantai pendek (ALRP), dan kadar malondialdehid (MDA). BBH difermentasi menggunakan *Rhizopus oligosporus*. Mencit jantan usia lima minggu galur Balb/c dibagi menjadi empat kelompok berdasarkan ransum yang diberikan (n=6). AOM diinjeksikan intraperitoneal dan dextran sodium sulphate ditambahkan pada minuman mencit untuk menginisiasi inflamasi pada kolon. Pengujian jumlah koloni BAL pada feses di akhir intervensi menunjukkan bahwa kelompok BBHF ( $9,04 \pm 0,04$  log CFU/g) dan BBH nonfermentasi (BBHNF) ( $8,99 \pm 0,04$  log CFU/g) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol positif (KP) ( $8,33 \pm 0,06$  log CFU/g), meskipun lebih rendah dari kelompok kontrol negatif (KN) ( $9,63 \pm 0,01$  log CFU/g). Konsentrasi ketiga ALRP (asam asetat, asam propionat dan asam butirrat) isi sekum kelompok BBHNF ( $11,92 \pm 0,00$ ;  $2,31 \pm 0,01$ ; dan  $3,41 \pm 0,01$  mM) lebih tinggi daripada kelompok KP ( $8,90 \pm 1,30$ ;  $1,60 \pm 0,16$ ; dan  $2,27 \pm 0,31$  mM). Dibandingkan dengan KP, konsentrasi asam propionat kelompok BBHF lebih tinggi ( $2,09 \pm 0,32$  mM), namun konsentrasi asam asetat dan asam butirrat tidak berbeda. Kadar MDA kelompok BBHF ( $1,41 \pm 0,03$   $\mu$ mol) lebih rendah dibandingkan kelompok BBHNF ( $1,88 \pm 0,05$   $\mu$ mol), dan kadar MDA BBHNF lebih rendah dibandingkan KP ( $2,03 \pm 0,09$   $\mu$ mol). Hasil menunjukkan bahwa baik BBHF maupun BBHNF memiliki peran positif dalam meningkatkan koloni BAL, konsentrasi ALRP, dan menurunkan kadar MDA pada kolon mencit yang diinduksi AOM.

**Kata kunci:** ALRP, BAL, bekatul beras hitam, kanker kolon, MDA

\*Penulis Korespondensi: E-mail: [prangdimurti@apps.ipb.ac.id](mailto:prangdimurti@apps.ipb.ac.id)

## PENDAHULUAN

Kanker adalah tumor ganas yang menyerang sel dan jaringan sehat. Tumor ganas bersifat sulit dikendalikan, terus tumbuh, dan tidak dapat dihilangkan dari tubuh. Prevalensi kanker di Indonesia mengalami peningkatan dari 1,4% pada tahun 2013 menjadi 1,8% pada tahun 2018 (Kemenkes RI, 2014; 2019). Kanker kolon berada pada posisi keempat penyebab kematian karena kanker di dunia dan prevalensinya terus meningkat (Arnold *et al.*, 2017). Kelompok yang mengonsumsi banyak serat, memiliki risiko lebih rendah terkena kanker kolon dibandingkan dengan kelompok yang mengonsumsi produk hewani dan tidak mengonsumsi sayur. Pada kasus kanker kolon, kebanyakan pasien mengonsumsi serat lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang sehat (Louis *et al.*, 2014). Hasil Riskesdas 2013 menunjukkan konsumsi serat pada 95,5% individu usia di atas 10 tahun lebih rendah dibandingkan dengan anjuran yang diberikan (Kemenkes RI, 2014). Kebutuhan serat yang dianjurkan oleh dietisien adalah 25-30 g dalam sehari (Slavin, 2008).

Bekatul beras hitam (BBH) memiliki komponen bioaktif yang paling tinggi dibandingkan dengan bekatul beras merah dan putih (Moongnarm *et al.*, 2012). Fermentasi bekatul menunjukkan potensi prebiotik dan fungsional yang lebih baik. Bekatul fermentasi memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas dibandingkan dengan bekatul non fermentasi (Sivamaruthi *et al.*, 2018). *Solid state fermentation* (SSF) dipilih menjadi metode fermentasi yang sederhana, praktis, dan produktifitasnya tinggi (Yang *et al.*, 2021). Fermentasi bekatul dengan *Rhizopus oryzae* meningkatkan asam ferulat dan asam galat. Perubahan struktural pada serat larut air juga terjadi saat fermentasi dilakukan, sehingga dapat meningkatkan luas permukaan dan berongga (Schmidt dan Furlong, 2012; Chu *et al.*, 2019; Jia *et al.*, 2019).

Kanker kolon diinisiasi dengan menggunakan karsinogen dan dibantu dengan agen pembentuk inflamasi dalam pembentukannya. Penggunaan azoxymethane (AOM) dan dextran sodium sulfat (DSS) pada hewan uji dilakukan untuk menyesuaikan pembentukan kanker kolon yang diawali oleh inflamasi pada kolon. AOM bertindak sebagai karsinogen yang menginduksi pertumbuhan kanker kolon dengan mengganggu keseimbangan kapasitas antioksidan dalam sel kolon dan DSS diberikan untuk membantu efek displasia pada sel kolon (El Waly *et al.*, 2014; Suzuki *et al.*, 2006). AOM dipilih untuk menginduksi kanker kolon dengan mekanisme deplesi *glutathione* (GSH), merusak DNA, dan menginduksi perubahan morfologi pada sel kolon (El Waly *et al.*, 2014). Galur Balb/c dipilih karena dengan pemberian AOM dan DSS menghasilkan adenokarsinoma 100% (Suzuki *et al.*, 2006).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji secara *in vivo* terkait potensi BBH yang telah difermentasi *R. oligosporus* terhadap kondisi kolon mencit yang diinduksi karsinogen AOM, meliputi jumlah koloni bakteri asam laktat, konsentrasi asam lemak rantai pendek (ALRP), dan kadar malondialdehida (MDA). untuk menghambat pertumbuhan kanker kolon.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah gabah beras hitam varietas Cempo Ireng yang dibeli dari petani di Cigudeg, Bogor, media *Potato Dextrose Agar* (Oxoid, Inggris), kapang *R. oligosporus*, media Mann Rogosa Sharpe Agar, CaCO<sub>3</sub> (Merck, Jerman), termamyl (Sigma Aldrich, Jerman), standar campuran ALRP (4-7056 Supelco, Amerika Serikat), thiobarbituric acids (Merck, Jerman), Trichloroacetic Acid (Merck, Jerman), mencit (*Mus musculus*) BALB/c jantan berusia 5-8 minggu dengan berat rata-rata 20 g yang diperoleh dari Bogor Life Science Technology (BLST) IPB, azoxymethane/AOM (Sigma Aldrich, Jerman) dengan kemurnian 98% dan Dextran Sodium Sulfat/DSS (Sigma Aldrich, Jerman) dengan MW 40 000. Bahan ransum mencit meliputi kaseinat (Tatua, Selandia Baru), minyak kedelai, tepung selulosa, tepung maizena, sukrosa, multivitamin tablet, dan mineral mix (Chemie Lab, Indonesia).

