

## Tempe Kedelai Hitam (*Glycine soja*) dan Kacang Buncis Putih (*Phaseolus vulgaris* L.) sebagai Pangan Fungsional Antioksidan

Sri Yadiad Chalid<sup>1\*</sup>, Anna Muawanah<sup>1</sup>, Nani Radiastuti<sup>2</sup>, Sofia Ade Putri<sup>3</sup>, Fitriah Hartiningsih<sup>3</sup>, Tarso Rudiana<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir. H. Juanda No.95. Ciputat, Tangerang Selatan 15412, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir. H. Juanda No.95. Ciputat, Tangerang Selatan 15412, Indonesia

<sup>3</sup>Laboratorium Terpadu Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir. H. Juanda No 95. Ciputat, Tangerang Selatan 15412. Jakarta Indonesia

<sup>4</sup>Program Studi Kimia Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar, Jl. Raya Labuan KM 23, Pandeglang, Banten 42273 Indonesia

\*Penulis korespondensi: [sri.yadiad@uinjkt.ac.id](mailto:sri.yadiad@uinjkt.ac.id)

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v11.n3.47039>

**Abstrak:** Kedelai hitam dan biji kacang buncis mengandung senyawa flavonoid dan fenolik yang berpotensi dikembangkan sebagai pangan fungsional antioksidan. Campuran kedelai hitam dan biji kacang buncis putih 1:1 difermentasi dengan ragi tempe 0,2% (b/b) dan angkak divariasikan sebesar 1; 1,5; 2% (b/b) dengan waktu fermentasi 0, 12, dan 24 jam. Jumlah angkak dan waktu fermentasi optimum ditentukan berdasarkan karakteristik tempe dari uji organoleptik meliputi warna, bau, dan tekstur tempe oleh 25 orang panelis. Tempe diekstrak menggunakan aseton 80% (v/v) dan diukur aktivitas antioksidan dengan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) serta total fenolik dan total flavonoid. Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa fermentasi selama 24 jam menghasilkan tempe dengan tekstur, aroma, serta warna yang disukai panelis. Aktivitas antioksidan (IC<sub>50</sub>), kadar flavonoid total tertinggi didapatkan pada tempe dengan penambahan kulit ari kedelai hitam. Tempe dengan penambahan angkak 2% (b/b) memiliki aktivitas antioksidan dan kadar flavonoid sebesar 34,46 ± 0,08 ppm dan 45,06 ± 0,71 mg CE/g. Campuran kedelai hitam dan biji kacang buncis tanpa kulit ari kedelai hitam dan angkak 2% (b/b) mengandung total fenolik tertinggi sebesar 565,37 ± 3,41 mg GAE/g dan total flavonoid sebesar 45,06 ± 0,71 mg CE/g). Fermentasi kedelai hitam dan biji kacang buncis dengan ragi tempe dan angkak mampu meningkatkan aktivitas antioksidan sehingga berpotensi dikembangkan menjadi pangan fungsional antioksidan.

**Kata kunci:** antioksidan, angkak, kedelai hitam, tempe

**Abstract:** Black soybean and chickpea seeds have the flavonoids and phenolic which have the potential to be developed as antioxidant. Black soybean and chickpea seeds 1:1 were fermented 0.2% (w/w) tempeh yeast and the numbers of angkak varied by 1; 1.5; 2% (w/w) on fermentation time 0, 12, and 24 hours. The characteristics of the tempeh was determined by organoleptic tests including the color, smell, and texture of tempeh by 25 panelists. Tempeh was extracted using acetone 80% (v/v) and antioxidant activity by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. Organoleptic test showed that fermentation time for 24 hours produced tempeh with the texture, aroma, and color that the panelists liked. Antioxidant activity (IC<sub>50</sub>), the highest total flavonoid content was found in tempeh with the addition of black soybean husk. Tempeh was produced by 2% Angkak had antioxidant activity of 34.46±0.08 ppm and flavonoid levels of 45.06 ± 0.71 mg CE/g. A mixture of black soybeans and chickpea seeds without black soybean husk and red yeast rice contained the highest total phenolic of 565.37 ± 3.41 mg GAE/g and flavonoid of 45.06 ± 0.71 mg CE/g). Fermentation of thees seeds with tempeh yeast and Angkak could increase antioxidant activity and they have the potential to be developed into antioxidant functional foods.

**Keywords:** antioxidant, angkak, black sobeans, tempeh.

## PENDAHULUAN

Tempe merupakan makanan tradisional asli Indonesia yang terus berkembang dan bahkan sudah sampai ke luar negeri. Umumnya tempe dibuat dari biji kedelai melalui fermentasi dengan ragi tempe yang mengandung kapang *Rhizopus oligosporus* (SNI, 2015). Tempe non kedelai sudah banyak dikembangkan seperti tempe kacang tunggak hitam (Naisali & Wulan 2020) tempe kacang merah (Kusnandar dkk. 2020) tempe campuran kacang tanah dan kedelai (Mutsyahidan dkk. 2018).

Tempe kedelai hitam sudah dikembangkan oleh Nurrahman dkk. (2012) yaitu fermentasi kedelai hitam menggunakan inokulum *Rhizopus stolonifer*, *R. oligosporus* dan *R. oryzae* selama 24 jam menghasilkan tempe dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan kacangnya. Aktivitas antioksidan tempe kedelai hitam lebih tinggi dari pada varietas kedelai lain (Widoyo dkk. 2015), begitu juga aktivitas antioksidan tempe kacang merah lebih tinggi daripada kacangnya (Chalid dkk. 2021).

Angkak atau *red yeast rice* merupakan hasil fermentasi beras oleh *Monascus purpureus* yaitu jenis kapang yang digunakan oleh bangsa China, Korea, dan Taiwan untuk menghasilkan zat warna pada produk roti dan minuman (Song *et al.* 2019). Fukami *et al.* (2021) dalam ulasannya menyatakan bahwa angkak atau *red yeast* merupakan hasil fermentasi beras oleh *M. purpureus* yang digunakan oleh bangsa China, Korea, dan Taiwan untuk menghasilkan warna pada roti dan minuman. Angkak mengandung zat warna *azaphilone* dan diidentifikasi sebagai *monascin*, *ankaflavin*, dan *monascinol* sebagai pigmen kuning, *rubropunctamine* dan *monascorubramine* sebagai pigmen ungu, pigmen merah adalah *rubropunctatin* dan *monascorubrin*. Angkak yang dihasilkan dari media beras mempunyai kemampuan menghambat radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) sebesar 45,61%, nilai ini lebih tinggi dari pada angkak yang dihasilkan media jagung ataupun gaplek (Wiyoto 2010). Penambahan angkak 1% pada fermentasi kedelai kuning dan lamtorogung dengan laru pada pembuatan tempe dapat menghambat radikal DPPH sebesar 59,47% dan mengalami kenaikan menjadi 63,60% dengan penambahan angkak 2%. Hal ini disebabkan karena angkak mengandung alkaloid, fenol, terpenoid, triterpenoid, flavonoid, isoflavonoid, flobatananis, kumarin, dan saponin yang bersifat sebagai antioksidan (Rosida & Sudaryati 2015). Penelitian ini merupakan penelitian inovatif yaitu menggunakan campuran kedelai hitam dan biji kacang buncis putih sebagai media fermentasi dan ragi tempe serta angkak sebagai inokulum atau *starter*. Tujuannya untuk meningkatkan aktivitas antioksidan dan total fenolik dan flavonoid sehingga tempe ini dapat dikembangkan sebagai pangan fungsional antioksidan.

## BAHAN DAN METODE

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Visible Lambda 25 Perkin, sentrifugasi Hettich EBA 20, dan vortex-mixer (Oregon). Plastik ukuran 10x20 cm, peratan gelas (pyrex), pipet mikro (Mettler Toledo)

Bahan yang digunakan adalah biji kedelai hitam dan biji kacang buncis putih diperoleh dari Boyolali dan salah satu supermarket di Daerah Ciputat. Ragi tempe produksi LIPI Jakarta. Angkak produksi Vegan Jakarta, aseton (grade teknis), larutan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (Merck), pelarut Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich).

### Pembuatan Tempe Kedelai Hitam dan Biji Kacang Buncis

Biji kedelai hitam (A) dan biji kacang buncis (B) masing-masing sebanyak 150 g direbus secara terpisah selama 1 jam untuk kedelai hitam dan 30 menit untuk biji kacang buncis, kemudian ditiriskan. Biji kacang buncis dan kedelai hitam dibelah menjadi dua bagian dan dikukus selama 30 menit secara terpisah, dikeringanginkan selama 15-30 menit. Campuran biji kacang buncis dan kedelai hitam (1:1) diinokulasi dengan ragi tempe sebanyak 0,2% (b/b), jumlah angkak (C) divariasikan, kulit ari kedelai hitam dilepaskan dan dikumpulkan (D). Kulit ari ini dicampurkan pada pembuatan tempe. Konsentrasi angkak divariasikan yaitu C0= 0; C1= 1; C2= 1,5; dan C3= 2% (b/b) (Tabel 1), semua diaduk sampai rata. Sebanyak 50 g campuran biji kedelai hitam dan biji kacang buncis putih yang telah diaduk dengan ragi tempe dan angkak dimasukkan ke dalam kantong plastik bersih yang sudah diberi lubang kecil-kecil dan difermentasi selama 12 dan 24 jam pada suhu ruang.

Campuran kedelai hitam (A), kulit kedelai hitam (D), dan biji kacang buncis (B) sebanyak 50 g diperlakukan sama dengan pengerjaan di atas yaitu difermentasi dengan 0,2% (b/b) ragi tempe dan angkak dengan variasi konsentrasi (C) semua diaduk rata. Waktu fermentasi selama 12, 24 jam serta 0 jam sebagai kontrol (Rosida & Sudaryati 2015).

### Uji Organoleptik

Sebanyak 25 orang penelis semi terlatih diminta untuk memberikan penilaian terhadap tempe, meliputi warna, tekstur, dan aroma tempe dengan skala 1-4. Penelis diminta untuk mengisi formulir dengan cara memilih angka 1 bila sangat tidak menyukai, 2 bila tidak suka, 3 bila suka dan 4 bila sangat menyukai.