### Pembuatan dan fermentasi bekatul beras hitam (BBH)

Pembuatan dan fermentasi BBH mengacu pada Safrida (2020). Gabah beras hitam digiling dengan *rice huller* (HW-60A Yanmar, Jepang) untuk mendapatkan beras hitam. Beras hitam disosoh dengan *rice polisher* (Yanmar N-70F, Jepang), untuk mendapatkan BBH. BBH distabilisasi dengan sterilisasi autoklaf (Hirayama, Jepang) suhu 121°C selama 15 menit. Pada BBH nonfermentasi (BBHNF) proses dilanjutkan dengan pengukusan selama 2 menit untuk menyamakan perlakuan. Proses fermentasi untuk BBH fermentasi (BBHF) dilakukan dengan menggunakan *R. oligosporus* dengan 10<sup>6</sup> spora per g. Proses inkubasi dilakukan selama 72 jam dalam inkubator (Heraeus, Jerman) pada suhu 30°C. Produk fermentasi dikukus selama 2 menit dengan *steamer*, kemudian dipotong dalam kondisi aseptis agar luas permukaannya meningkat. BBH kemudian dipindahkan ke kotak kecil, dibekukan 24 jam dan dikeringkan dengan *freeze drier* (Labconco, Amerika Serikat) selama 24 jam. Fermentasi 72 jam menunjukkan hasil terbaik dalam menekan pertumbuhan sel kanker kolon WiDr (Safrida, 2020)

### Penanganan mencit

Mencit dengan berat rata-rata 20 g, dipilih untuk intervensi. Mencit dibagi menjadi empat kelompok

(n=6), yaitu kelompok BBHF, BBHNF, kontrol positif (KP), dan kontrol negatif (KN). Masa pemeliharaan mencit (Gambar 1) diawali dengan adaptasi kandang selama 1 minggu dan diadaptasi ransum selama 4 minggu berikutnya. Selanjutnya, penanganan mencit mengikuti Suzuki *et al.* (2006), kelompok BBH dan KP mendapatkan injeksi intraperitoneal 1 mL AOM (Sigma Aldrich, Jerman) menggunakan Syringe (Terumo, Jepang) dan diberikan air minum yang ditambahkan DSS 1% (Sigma Aldrich, Jerman), sedangkan KN diberikan injeksi NaCl 0,9% (Braun, Jerman) untuk menyamakan tingkat stress. Setiap ekor mencit mendapat 6 g ransum. Ransum yang diberikan pada masa adaptasi kandang adalah ransum standar AIN 93M. Pada masa adaptasi ransum, dilakukan penyesuaian ransum dari ransum standar menjadi ransum uji BBH fermentasi dan nonfermentasi pada kelompok uji. BBHF dan BBHNF diberikan dengan mengganti sumber serat pada ransum kelompok uji, yaitu sebesar 5% dari total ransum. Kebutuhan zat gizi makro dan mikro disesuaikan dengan AIN 93M.

Penelitian ini bersifat preventif dan dilakukan selama 25 minggu pasca kedatangan mencit. Induksi AOM (Sigma Aldrich, Jerman) diberikan pada mencit setelah adaptasi ransum dilakukan selama 8 minggu. AOM diinjeksikan pada rongga intraperitoneal mencit dengan dosis 10 mg/kg BB pada awal minggu ke-9. Setelah injeksi AOM dilakukan, seminggu kemudian diberikan DSS 1% selama 4 hari yang ditambahkan pada minuman mencit. Terminasi dilakukan pada minggu ke-25 dengan menggunakan bus ketamin dan xylazine lalu dilanjutkan dengan dekapitasi. Perlakuan yang diberikan telah disetujui oleh Komisi Etik IPB dengan nomor surat 009/KEH/SKE/VIII/2020.

**Pengambilan feses dan isi sekum mencit**

Pengambilan feses dan isi sekum mencit mengikuti Nurtiana (2018). Feses diambil pada awal intervensi (titik A), sehari sebelum injeksi AOM (titik B), dan akhir intervensi (titik D). Pengujian ALRP menggunakan feses yang dikumpulkan selama 3 hari

di *bedding*. Feses *bedding* kemudian dimasukkan ke dalam tempat steril tertutup. Pengujian BAL menggunakan feses segar yang diambil langsung dari rektum mencit dengan memijat abdomen mencit. Isi sekum diambil pasca terminasi dengan membelah sekum dan mengeruk isinya lalu disimpan dalam wadah steril tertutup.

**Analisis jumlah bakteri asam laktat (BAL) pada feses dan sekum**

Prosedur analisis mengacu Xiao *et al.* (2015). Isi sekum dan feses yang telah disiapkan diencerkan hingga konsentrasi 10<sup>-9</sup>. Sebanyak 1 mL larutan pengenceran dituangkan ke dalam cawan petri mulai dari konsentrasi 10<sup>-5</sup> hingga 10<sup>-9</sup>. Media MRSA (Oxoid, Inggris) yang telah dicampurkan CaCO<sub>3</sub> (Merck, Jerman), dituangkan ke dalam cawan petri. Cawan kemudian diinkubasi dalam inkubator (Leec, Inggris) pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil kemudian diukur dengan menghitung koloni yang terbentuk pada media. Pengujian dilakukan dalam kondisi aseptis untuk menghindari adanya kontaminasi dari luar.

**Analisis konsentrasi ALRP feses dan sekum**

Prosedur analisis mengacu pada Ribeiro *et al.* (2018). Sampel dari sekum (bagian awal kolon) dan feses ditimbang sebanyak 20 mg dalam tabung vial ukuran 1,5 mL dan ditambahkan 200 µL air destilasi, kemudian dihomogenisasi dengan menggunakan spatula besi. Mikrotube disiapkan untuk memasukkan sampel 200 µL ke dalam 200 µL campuran pelarut organik (N-butanol, tetrahidrofuran dan asetoneitril dengan perbandingan 50:30:20, 100:60:40 µL), 40 µL HCl 0,1 M, 20 mg asam sitrat anhidrat, dan 40 mg NaCl. Analat kemudian divortex selama 1 menit, selanjutnya dilakukan sentrifugasi 14.870 x g selama 10 menit pada suhu ruang (25°C). Supernatan kemudian dimasukkan ke dalam tabung vial untuk diuji dengan *Gas Chromatography* (GC) (Agilent, Amerika Serikat) dengan kolom DB-23 dengan fase gerak nitrogen dan detector *Flame Ionization Detector* (FID).



Keterangan: A= Awal intervensi; B= Injeksi AOM 10 mg/kg BB; C= Pemberian DSS 1%; D= Akhir intervensi  
 Note: A= The beginning of intervention; B= AOM Injection 10 mg/kg BW; C= DSS 1% administration; D= The end of intervention

Gambar 1. Timeline intervensi mencit  
 Figure 1. Mice intervention timeline

**Analisis kadar MDA pada kolon**

Analisis MDA mengikuti Eze *et al.* (2008). Sebanyak 1 g jaringan ditambahkan 19 mL NaCl 0,9% dan dihomogenasi dengan *centrifuge* (Thermo Fisher, Amerika Serikat) 400 x g. Supernatan homogenate jaringan sebanyak 0,5 mL ditambahkan 0,5 mL larutan fisiologis, dan 0,5 mL TCA (Merck, Jerman) 25%. Larutan disentrifugasi 2.000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang dihasilkan diambil sebanyak 1 mL dan ditambahkan 0,5% TBA (Merck, Jerman). Alat kemudian dipanaskan pada suhu 95°C selama 1 jam. Alat menunjukkan perubahan warna merah jambu dan dibaca intensitasnya dengan spektrofotometer (Hitachi U-2900, Jepang) pada panjang gelombang 532 nm.