### Ekstraksi Tempe Kedelai Hitam dan Biji Kacang Buncis

Sebanyak 14,4 g masing-masing tempe campuran biji kacang buncis dan kacang kedelai hitam, serta tempe dengan penambahan kulit ari kedelai hitam yang sudah dihaluskan dengan *blender*, kemudian

**Tabel 1.** Komposisi kedelai hitam (A) dan biji kacang buncis (B) dengan variasi jumlah angkak (C)

A	B	C	D	Kode Tempe
1	1	C0	-	ABC0
1	1	C1	-	ABC1
1	1	C2	-	ABC2
1	1	C3	-	ABC3
1	1	C0	D	ABC0D
1	1	C1	D	ABC1D
1	1	C2	D	ABC2D
1	1	C3	D	ABC3D

Keterangan A= biji kedelai hitam, B= biji kacang buncis, C= jumlah angkak yaitu C0, C1, C2 dan C3 masing- masing 0; 1; 1,5 dan 2% (b/b), D=kulit ari kedelai hitam

ditambahkan dengan 60 mL aseton 80% (v/v). Campuran diaduk rata dengan *magnetic stirer* selama 15 menit disentrifugasi selama 30 menit pada kecepatan 3.500 g, pada suhu 4°C. Filtrat yang dihasilkan disimpan pada suhu 4°C, ekstrak ini digunakan untuk uji aktivitas antioksidan, total fenolik dan flavonoid (Xu & Chang 2007).

#### Uji Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 1 mL filtrat hasil ekstraksi tempe diencerkan dengan 5 mL aseton 80% (v/v) sehingga dihasilkan larutan induk kemudian diencerkan menggunakan pengenceran bertingkat untuk membuat deret standar. Deret standar ditambahkan dengan larutan DPPH 0,1 mM dengan perbandingan 1:1. Campuran ekstrak antioksidan dengan DPPH divorteks dan didiamkan pada keadaan gelap selama 30 menit. Absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada  $\lambda=515$  nm. Aseton digunakan sebagai blanko dan vitamin C digunakan sebagai pembanding (Xu & Chang 2007). Kemampuan sampel menangkal radikal DPPH dinyatakan dengan % *scavenging* yaitu nilai absorbansi blanko dikurangi dengan absorbansi ekstrak sampel dikali 100, selanjutnya ditentukan nilai IC<sub>50</sub>.

#### Penentuan Total Fenolik dan Flavonoid Tempe

##### Total Fenolik

Ekstrak tempe kedelai hitam dan biji kacang buncis dipipet sebanyak 50  $\mu$ L, ditambahkan 3 mL akuades, 250  $\mu$ L reagen Folin-Ciocalcu, dan 750  $\mu$ L NaCO<sub>3</sub> 7% lalu divorteks, dan diinkubasi selama 8 menit pada suhu ruang. Campuran ditambahkan 950  $\mu$ L akuades dan didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm, sebagai blanko digunakan akuades. Total fenolik sampel dinyatakan setara asam galat (mg GAE/g) (Xu & Chang 2007).

##### Total Flavonoid

Ekstrak tempe kedelai hitam dan biji kacang buncis sebanyak 10 mg dilarutkan dalam pelarut metanol. Akuades sebanyak 3 mL ditambahkan pada

1 mL larutan ekstrak tempe dan NaNO<sub>3</sub> 5% sebanyak 0,3 mL, campuran diinkubasi dan ditambahkan 0,3 mL AlCl<sub>3</sub> 10% dan diinkubasi kembali. Campuran diukur absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Total flavonoid dinyatakan mg Katekin (mg CE/g) (Xu & Chang 2007).

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

##### Karakteristik Tempe Kedelai Hitam dan Biji Kacang Buncis

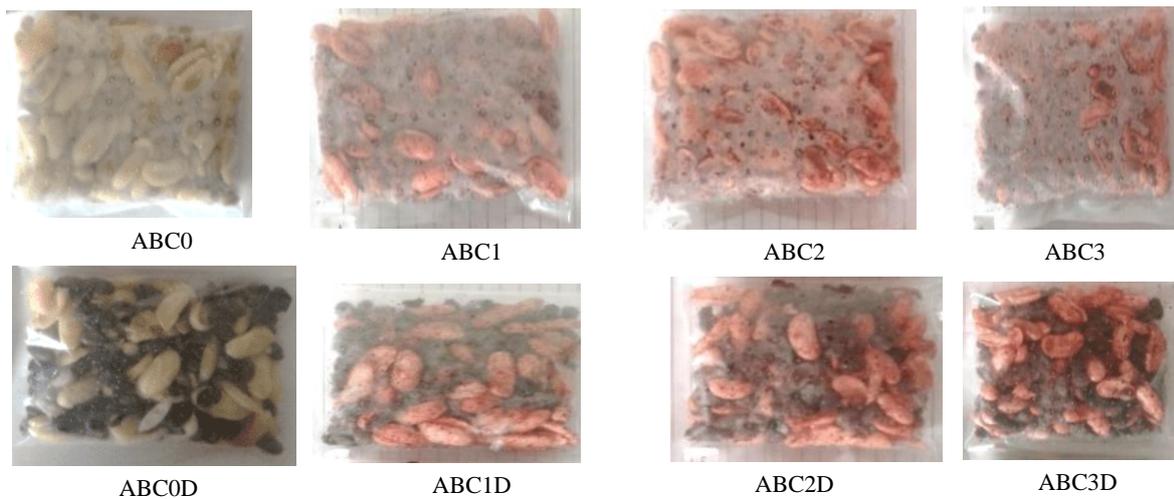
Tujuan fermentasi campuran kacang kedelai hitam dengan biji kacang buncis menggunakan ragi tempe dengan angkak untuk menghasilkan tempe dengan aktivitas antioksidan, kadar fenolik, dan flavonoid yang tinggi. Ragi tempe mengandung kapang *Rhizopus* sp. yaitu *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus* yang menghasilkan miselium berwarna putih pada permukaan tempe (SNI 2015), sedangkan angkak mengandung kapang *Monascus* sp. yang menghasilkan zat warna merah untuk makanan yang banyak digunakan di beberapa negara Asia.

ABC0 adalah tempe campuran kacang kedelai hitam dan biji kacang buncis dengan penambahan ragi tempe tanpa angkak, tempe ini dijadikan sebagai kontrol sedangkan ABC1, ABC2, ABC3, adalah tempe campuran kacang kedelai hitam dan biji kacang buncis yang diaduk dengan ragi tempe dan angkak (C) berturut turut sebesar 0: 1: 1,5 dan 2% (b/b), sedangkan ABC0D adalah tempe campuran kacang kedelai hitam, kulit ari kedelai hitam dan biji kacang buncis dengan penambahan ragi tempe tanpa penambahan angkak. Tempe ABC1D, ABC2D, ABC3D, adalah tempe campuran kacang kedelai hitam, biji kacang buncis dan kulit ari kedelai hitam dengan penambahan ragi tempe dan angkak yang divariasikan (Gambar 1).

Pertumbuhan kapang pada permukaan tempe belum terlihat, ini menandakan bahwa fermentasi belum mulai, namun warna merah dari angkak sudah teramati. Penambahan kulit ari kedelai hitam bertujuan untuk meningkatkan aktivitas penghambatan terhadap radikal DPPH dan jumlah total fenolik serta total flavonoid. Fermentasi campuran kacang kedelai hitam dan biji kacang



**Gambar 1.** Tempe biji kedelai hitam dan biji kacang buncis dengan ragi tempe dan variasi angkak, waktu fermentasi nol jam. ABC0, ABC1, ABC2, ABC3 berturut-turut tempe kedelai hitam dan biji kacang buncis dengan jumlah angkak C0, C1, C2 dan C3 berturut-turut 0; 1; 1,5 dan 2% (b/b) sedangkan ABC0D, ABC1D, ABC2D, ABC3D adalah tempe dengan penambahan kulit ari kedelai hitam (D) dengan jumlah ragi dan angkak yang sama.

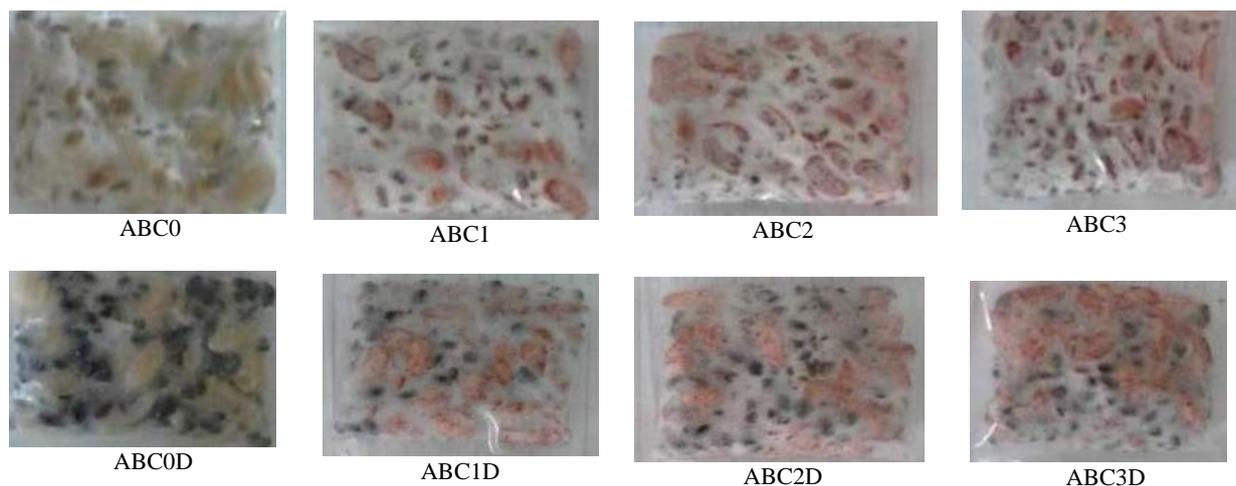


**Gambar 2.** Tempe biji kedelai hitam dan biji kacang buncis yang ditambahkan ragi tempe dan angkak dengan waktu fermentasi 12 jam. ABC0, ABC1, ABC2, ABC3 berturut-turut adalah tempe kedelai hitam dan biji kacang buncis dengan jumlah angkak C0, C1, C2 dan C3 berturut-turut.

buncis dilanjutkan selama 12 jam, dan karakter tempe yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 2.

Biji kedelai hitam dan kacang buncis ditambahkan ragi tempe 0,2% (b/b) dan angkak yang divariasikan 0; 1; 1,5 dan 2% (b/b) berturut-turut C0, C1, C2, dan C3 dan lama fermentasi 12 jam. ABC0 adalah tempe dengan jumlah ragi tempe 0,2% tanpa penambahan angkak, uap air terlihat merata pada permukaan plastik bungkus tempe, hal yang sama juga diamati pada tempe ABC1, ABC2, dan ABC3, namun tempe ini berwarna merah yang berasal dari

angkak. Uap air tidak teramati pada permukaan tempe ABC0D yaitu tempe kedelai hitam dan kulit arinya serta kacang buncis dengan ragi tempe tanpa angkak. Permukaan tempe sudah dipenuhi uap air selama 12 jam fermentasi. Pertumbuhan miselium *Rhizopus* belum terlihat pada tempe ABC0, ABC1, ABC2 dan ABC3 (Gambar 2). Menurut Nurrahman dkk. (2012) fermentasi kedelai hitam dengan ragi tempe dimulai pada pada 24 jam (Rosida & Sudaryati, 2015). Warna merah angkak terlihat dominan pada permukaan tempe ABC1, ABC2,



**Gambar 3** Tempe hasil fermentasi kedelai hitam dan kacang buncis, dan kulit ari kedelai hitam dengan ragi tempe (0,2% b/b) dan variasi angkak (C) fermentasi selama 24 jam.