**Analisis serat**

Analisis serat pangan mengikuti prosedur AOAC (2000). BBHF dan BBHNF ditimbang sebanyak 0,5 g. sampel kemudian ditambahkan 25 mL buffer fosfat 0,08 M dan 50 µL enzim amilase tahan panas, termamyl. Sampel diinkubasi pada suhu 95°C selama 15 menit dan didinginkan hingga suhu ruang (25°C). Sebanyak 5 mL NaOH 0,275 N dan 50 µL enzim protease ditambahkan ke dalam larutan sampel. Sampel diinkubasi kembali dalam *waterbath shaker* (Aarson Scientific Works, India) pada suhu 60°C selama 30 menit. Sebanyak 5 mL HCl 0.325 N dan 150 µl AMG ditambahkan ke dalam larutan sampel, dan diinkubasi 60°C selama 30 menit. Etanol 95% suhu 60°C sebanyak 140 mL ditambahkan, dan didiamkan 1 jam untuk mengendapkan serat larut air. Sampel disaring dengan *filtering crucible* yang sudah disiapkan. Residu dari penyaringan dibilas dengan etanol 78% sebanyak tiga kali masing-masing 20 mL, lalu etanol 95% dua kali masing-masing 10 mL, dan aseton dua kali masing-masing 10 mL. Penyaring dan residu sisa kemudian diangkat dan dioven 105°C semalaman. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan selisih bobot awal dan akhir serta mempertimbangkan kadar protein dan kadar abu residu.

**Analisis data**

Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL). Data ditunjukkan dengan menggunakan rata-rata dan standar error. Data kemudian ditampilkan dengan menggunakan histogram untuk selanjutnya dilihat *error bar* yang bersinggungan. Uji

lanjut dilakukan jika hasil berbeda nyata ditunjukkan dengan menggunakan SPSS versi 21.0.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Kadar serat pangan pada BBH**

Serat pangan pada BBH diuji untuk menentukan jumlah BBH yang ditambahkan pada ransum. BBH menggantikan sumber serat pada kelompok uji. Pengujian serat pangan bertujuan untuk menyamakan kandungan serat yang ada pada ransum antar kelompok. Pengujian serat pangan mengikuti prosedur AOAC 991.43. Serat pangan yang diuji adalah serat larut air dan serat tidak larut air.

Kadar serat tidak larut air pada bekatul lebih tinggi dibandingkan serat larut (Tabel 1), seperti yang dikemukakan oleh Daou dan Zhang (2014). Hasil fraksinasi serat pangan tidak larut pada bekatul adalah hemiselulosa, selulosa, dan lignin. Jenis serat yang ada pada bekatul berpengaruh pada pertumbuhan BAL dan jenis ALRP yang dihasilkan dari fermentasi. Hasil pengujian serat larut air atau *soluble dietary fiber* (SDF) pada BBHF lebih tinggi dibandingkan BBHNF (Tabel 1). Fermentasi meningkatkan jumlah serat larut air pada pangan (Chu *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2018). Fermentasi BBH menggunakan kapang *R. oligosporus*. Kapang ini menghasilkan enzim selulase, β-glukosidase, β-glukuronidase, dan xylanase yang dapat mengurai dinding sel dari tumbuhan (Sandhu *et al.*, 2017). Peningkatan jumlah serat larut disebabkan karena adanya penguraian sebagian serat tidak larut yang menghasilkan serat larut air dan monosakarida (Li *et al.*, 2022).

**Jumlah BAL pada feses dan isi sekum mencit**

BAL pada kolon memiliki manfaat dalam mencegah kanker kolon dan menjaga kesehatan kolon. BAL menunjukkan efek positif dalam menghambat kanker kolon dengan membantu dalam mekanisme apoptosis dan menekan proliferasi sel kanker pada kolon (Zhong *et al.*, 2014) Pengujian jumlah koloni BAL dilakukan pada feses awal intervensi, feses H-1 injeksi AOM, feses akhir intervensi, dan isi sekum akhir intervensi (Gambar 2). Ransum yang dikonsumsi oleh mencit tidak berbeda nyata (data tidak ditampilkan). Rataan konsumsi ransum pada KP adalah (5,55 g/ekor), KN (5,66 g/ekor), BBHNF (5,9 g/ekor), dan BBHF (5,73 g/ekor).

Tabel 1. Kadar serat pangan pada BBH  
Table 1. *Dietary fiber contents*

Sampel ( <i>Sample</i> )	Serat Larut % ( <i>Soluble Dietary Fiber %</i> )	Serat Tidak Larut % ( <i>Insoluble Dietary Fiber %</i> )	Total Serat % ( <i>Total Dietary Fiber %</i> )
BBH fermentasi ( <i>Fermented black rice bran</i> )	2.09±0.11	17.71±0.11	19.80
BBH non fermentasi ( <i>None fermented black rice bran</i> )	0.08±0.001	16.06±0.03	16.14

Secara umum, jumlah koloni BAL pada seluruh kelompok mengalami peningkatan sejak awal intervensi hingga H-1 injeksi AOM. Jumlah koloni BAL pada kelompok BBHF dan BBHNF menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok KP dan KN yang diberi ransum standar. Jumlah koloni BAL pada kelompok BBHF (9,96 log CFU/g) tidak berbeda dengan kelompok BBHNF (9,92 log CFU/g), tetapi kedua kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan KP (8,7 log CFU/g). Peningkatan jumlah BAL ini disebabkan adanya perbedaan jenis ransum yang diberikan sebelum injeksi AOM. Penambahan bekatul pada ransum meningkatkan jumlah koloni BAL pada feses (Henderson *et al.*, 2012). Komposisi serat pada ransum berdampak pada jumlah BAL. Kandungan utama serat pada ransum standar yang diberikan kepada KP dan KN adalah berupa selulosa yang sulit difermentasi, sedangkan komposisi serat pada ransum BBHNF dan BBHF lebih bervariasi yang terdiri dari serat larut dan serat tidak larut.

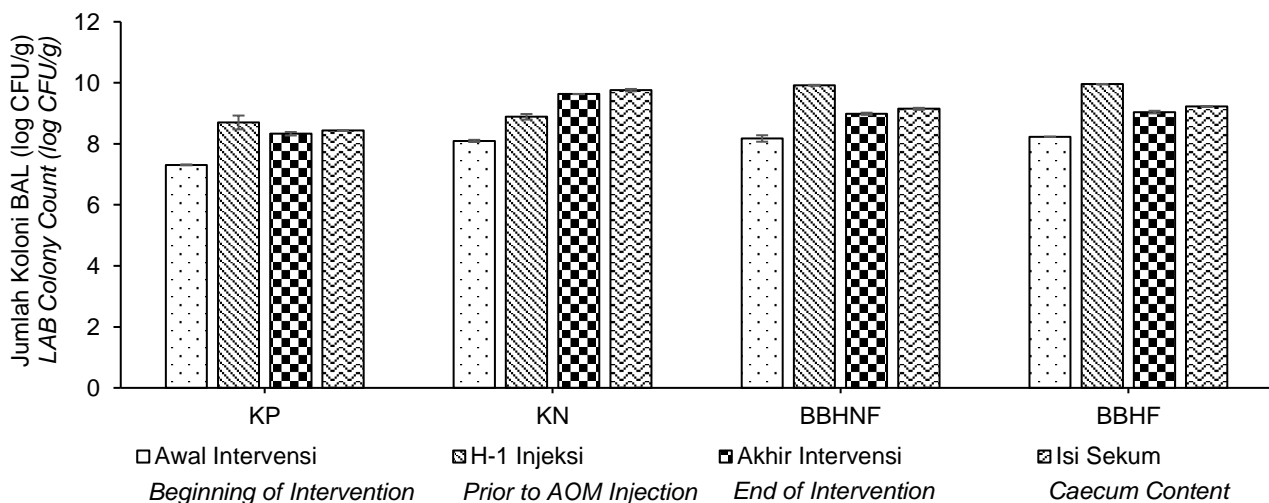
Injeksi AOM dan pemberian DSS dalam air minum dilakukan pada 3 kelompok yaitu KP, BBHNF dan BBHF. Pada akhir intervensi, jumlah koloni BAL pada feses maupun isi sekum kelompok KP, BBHF dan BBHNF mengalami penurunan, meskipun jumlah BAL pada kelompok BBHF dan BBHNF lebih tinggi dibandingkan KP. Penurunan ini disebabkan karena terjadinya inflamasi yang diinduksi oleh karsinogen AOM dan DSS yang bertindak sebagai agen inflamasi. Inflamasi akan menyebabkan disbiosis kolon, sehingga jumlah BAL akan mengalami penurunan akibat lingkungan kolon yang tidak sesuai untuk pertumbuhannya (Schippa dan Conte, 2014; Sivaprakasam *et al.*, 2016).