ABC3 dan ABC1D, ABC2D, ABC3D. Tempe dengan penambahan kulit ari kedelai hitam dan ragi tempe tanpa penambahan angkak (ABC0D) berada pada tahap adaptasi dengan lingkungan. Fermentasi dilanjutkan sampai 24 jam dan pengamatan terhadap tempe dapat dilihat pada Gambar 3.

Tempe ABC0, ABC1, ABC2, dan ABC3 adalah tempe yang dihasilkan dengan ragi tempe dan angkak berturut-turut 0; 1; 1,5 dan 2%(b/b) sedangkan tempe ABC0D, ABC1D, ABC2D, dan ABC3D adalah tempe dengan penambahan ragi tempe dan variasi angka serta penambahan dengan kulit ari kedelai hitam dengan waktu fermentasi selama 24 jam. Semua tempe sudah memadat dimana pertumbuhan miselium ragi tempe merata pada permukaan. Warna hitam pada permukaan tempe bersumber dari kulit ari kedelai hitam (Gambar 3). Fermentasi selama 24 jam ini merupakan waktu fermentasi yang ideal untuk campuran 2 jenis kacang dengan 2 jenis starter, hasil yang sama juga didapatkan oleh Palupi & Rahmatika (2022) dimana waktu fermentasi terbaik kedelai hitam yang disukai panelis adalah 24 jam sedangkan hasil penelitian Nurrahman dkk. (2012) didapatkan bahwa panelis lebih menyukai tempe kedelai hitam hasil fermentasi selama 36 jam daripada tempe hasil fermentasi 20, 30 dan 42 jam.

Permukaan tempe tanpa kulit ari kedelai hitam dan tanpa angkak (ABC0) berwarna putih, sedangkan permukaan tempe ABC1 dan ABC2 dan ABC3 berwarna putih yang bercampur dengan warna merah. Warna putih berasal dari miselium kapang tempe sedangkan warna merah berasal dari angkak. Semakin tinggi konsentrasi angkak yang ditambahkan (C2-C3), warna merah pada permukaan tempe semakin jelas. Tempe dengan ABC3 yaitu tempe dengan penambahan angkak sebesar 2% (b/b) memiliki warna merah paling pekat.

Semua permukaan tempe pada penelitian ini ditutupi oleh miselium ragi tempe yang berwarna putih. Miselium yang berwarna putih merupakan hifa dari kapang tempe yang membaluti kacang sehingga tempe menjadi padat (Palupi & Rahmatika, 2022). Hifa yang terbentuk semakin tebal dan padat dengan semakin lama waktu fermentasi sehingga bertekstur tempe menjadi kompak dan menghasilkan aroma khas tempe. Campuran kedelai hitam dan biji kacang buncis yang difermentasi selama 24 jam menggunakan campuran ragi tempe dan angkak, menghasilkan tempe yang sesuai dengan Standar Nasional Indonesia dimana tekstur tempe yang kompak dan tidak hancur ketika dipotong dan tidak mengeluarkan bau ammonia (SNI, 2015).

Zat warna merah yang terdeteksi pada angkak adalah *monascorubramin* (Yuliana, 2018). Aroma tempe menurut SNI 2973:2011 adalah normal tanpa aroma amonia. Aroma amonia berasal dari degradasi makromolekul yaitu protein dan lemak (SNI, 2015). Protein dan lemak dari bijian didegradasi menjadi molekul sederhana dan bersifat volatil seperti amonia, aldehyd, dan keton (Rahayu & Sulistiawati, 2018). Tempe yang dihasilkan pada penelitian ini tidak mengeluarkan aroma amonia hal ini karena pembatasan waktu fermentasi hanya selama 24 jam. Tempe dengan waktu fermentasi terlalu lama menyebabkan terpecahnya protein menjadi asam amino dan kemudian berubah menjadi ammonia (Utami dkk. 2016).

### Hasil Uji Organoleptik Tempe

Uji organoleptik menggunakan metode *Hedonic Scale Scoring Test* dengan rentang nilai 1-4 untuk menilai kesukaan panelis terhadap tempe. Hasil yang didapatkan dilakukan uji menggunakan uji Friedman dengan menggunakan SPSS *Statistic 20*. Tempe terbaik adalah tempe yang memiliki tekstur yang kompak, sehingga tidak mudah hancur ketika diiris, berwarna putih merata pada seluruh

permukaan dan beraroma khas tempe tanpa adanya bau amonia (SNI, 2015). Tempe yang diuji secara organoleptik adalah tempe hasil fermentasi selama 24 jam yaitu ABC0, ABC1, ABC2, dan ABC3 dan tempe dengan penambahan kulit ari kedelai hitam ABC0D, ABC1D, ABC2D, dan ABC3D (Gambar 3).

Hasil uji kesukaan panelis terhadap tekstur tempe menunjukkan bahwa tekstur masing-masing tempe tidak sama yang dinyatakan dengan huruf yang berbeda-beda. Panelis lebih menyukai tekstur tempe hasil fermentasi dengan angkak sebesar 2,0% (b/b) daripada tekstur tempe lainnya. Panelis juga menyukai warna tempe hasil fermentasi dengan angkak sebesar 2,0% (b/b) dengan nilai 4,76 dan hasil uji statistik menunjukkan bahwa panelis juga menyukai warna tempe hasil fermentasi dengan angkak sebesar 1,5 yang ditandai dengan notasi yang sama (Tabel 2). Semakin banyak angkak yang digunakan sebagai starter maka warna merah pada permukaan tempe semakin kental dan menarik panelis.

### Aktivitas Antioksidan Tempe

Kapang *monascus* menghasilkan senyawa Monaklin K yang mempunyai aktivitas penurunan kolesterol pada manusia dan juga mampu menangkalkan radikal DPPH sebesar 39,50% (Song *et al.* 2019)

Aktivitas antioksidan angkak dari fermentasi beras hitam lebih tinggi dari pada beras merah ataupun beras putih berturut-turut 45,01%; 22,2% dan 21,24% (Cheng *et al.* 2016). Aktivitas antioksidan dari beras merah yang difermentasi dengan *monascus* didapatkan sebesar 70%.

Nilai aktivitas antioksidan tempe kedelai hitam dan biji kacang buncis pada penelitian ini dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub> yaitu aktivitas antioksidan yang dapat menangkalkan radikal DPPH sebanyak 50%. Aktivitas antioksidan tempe yang diukur adalah tempe yang dihasilkan dengan ragi tempe (0,2%) dan variasi angkak hasil fermentasi selama 24 jam yaitu ABC0, ABC1, ABC2, ABC3, dan tempe dengan penambahan kulit ari kedelai hitam dan variasi angkak yaitu ABC0D, ABC1D, ABC2D, dan ABC3D (Tabel 3). Tempe ABC0 tempe kontrol yaitu tempe dengan penambahan ragi 0,2% (b/b) tanpa penambahan angkak dapat menghambat radikal DPPH pada konsentrasi 110 ppm dan setelah ditambahkan angkak terjadi peningkatan dengan nilai penghambat terhadap DPPH (Tabel 3).

Nilai tertinggi didapatkan pada tempe ABC3D sebesar 34,46±0,08 ppm yaitu tempe yang dihasilkan menggunakan angkak (2%) dan penambahan kulit ari kedelai hitam. Semakin tinggi konsentrasi angkak (C) yang digunakan untuk

**Tabel 2.** Hasil uji kesukaan penelis terhadap tempe kedelai hitam dan biji kacang buncis

Kode tempe	Tekstur	Warna	
ABC0	4,44 ±0,62 <sup>a</sup>	3,04 ±0,29 <sup>a</sup>	3,52±0,86 <sup>a</sup>
ABC1	4,00 ±0,72 <sup>b</sup>	3,01 ±0,30 <sup>a</sup>	3,50±0,69 <sup>b</sup>
ABC2	4,00 ±0,56 <sup>b</sup>	4,81±0,49 <sup>b</sup>	4,20±0,45 <sup>c</sup>
ABC3	4,39 ±0,63 <sup>a</sup>	4,76±0,76 <sup>b</sup>	4,27±0,48 <sup>c</sup>
ABC0D	3,03 ±0,62 <sup>c</sup>	3,51±0,69 <sup>c</sup>	3,51±0,82 <sup>a</sup>
ABC1D	3,44 ±0,61 <sup>d</sup>	4,51±0,45 <sup>c</sup>	3,52±0,89 <sup>a</sup>
ABC2D	4,04 ±0,53 <sup>b</sup>	4,01±0,48 <sup>d</sup>	3,62±0,90 <sup>b</sup>
ABC3D	4,29 ±0,63 <sup>a</sup>	4,86±0,71 <sup>c</sup>	3,69±0,89 <sup>b</sup>

Keterangan : Notasi huruf yang berbeda tiap kolom menunjukkan ada perbedaan nyata pada P<0,05

**Tabel 3.** Nilai aktivitas antioksidan tempe kedelai hitam dan biji kacang buncis yang dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub>

Kode Tempe	Nilai IC <sub>50</sub> (ppm)*
ABC0	110±0,04
ABC1	107±0,05
ABC2	104± 0,09
ABC3	102,30±0,11
ABC0D	66,47±0,09
ABC1D	50,03±0,14
ABC2D	46,73±0,91
ABC3D	34,46±0,08

\*Pengukuran dilakukan secara duplo

fermentasi, maka aktivitas antioksidannya juga meningkat. Tempe ABC3 adalah tempe dengan penambahan angka sebesar 2% (b/b) memiliki aktivitas antioksidan terkuat dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $102,30 \pm 0,11$  ppm, nilai lebih tinggi dibandingkan dengan tempe ABC2, ABC1 dan ABC0 berturut-turut  $104 \pm 0,09$  dan  $110 \pm 0,04$  ppm.

Penelitian ini juga membuktikan bahwa penambahan kulit ari kedelai hitam dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Menurut hasil penelitian Chavez-Santoscoy *et al.* (2014) kulit kedelai hitam mengandung saponin dan flavonoid yang diduga memiliki aktivitas antioksidan. Tempe ABC3D adalah tempe dengan penambahan kulit ari kedelai hitam dan angka 2% (b/b) memiliki aktivitas antioksidan terkuat, yaitu  $34,46 \pm 0,08$  ppm jika dibandingkan dengan tempe lainnya. Peningkatan penghambatan terhadap radikal DPPH sebesar 3 kali lebih tinggi dibandingkan dengan tempe yang dibuat dengan penambahan jumlah angka yang sama namun tanpa kulit ari kedelai hitam (ABC3).