Pada akhir intervensi, jumlah koloni BAL pada feses maupun isi sekum kelompok BBHF dan BBHNF lebih tinggi daripada KP. Hal ini diperkirakan karena

inflamasi akibat karsinogen lebih dapat ditekan oleh komponen bioaktif bekatul, seperti senyawa-senyawa antioksidan pada bekatul dan ALRP yang dihasilkan dari fermentasi bekatul oleh BAL (Komiyama *et al.*, 2011). Secara umum, jumlah BAL pada isi sekum lebih tinggi dibandingkan pada feses akhir intervensi (Tabel 2). Hal ini karena sekum merupakan bagian awal kolon yang menjadi tempat fermentasi serat oleh mikroba (Uysal *et al.*, 2017).

BBHF menunjukkan hasil jumlah BAL yang lebih tinggi dibandingkan dengan BBHNF pada feses dan sekum (Gambar 2). Bekatul membantu dalam mencegah dysbiosis. Fermentasi serat bekatul oleh BAL menghasilkan ALRP yang membantu mencegah inflamasi (Komiyama *et al.*, 2011). Kenaikan komponen fenolik disebabkan ikatan dengan dinding sel lepas akibat fermentasi yang dilakukan. Fermentasi kapang akan mengurai dinding sel, sehingga komponen fenolik akan terlepas menjadi fenolik bebas dan konsentrasi fenolik terukur mengalami peningkatan (Kurniati *et al.*, 2017). Komponen fenolik juga membantu dalam meningkatkan BAL dengan menghambat pertumbuhan patogen. Komponen fenolik memiliki karakteristik sebagai prebiotik dan kemampuan antimikroba dalam melawan bakteri patogen (Kasprzak-Drozd *et al.*, 2021).

Struktur serat pangan pada perlakuan fermentasi, memiliki molekul yang lebih berongga dan tidak beraturan. Perubahan ini juga memberikan sifat fungsional yang berbeda pada serat (Schmidt *et al.*, 2014) Jenis serat pangan yang lebih pendek dan tidak memiliki percabangan pada rantainya akan lebih cepat dan mudah difermentasi. Keadaan ini menjadikan serat larut air lebih mudah digunakan sebagai sumber energi bagi BAL, sehingga membantu dalam meningkatkan jumlah BAL dalam kolon atau bersifat sebagai prebiotik (Sivaprakasam *et al.*, 2016).



Gambar 2. Jumlah koloni BAL pada feses dan isi sekum  
 Figure 2. LAB colony count in feces and caecum content

**Konsentrasi ALRP pada feses dan isi sekum mencit**

Uji ALRP menggunakan GC FID dilakukan terhadap: (1) feses pada awal intervensi, (2) feses pada H-1 injeksi AOM, (3) feses pada akhir intervensi, dan (4) isi sekum pada akhir intervensi. Asam Lemak Rantai Pendek (ALRP) dihasilkan dari metabolisme mikroba kolon adalah asam asetat, asam propionat dan asam butirat.

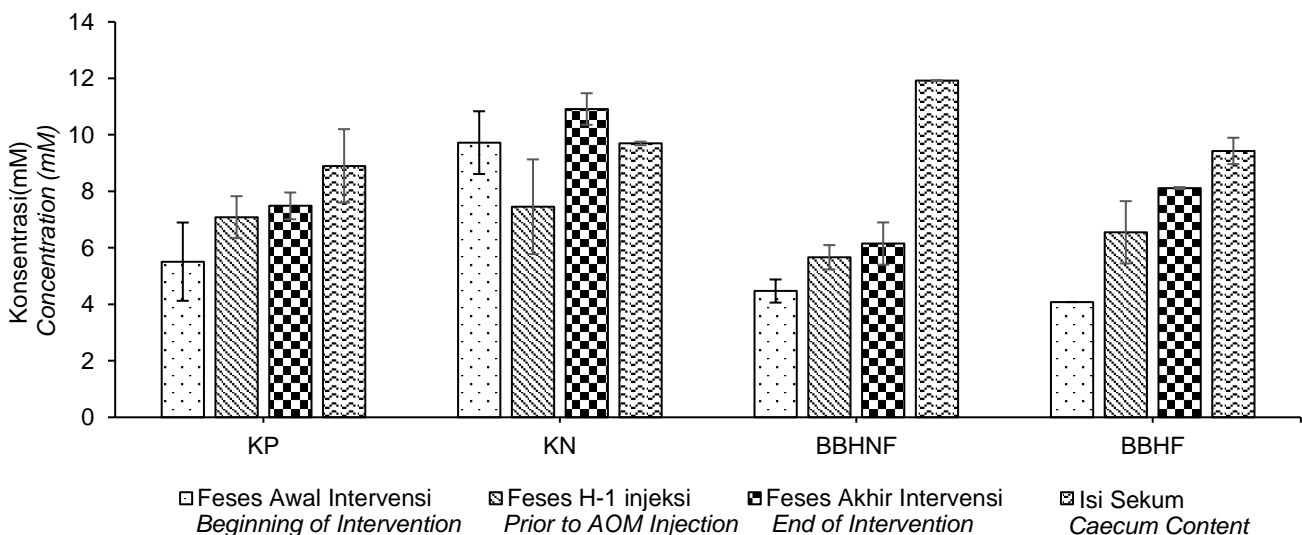
Konsentrasi asam asetat pada feses akhir intervensi berkisar antara 6–11 mM (Gambar 3) lebih tinggi dibandingkan dengan asam propionat (1,3–2,1 mM) dan asam butirat (0,5–1,6 mM). Asam asetat adalah ALRP yang paling banyak ditemukan di kolon yang kemudian diikuti oleh asam propionat dan asam butirat (Sheflin *et al.*, 2015). Perbedaan jenis ransum sebelum injeksi AOM menghasilkan peningkatan konsentrasi asam asetat kelompok BBHF dan BBHNF pada feses H-1 injeksi AOM (Gambar 3),

sedangkan pada kelompok KN dan KP tidak ada peningkatan. Hal ini diduga karena komponen utama serat pada ransum standar adalah selulosa yang tidak difermentasi oleh mikroba kolon, sedangkan sebagian dari serat bekatul dapat difermentasi. Pada H-1 injeksi AOM, kelompok BBHF menunjukkan kenaikan konsentrasi asam asetat (Tabel 3) yang lebih tinggi (2,47 mM) dibandingkan dengan kelompok lainnya. Pada akhir fermentasi, konsentrasi asam asetat pada feses BBHF menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan feses kelompok BBHNF dan KP. Konsentrasi asam asetat pada isi sekum kelompok BBHNF (11,92±0,00 mM) lebih tinggi dibandingkan dengan KP (9,69±0,06 mM). Secara fungsional, asam asetat membantu dalam menstimulasi proliferasi sel normal pada kolon, meningkatkan motilitas kolon, dan meningkatkan aliran darah di kolon (Zhao *et al.*, 2013).

Tabel 2. Perubahan jumlah BAL pada feses dan isi sekum

Table 2. Changes of LAB colonies formed in feces and caecum content

Kelompok (Groups)	Perubahan Jumlah Koloni BAL (H-1 Injeksi AOM-Awal Intervensi) (log CFU/g) (Changes in LAB Colonies Count (H-1 AOM Injection – Beginning of Intervention) (log CFU/g))	Perubahan Jumlah Koloni BAL (Isi Sekum-Feses Akhir) (log CFU/g) (Caecum Content - End Intervention Feces) (log CFU/g)
Kontrol + (Positive control)	1.39	0.11
Kontrol – (Negative control)	0.79	0.13
BBH non fermentasi (None fermented black rice bran)	1.74	0.16
BBH fermentasi (Fermented black rice bran)	1.73	0.18



Gambar 3. Konsentrasi asam asetat pada feses dan isi sekum  
Figure 3. Acetate acid concentration in feces and caecum content



Konsentrasi asam butirat (Gambar 4) menunjukkan hasil yang paling rendah dibandingkan dengan jenis ALRP lainnya. Asam butirat menjadi salah satu komponen penting dalam pencegahan kanker kolon. Asam butirat memiliki kemampuan dalam melindungi sel kolon dari kanker yang diinduksi kerusakan kromosom, menghambat perpindahan dan penempelan sel yang berpotensi tumor, memperbaiki gen yang mengatur proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis sel kolon (Macfarlane dan Macfarlane, 2012; Zhao *et al.*, 2013).

Konsentrasi asam butirat pada isi sekum kelompok BBHNF adalah yang tertinggi (3,41±0,01 mM). Meskipun tidak berbeda dengan kelompok BBHF (2,86±0,78 mM), namun konsentrasi asam butirat BBHNF lebih tinggi daripada KP (2,27±0,31 mM). Penurunan konsentrasi asam butirat pada feces dibandingkan isi sekum disebabkan oleh penyerapan ALRP sepanjang kolon. Kolon menjadi tempat penyerapan ALRP bersama dengan air, natrium, dan kalium. Penurunan asam butirat pada feces terjadi karena adanya penurunan pH pada kolon bagian distal, sehingga meningkatkan penyerapan asam butirat.

Konsentrasi asam propionat pada feces H-1 injeksi AOM dan feces akhir masa intervensi tidak

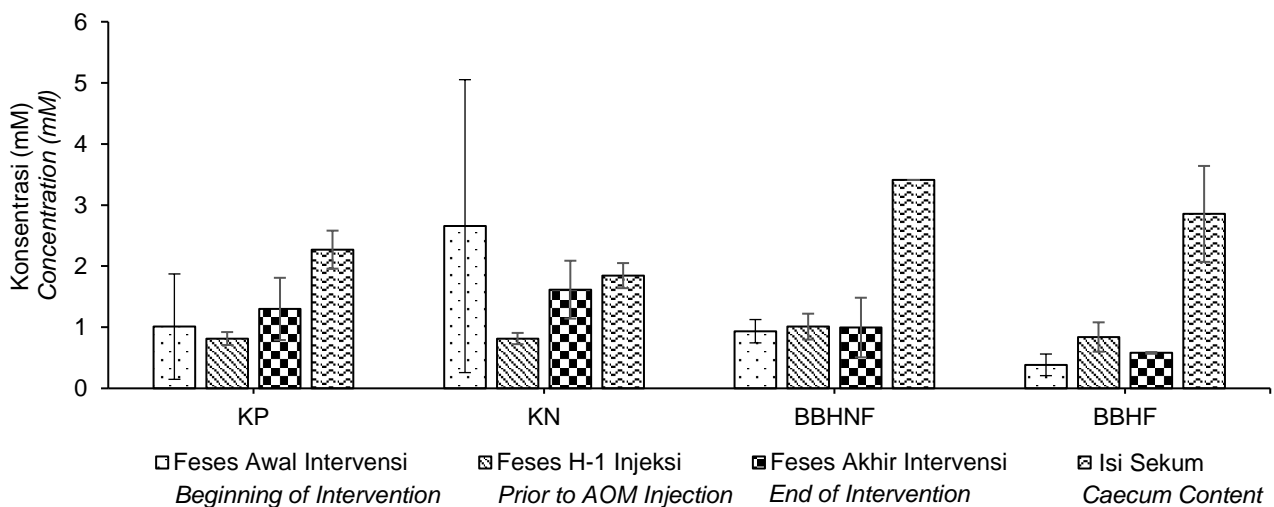
ada perbedaan antar kelompok (Gambar 5). Konsentrasi asam propionat pada isi sekum kelompok BBHNF (2,31±0,01 mM) menunjukkan hasil lebih tinggi dibandingkan dengan KP (1,69±0,16 mM), akan tetapi tidak berbeda dengan BBHF (2,09±0,32 mM) dan KN (1,79±0,74 mM). Konsentrasi asam propionat menunjukkan hasil yang lebih sedikit dibandingkan dengan asam asetat, namun lebih banyak dibandingkan asam butirat. Asam propionat menjadi ALRP tertinggi kedua dalam fermentasi karbohidrat dalam kolon yang dilakukan oleh mikrobiota pada kolon. Asam asetat merupakan ALRP tertinggi yang dihasilkan dalam fermentasi karbohidrat tersebut (Komiyama *et al.*, 2011; Sheflin *et al.*, 2015). Asam propionat memiliki kontribusi dalam menghambat inflamasi yang terjadi. Propionat bersama dengan butirat mengatur sel T-regulatory melalui mekanisme histon deasetilasi (Louis *et al.*, 2014).

BBH digunakan oleh mikrobiota kolon baik sebelum injeksi AOM maupun setelah injeksi AOM. Hal ini ditunjukkan dari perbedaan konsentrasi ALRP yang bernilai positif antara sebelum injeksi AOM dibandingkan awal intervensi (Tabel 2, 3, 4, dan 5).

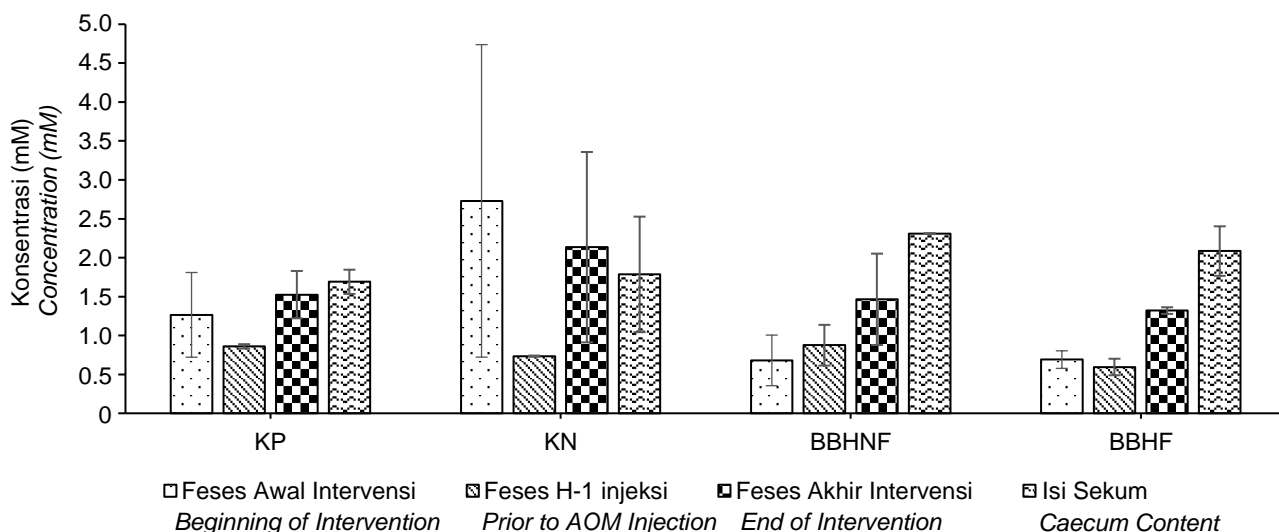
Tabel 3. Perubahan konsentrasi asam asetat pada feces dan isi sekum