Ekstrak kedelai hitam mampu menghambat radikal DPPH sebesar  $17,58$   $\mu$ mol Trolox equivalent/g (Xu & Chang, 2007). Tepung kedelai yang hasil fermentasi dengan *M. purpureus* mempunyai kemampuan sebagai antioksidan dan jumlah isoflavon yang meningkat sehingga direkomendasikan untuk digunakan pada produk pangan (Handa dkk. 2019).

Biji-bijian yang difermentasi dengan kapang *M. purpureus* memiliki aktivitas antioksidan dan antikanker yang tinggi (Zeng *et al.*, 2021). Kedelai hitam mengandung senyawa antosianin sebesar  $222,49$  mg/100 sedangkan kedelai kuning tidak mengandung senyawa antosianin (Rosida & Sudaryati 2015). Beras merah yang diekstrak dengan aseton 40%, dapat menghambat radikal DPPH sebesar 80,4%, sedangkan aktivitas penghambatan terhadap DPPH oleh ekstrak angka (*red rice*) yang diekstrak dengan etanol 80% didapatkan sebesar 34,29% (Jun *et al.* 2012).

#### Kadar Total Fenolik dan Flavonoid Tempe

Fenolik merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdiri dari dua kelompok senyawa flavonoid

dan non-flavonoid, sedangkan flavonoid disusun oleh enam subkelas yaitu flavonol, flavon, isoflavonoid, flavanol, flavanon, dan antosianin yang terakumulasi pada vakuola jaringan tanaman sebagai konjugat dalam bentuk glikosilasi atau esterifikasi dan sebagian sebagai aglikon (Yang *et al.* 2018). Senyawa fenolik dan flavonoid dari ekstrak kedelai kuning diperankan oleh isoflavone 7-O- $\beta$ -glukoside, flavonols flavan-3-ols (Xu & Chang 2007).

Total fenolik pada tempe ABC3 yaitu tempe dengan angka 2% (b/b) tertinggi sebesar  $565,37 \pm 3,41$  mg GAE/g, nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan tempe ABC0 tempe tanpa angka. Total fenolik tempe ABC0, ABC1 dan ABC2 yaitu penambahan angka sebesar 0, 1 dan 1,5% (b/b), berturut-turut  $257,87 \pm 0,88$ ;  $321,00 \pm 0,00$  dan  $457,25 \pm 0,00$  mg GAE/g (Tabel 4). Beberapa perlakuan yang dapat meningkatkan total fenolik pada kedelai hitam adalah pengeringan dengan cara penyangraian (Rahayu & Sulistiawati, 2018), dengan cara memanggang (Kim *et al.* 2011).

Total fenolik dan flavonoid pada tempe ABC1D, ABC2D, ABC3D, yaitu tempe dengan penambahan angka dan kulit ari kedelai hitam lebih tinggi dibandingkan dengan tempe tanpa penambahan kulit ari kedelai hitam (Tabel 4). Hasil pengujian kadar total fenolik dan flavonoid pada kulit ari kedelai hitam didapatkan sebesar  $54,22 \pm 1,57$  mg GAE/g), dan  $5,41 \pm 1,17$  mgCE/g. Fenomena ini membuktikan bahwa fermentasi kedelai hitam dan biji kacang buncis menggunakan ragi tempe dan angka mampu meningkatkan kadar metabolit sekunder, peningkatan ini berasal dari angka dan kulit ari kedelai hitam.

Total fenolik dan flavonoid kedelai hitam sebesar 6,18 dan 2,57 (Xu & Chang 2007). Total fenolik pada dedak beras dan dedak beras yang difermentasi dengan *Monascus* didapatkan sebesar  $1,73$   $\mu$ g GAE/g, nilai ini menunjukkan bahwa fermentasi tidak meningkatkan total fenolik namun terjadi peningkatan kadar total flavonoid dari  $123$   $\mu$ g QE/g menjadi  $518$   $\mu$ g QE/g (Cheng *et al.* 2016). Kandungan flavonoid pada angka didapatkan sebesar  $7,60$  mg CE/g (Hasanah dkk. 2018). Fermentasi bekatul beras merah dengan *Rizhopus*

**Tabel 4.** Jumlah total fenolik dan total flavonoid tempe kedelai hitam dan biji kacang buncis

Kode tempe	Total Fenolik (mg GAE/g)	Total Flavonoid total (mg CE/g)
ABC0	$257,87 \pm 0,88$	$21,84 \pm 0,00$
ABC1	$321,00 \pm 0,00$	$22,61 \pm 0,89$
ABC2	$457,25 \pm 0,00$	$27,23 \pm 0,04$
ABC3	$565,37 \pm 3,41$	$34,15 \pm 0,47$
ABC0D	$244,28 \pm 2,21$	$37,45 \pm 1,09$
ABC1D	$324,28 \pm 0,00$	$43,16 \pm 0,41$
ABC2D	$330,00 \pm 3,03$	$45,06 \pm 0,71$
ABC3D	$374,28 \pm 1,01$	$45,06 \pm 0,71$
D	$54,22 \pm 1,57$	$5,41 \pm 1,17$

D= kulit ari kedelai hitam, pengujian dilakukan secara duplo

*oryzae* meningkatkan total fenolik dari 3,29 menjadi 3,94 (mg GAE/mg) (Faizah dkk. 2020). Kadar total flavonoid meningkat sebesar 4,58 kali lipat pada dedak beras yang difermentasi dengan kapang *Monascus* (Cheng *et al.* 2016).