Table 3. Change of acetate acid concentration in feces and caecum content

Kelompok (Groups)	Perubahan Konsentrasi Asam Asetat (H-1 Injeksi AOM-Awal Intervensi) (mM) ((Changes Acetate Acid Concentration (H-1 AOM Injection–Beginning of Intervention) (mM))	Perubahan Konsentrasi Asam Asetat (Isi Sekum-Feces Akhir) (mM) (Changes Acetate Acid Concentration (Caecum Content–End Intervention Feces) (mM))
Kontrol + (Positive control)	1.58	1.41
Kontrol – (Negative control)	-2.27	-1.22
BBH non fermentasi (None fermented black rice bran)	1.2	5.77
BBH fermentasi (Fermented black rice bran)	2.47	1.31



Gambar 4. Konsentrasi asam butirat pada feces dan isi sekum  
Figure 4. Butyrate acid concentration in feces and caecum content



Gambar 5. Konsentrasi asam propionat pada feces dan isi sekum  
 Figure 5. Propionate acid concentration in feces and caecum content

Tabel 4. Perubahan konsentrasi asam butirat pada feces dan isi sekum  
 Table 4. Change of acetate acid concentration in feces and caecum content

Kelompok (Groups)	Perubahan Konsentrasi Asam Butirat (H-1 Injeksi AOM-Awal Intervensi) (mM) (Changes Butyrate Acid Concentration (H-1 AOM Injection-Beginning of Intervention) (mM))	Perubahan Konsentrasi Asam Butirat (Isi Sekum-Feses Akhir) (mM) (Changes Butyrate Acid Concentration (Caecum Content-End Intervention Feces) (mM))
Kontrol + (Positive control)	-0.19	1.45
Kontrol - (Negative control)	-1.84	1.03
BBH non fermentasi (None fermented black rice bran)	0.07	2.4
BBH fermentasi (Fermented black rice bran)	0.45	2.02

Tabel 5. Perubahan konsentrasi asam propionat pada feces dan isi sekum  
 Table 5. Change of acetate acid concentration in feces and caecum content

Kelompok (Groups)	Perubahan Konsentrasi Asam Propionat (H-1 Injeksi AOM-Awal Intervensi) (mM) (Changes Propionate Acid Concentration (H-1 AOM Injection-Beginning of Intervention) (mM))	Perubahan Konsentrasi Asam Propionat (Isi Sekum-Feses Akhir) (mM) (Changes Propionate Acid Concentration (Caecum Content-End Intervention Feces) (mM))
Kontrol + (Positive control)	-0.41	0.16
Kontrol - (Negative control)	-1.99	-0.35
BBH non fermentasi (None fermented black rice bran)	0.2	0.84
BBH fermentasi (Fermented black rice bran)	-0.09	0.78

Setelah injeksi AOM, konsentrasi ketiga ALRP sekum pada kelompok BBH (terutama BBHNF) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Jika dibandingkan dengan konsentrasi ALRP pada sekum, konsentrasi ALRP pada feces lebih rendah (Tabel 2, 3, 4, dan 5).

Penelitian Ohigashi *et al.* (2013), menunjukkan adanya perubahan pada ALRP yang terjadi karena adanya perubahan mikrobiota yang memengaruhi fermentasi di kolon akibat adanya inflamasi, sehingga terjadi dysbiosis. Konsentrasi pada feces yang lebih

rendah dibandingkan isi sekum dapat terjadi karena adanya penyerapan ALRP sepanjang kolon (Hamer *et al.*, 2008). ALRP diserap dengan cepat hampir 95% dari ALRP yang tersedia (Islam *et al.*, 2017).

Perbedaan ALRP disebabkan oleh jenis serat dan BAL yang melakukan fermentasi pada kolon. Jenis serat dan pengolahan yang dipilih akan mengubah struktur serat yang akan memengaruhi BAL yang tumbuh dan jenis ALRP yang dihasilkan (Hamaker dan Tuncil, 2014). Perbedaan jenis serat akan menghasilkan jenis *soluble sugar* yang berbeda.

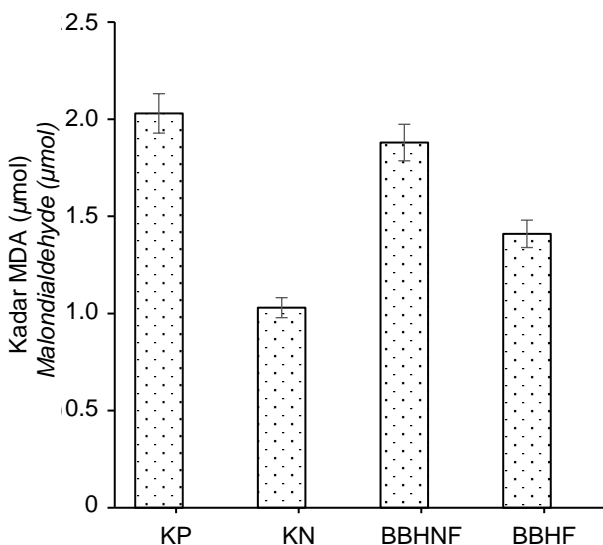


Perbedaan ini akan memengaruhi fermentasi, hasil ALRP yang dihasilkan dan BAL yang tumbuh (Wang *et al.*, 2019).

ALRP menurunkan pH kolon, sehingga meningkatkan jumlah BAL yang selanjutnya dapat membantu dalam mengurangi karsinogen pada kolon (Tang *et al.*, 2011). BAL memiliki aktivitas yang rendah terkait enzim yang berperan dalam mengubah prokarsinogen menjadi komponen karsinogen. AOM yang diberikan akan dihidrolisis di hati dan dikembalikan ke kolon bersama dengan empedu dalam bentuk metal azoksimetanol yang akan berikatan dengan enzim betaglukuronidase. Enzim betaglukuronidase akan mengikat ion metilkarbonium yang bersifat karsinogenik. Aktivitas enzim betaglukuronidase pada BAL lebih rendah dibandingkan dengan bakteri patogen, sehingga tingginya BAL akan menurunkan jumlah bakteri patogen penghasil enzim betaglukuronidase dan menghambat pertumbuhan kanker kolon (Hijová *et al.*, 2017).

**Kadar MDA kolon**

Pemberian BBH dapat menurunkan kadar MDA pada kolon, yang ditunjukkan dengan kadar MDA BBHF dan BBHNF lebih rendah dibandingkan KP. Kadar MDA BBHF (1,41±0,02 μmol) lebih rendah dibandingkan dengan kadar MDA BBHNF (1,88±0,05 μmol) dan kelompok kontrol positif (2,03±0,09 μmol) (Gambar 6). MDA juga bisa menjadi indikator tingkat keparahan dari kanker kolon. Peningkatan konsentrasi MDA pada serum terjadi selaras dengan metastasis dan tingkatan kanker kolon yang terjadi. Peningkatan kadar MDA yang diuji secara kualitatif dapat menjadi salah satu indikator untuk efek uji pengobatan dari kanker (Zińczuk *et al.*, 2019; Rašić *et al.*, 2018).



Gambar 6. Kadar MDA pada kolon mencit  
Figure 6. Malondialdehyde in mice colon

MDA pada penderita kanker kolon mengalami kenaikan karena adanya oksidasi lipid yang tinggi. Peroksidasi lemak terjadi karena oksidasi lipid oleh radikal bebas (Yoshida *et al.*, 2013). Thiobarbituric acid (TBA) digunakan untuk mengukur MDA. Kadar MDA menunjukkan produk hasil peroksidasi lemak yang direaksikan menggunakan TBA. Reaksi ini menghasilkan warna merah muda yang kemudian dibaca dengan spektrofotometer UV-VIS (Mitra *et al.*, 2016).

Hasil pengujian MDA tertinggi terjadi pada kelompok KP. Hasil kelompok KP jika dibandingkan dengan kelompok BBH menunjukkan hasil yang lebih tinggi. Hasil pengujian statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan pada setiap perlakuan. Pengukuran total fenolik, total flavonoid, dan aktivitas antioksidan pada penelitian Safrida (2020) menunjukkan fermentasi BBH dengan *Rhizopus oligosporus* selama 72 jam menghasilkan total fenolik 7,96 mg EAG/g ekstrak, total flavonoid 1,54 mgEQ/g ekstrak, dan aktivitas antioksidan 72%. Antioksidan pada bekatul mampu menghambat peroksidasi lemak dan produksi radikal bebas. Antioksidan pada bekatul salah satunya adalah γ-oryzanol yang disusun oleh asam ferulat dan sterol. Asam ferulat memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas dan mencegah oksidasi lemak (Islam *et al.*, 2014).

**KESIMPULAN**

Hasil pengujian menunjukkan pemberian ransum BBHF maupun BBHNF dapat memperbaiki kondisi kolon pasca injeksi AOM, yang ditunjukkan oleh adanya peningkatan jumlah BAL kolon, konsentrasi ALRP, serta penurunan MDA kolon dibandingkan kelompok kontrol positif (KP). Penurunan kadar MDA pada kelompok BBHF lebih besar dibandingkan kelompok BBHNF. Konsentrasi ALRP (asetat, propionat dan butirat) lebih tinggi pada kelompok BBHNF dibandingkan kelompok BBHF.

**DAFTAR PUSTAKA**

[AOAC] Association of Official Analytical Chemists. Official Method Analysis. 2000. Total, Soluble, dan Insoluble Dietary Fiber Enzymatic-gravimetric Method. <https://acnfp.food.gov.uk> [15 Juni 2022].  
 Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. 2017. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. Gut 66: 683–691. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2015-310912>

- Canani RB, Di Costanzo M, Leone L. 2012. The Epigenetic effects of butyrate: Potential therapeutic implications for clinical practice. *Clin Epigenetics* 4: 4(2012). <https://doi.org/10.1186/1868-7083-4-4>
- Chu J, Zhao H, Lu Z, Lu Z, Bie X, Zhang C. 2019. Improved physicochemical and functional properties of dietary fiber from millet bran fermented by *Bacillus natto*. *Food Chem* 294: 79–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.035>
- Daou C, Zhang H. 2014. Functional and physiological properties of total, soluble, and insoluble dietary fibres derived from defatted rice bran. *J Food Sci Technol* 51: 3878-3885. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-0925-y>
- El Waly B, Macchi M, Cayre M, Durbec P. 2014. Oligodendrogenesis in the normal and pathological central nervous system. *Front Neurosci* 8: 145. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00145>
- Eze JI, Anene BM, Chukwu CC. 2008. Determination of serum and organ malondialdehyde (MDA) concentration, a lipid peroxidation index, in *Trypanosoma brucei*-infected rats. *Compar Clin Pathway* 17: 67–72. <https://doi.org/10.1007/s00580-008-0722-6>
- Gu S, Chen D, Zhang J-N, Lv X, Wang K, Duan L-P, Nie Y, Wu X-L. 2013. Bacterial community mapping of the mouse gastrointestinal tract. *PLoS ONE* 8: e74957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074957>
- Hamaker BR, Tuncil YE. 2014. A perspective on the complexity of dietary fiber structures and their potential effect on the gut microbiota. *J Mol Biol* 426: 3838-3850. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2014.07.028>
- Hamer HM, Jonkers D, Venema K, Vanhoutvin S, Troost FJ, Brummer R-J. 2008. Review article: the role of butyrate on colonic function. *Aliment Pharmacol Ther* 27: 104-109. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03562.x>
- Henderson AJ, Kumar A, Barnett B, Dow SW, Ryan EP. 2012. Consumption of rice bran increases mucosal immunoglobulin a concentrations and numbers of intestinal *Lactobacillus* spp. *J Med Food* 15: 469–475. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.0213>
- Hijová E, Kuzma J, Strojny L, Bomba A, Bertková I, Chmelárová A, Hertelyová Z, Benetinová V, Stofilová J, Ambro L. 2017. Ability of *Lactobacillus plantarum* LS/07 to modify intestinal enzymes activity in chronic diseases prevention. *Acta Biochimica Polonica* 64: 113-116. [https://doi.org/10.18388/abp.2016\\_1308](https://doi.org/10.18388/abp.2016_1308)
- Islam J, Koseki T, Watanabe K, Ardiansyah, Budijanto S, Oikawa A, Alauddin M, Goto T, Aso H, Komai M, Shirakawa H. 2017. Dietary supplementation of fermented rice bran effectively alleviates dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. *Nutrients* 9: 747. <https://doi.org/10.3390/nu9070747>
- Islam MS, Matsuki N, Nagasaka R, Ohara K, Hosoya T, Ozaki H, Ushio H, Hori M. 2014. Chapter 34-rice bran antioxidants in health and wellness. wheat and rice in disease prevention and health. 443–451. Elsevier Inc, UK. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-401716-0.00034-9>
- Jia Q, Chen X, Köllner G, Rinkel J, Fu J, Labbé J, Xiong W, Dickschat JS, Gershenzon J, Chen F. 2019. Terpene synthase genes originated from bacteria through horizontal gene transfer contribute to terpene diversity in fungi. *Scientific Reports* 9: 9223. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45532-1>
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. Hasil Riskesdas 2013.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2019. Hasil Utama Riskesdas 2018.
- Kasprzak-Drozd K, Oniszczuk T, Stasiak M, Oniszczuk A. 2021. Beneficial effects of phenolic compounds on gut microbiota and metabolic syndrome. *Int J Mol Sci* 22: 3715. <https://doi.org/10.3390/ijms22073715>
- Komiyama Y, Andoh A, Fujiwara D, Ohmae H, Araki Y, Fujiyama Y, Mitsuyama K, Kanauchi O. 2011. New prebiotics from rice bran ameliorate inflammation in murine colitis models through the modulation of intestinal homeostasis and the mucosal immune system. *Scand J Gastroenterol* 46: 40–52. <https://doi.org/10.3109/00365521.2010.513062>
- Kurniati Y, Budijanto S, Nuraida L, Dewi FNA. 2017. Peningkatan senyawa fenolik bekatul dengan SSF (solid state fermentation) sebagai pencegah kanker. *Buletin Iptek Tanaman Pangan* 12: 97-104.
- Law BMH, Waye MMY, So WKW, Chair SY 2017. Hypotheses on the potential of rice bran intake to prevent gastrointestinal cancer through the modulation of oxidative stress. *Int J Mol Sci* 18: 1352. <https://doi.org/10.3390/ijms18071352>
- Li Y, Niu L, Guo Q, Shi L, Deng X, Liu X, Xiao C. 2022. Effects of fermentation with lactic bacteria on the structural characteristics and physicochemical and functional properties of soluble dietary fiber from prosomillet bran. *LWT* 154: 112609. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112609>

- Louis P, Hold GL, Flint HJ. 2014. The Gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat Rev Microbiol* 12: 661-672. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3344>
- Macfarlane GT, Macfarlane S. 2012. Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int* 95: 50-60. [https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGE\\_Macfarlane](https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGE_Macfarlane)
- Mitra P, Mandal NC, Acharya K. 2016. Polyphenolic extract of *Termitomyces heimii*: Antioxidant activity and phytochemical constituents. *Journal Fur Verbraucherschutz Und Lebensmittelsicherheit* 11: 25-31. <https://doi.org/10.1007/s00003-015-0976-2>
- Moongngarm A, Daomukda N, Khumpika S. 2012. Chemical compositions, phytochemicals, and antioxidant capacity of rice bran, rice bran layer, and rice germ. *APCBEE Proc* 2: 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.06.014>
- Nurtiana W. 2018. Potensi Bekatul Beras Hitam untuk Mengubah Konsentrasi Asam Lemak Rantai Pendek dan Aktivitas Enzim  $\beta$ -Glucuronidase sebagai Penghambat Perkembangan Kanker Kolon secara *In Vivo*. [Tesis]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Ohigashi S, Sudo K, Kobayashi D, Takahashi O, Takahashi T, Asahara T, Nomoto K, Onodera H. 2013. Changes of the intestinal microbiota, short chain fatty acids, and fecal pH in patients with colorectal cancer. *Digestive Dis Sci* 58: 1717-1726. <https://doi.org/10.1007/s10620-012-2526-4>
- Rašić I, Rašić A, Akšamija G, Radović S. 2018. The relationship between serum level of malondialdehyde and progression of colorectal cancer. *Acta Clin Croat* 57: 411-416. <https://doi.org/10.20471/acc.2018.57.03.02>
- Ribeiro WR, Vinolo MAR, Calixto LA, Ferreira CM. 2018. Use of gas chromatography to quantify short chain fatty acids in the serum, colonic luminal content and feces of mice. *Bio-Protocol* 8: e3089. <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.3089>
- Safrida. 2020. Penghambatan Proliferasi Sel Kanker Kolon WiDr *in Vitro* Oleh Ekstrak Bekatul Beras Hitam Fermentasi. [Tesis]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Sandhu KS, Punia S, Kaur M. 2017. Fermentation of cereals: A tool to enhance bioactive compounds. *Plant Biotechnology: Recent Advancements and Developments*. 157-170. Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-4732-9\\_8](https://doi.org/10.1007/978-981-10-4732-9_8)
- Schippa S, Conte MP. 2014. Dysbiotic events in gut microbiota: Impact on human health. *Nutrients* 6: 5786-5805. <https://doi.org/10.3390/nu6125786>
- Schmidt CG, Furlong EB. 2012. Effect of particle size and ammonium sulfate concentration on rice bran fermentation with the fungus *Rhizopus oryzae*. *Bioresour Technol* 123: 36-41. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.07.081>
- Sheflin MA, Borresen EC, Wdowik MJ, Rao S, Brown RJ, Heuberger AL, Broeckling CD, Weir TL, Ryan EP. 2015. Pilot dietary intervention with heat-stabilized rice bran modulates stool microbiota and metabolites in healthy adults. *Nutrients* 7: 1282-1300. <https://doi.org/10.3390/nu7021282>
- Sivamaruthi BS, Kesika P, Chaiyasut C. 2018. A comprehensive review on functional properties of fermented rice bran. *Pharmacog Rev* 2: 218-224. <https://doi.org/10.4103/phrev.phrev.11.18>
- Sivaprakasam S, Prasad PD, Singh N. 2016. Benefits of short-chain fatty acids and their receptors in inflammation and carcinogenesis. *Pharmacol Ther* 164: 144-151. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.04.007>
- Slavin JL. 2008. Position of the american dietetic association: Health implications of dietary fiber. *J Am Diet Assoc* 108: 1716-1731. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2008.08.007>
- Suzuki R, Kohno H, Sugie S, Nakagama H, Tanaka T. 2006. Strain differences in the susceptibility to azoxymethane and dextran sodium sulfate-induced colon carcinogenesis in mice. *Carcinog* 27: 162-169. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi205>
- Tang Y, Chen Y, Jiang H, Nie D. 2011. The role of short-chain fatty acids in orchestrating two types of programmed cell death in colon cancer. *Autophagy* 7: 235-237. <https://doi.org/10.4161/auto.7.2.14277>
- Uysal M, Gül SS, Karaman S, Tas U, Sapmaz HI, Uysal F, Aytakin K, Tümer MK. 2017. Caecum location in laboratory rats and mice: An anatomical and radiological study. *Laboratory Animals* 51: 245-255. <https://doi.org/10.1177/0023677216658916>
- Wang M, Wichienchot S, He X, Fu X, Huang Q, Zhang B. 2019. *In vitro* colonic fermentation of dietary fibers: fermentation rate, short-chain fatty acid production and changes in microbiota. *Trends in Food Sci Technol* 88: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.005>
- Yang M, Ashraf J, Tong L, Wang L, Zhang X, Li N, Zhou S, Liu L. 2021. Effects of *Rhizopus oryzae* and *Aspergillus oryzae* on prebiotic potentials of rice bran pretreated with superheated steam in an *in vitro* fermentation system. *LWT* 139: 110482. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110482>

- Yoshida Y, Umeno A, Shichiri M. 2013. Lipid peroxidation biomarkers for evaluating oxidative stress and assessing antioxidant capacity *in vivo*. *J Clin Biochem Nutr* 52: 9-16. <https://doi.org/10.3164/jcbn.122112>
- Zeng H, Lazarova DL, Bordonaro M. 2014. Mechanisms linking dietary fiber, gut microbiota and colon cancer prevention. *World J Gastrointest Oncol* 6: 41–51. <https://doi.org/10.4251/wjgo.v6.i2.41>
- Zhao G, Zhang R, Dong L, Huang F, Tang X, Wei Z, Zhang M. 2018. Particle size of insoluble dietary fiber from rice bran affects its phenolic profile, bioaccessibility and functional properties. *LWT* 87: 450-456. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.016>
- Zhao Y, Wu J, Li JV, Zhou N-Y, Tang H, Wang Y. 2013. Gut microbiota composition modifies fecal metabolic profiles in mice. *J Proteome Res* 12: 2987–2999. <https://doi.org/10.1021/pr400263n>
- Zhong L, Zhang X, Covasa M. 2014. Emerging roles of lactic acid bacteria in protection against colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 20: 7878-7886. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i24.7878>
- Zińczuk J, Maciejczyk M, Zaręba K, Romaniuk W, Markowski A, Kędra B, Zalewska A, Pryczynicz A, Matowicka-Karna J, Guzińska-Ustymowicz K. 2019. Antioxidant barrier, redox status, and oxidative damage to biomolecules in patients with colorectal cancer. Can malondialdehyde and catalase be markers of colorectal cancer advancement?. *Biomolecules* 9: 637. <https://doi.org/10.3390/biom9100637>