## KESIMPULAN

Fermentasi campuran kedelai hitam dan biji kacang buncis menggunakan angkak dan ragi tempe meningkatkan aktivitas antioksidan dan jumlah metabolit sekunder. Kemampuan tempe kedelai hitam dan biji kacang buncis menghambat 50% radikal DPPH meningkat dari  $110 \pm 0,04$  ppm menjadi  $102,30 \pm 0,11$  ppm dan aktivitas antioksidan tertinggi didapatkan pada tempe hasil fermentasi dengan angkak 2% dengan penambahan kulit ari kedelai hitam. Tempe dengan penambahan kulit ari kedelai hitam dengan penambahan angkak 2% meningkatkan total flavonoid sebesar  $45,06 \pm 0,71$  mg CE/g. Tempe campuran kedelai hitam, biji kacang buncis menggunakan ragi tempe dan angkak berpotensi dikembangkan menjadi pangan fungsional antioksidan karena tekstur yang kompak dan warna tempe menarik.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pusat Penelitian dan Penerbitan (Puslitpen) UIN Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah mendanai penelitian ini. Manajemen Laboratorium Terpadu (PLT) UIN Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah mengizinkan menggunakan beberapa instrumen untuk pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chalid, S.Y., Muawanah, A., Nurbayti, S. & Utami, W.M. (2021). Characteristics and antioxidant activity of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) tempeh as functional food. *AIP Conference Proceedings*. 8-9 Agustus 2020. pp. 040003-1–040003-7.
- Chavez-Santoscoy, R.A., Gutierrez-Uribe, J.A., Granados, O., Torre-Villalvazo, I., Serna-Saldivar, S.O., Torres, N., Palacios-González, B. & Tovar, A.R. (2014). Flavonoids and saponins extracted from black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coats modulate lipid metabolism and biliary cholesterol secretion in C57BL/6 mice. *British Journal of Nutrition*. **112**: 886–899.
- Cheng, J., Choi, B.K., Yang, S.H. & Suh, J.W. (2016). Effect of fermentation on the antioxidant activity of rice bran by *Monascus pilosus* KCCM60084. *Journal of Applied Biological Chemistry*. **59**(1): 57-62.
- Faizah, F., Kusnandar, F. & Nurjanah, S. (2020). Senyawa fenolik, oryzanol, dan aktivitas antioksidan bekatul yang difermentasi dengan *Rhizopus oryzae*. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. **31**(1): 86-94.
- Fukami, H., Higa, Y., Hisano, T., Asano, K., Hirata, T. & Nishibe, S. (2021). A review of red yeast rice, a traditional fermented food in Japan and East Asia: Its characteristic ingredients and application in the maintenance and improvement of health in lipid metabolism and the circulatory system. *Molecules*. **26**(6): 1619.
- Handa, C. L., de Lima, F. S., Guelfi, M. F. G., da Silva Fernandes, M., Georgetti, S. R. & Ida, E. I. (2019). Parameters of the fermentation of soybean flour by *Monascus purpureus* or *Aspergillus oryzae* on the production of bioactive compounds and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 271, 274-283.
- Hasanah, Q., Andrianto, D. & Faridah, D. N. (2018). Aktivitas antioksidan dan Antihiperkolesterolemia in vitro dari campuran ekstrak angkak dan bekatul. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. **29**(2): 145–154.
- Jun, H. I., Song, G. S., Yang, E. I., Youn, Y. & Kim, Y. S. (2012). Antioxidant activities and phenolic compounds of pigmented rice bran extracts. *Journal of Food Science*. **77**(7): C759-C764.
- Kim, H.G., Kim, G.W., Oh, H., Yoo, S.Y., Kim, Y. O. & Oh, M.S. (2011). Influence of roasting on the antioxidant activity of small black soybean (*Glycine max* L. Merrill). *LWT-Food Science and Technology*. **44**(4): 992-998.
- Kusnandar, F., Karisma, V.W., Firlieyanti, A.S. & Purnomo, E. H. (2020). Perubahan Komposisi Kimia Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) selama pengolahan. *Jurnal Teknologi Pangan*. **14**(1): 108-123.
- Mutsyahidan, A.M.A., Arisanti, D. & Suleman, P. (2018). Mutu Tempe Variasi Kacang Tanah dan Kedelai. *Jurnal Technopreneur (JTech)*. **6**(1): 26-29.
- Naisali, H. & Wulan, S.N. (2020). Karakteristik sensori tempe kacang tunggak hitam dan tempe kedelai. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. **8**(1): 29-35.
- Nurrahman, N., Astuti, M., Suparmo, S., & Soesatyo, M. H. (2012). Pertumbuhan jamur, sifat organoleptik dan aktivitas antioksidan tempe kedelai hitam yang diproduksi dengan berbagai jenis inokulum. *Agritech*. **32**(1): 60-65.
- Palupi, E. & Rahmatika, M. (2022). Peningkatan nilai gizi pada susu tempe kedelai hitam (*Glycine soja* sieb). *Jurnal Ilmu Gizi dan Dietetik*. **1**(1): 42-49.
- Rahayu, W.M. & Sulistiawati, E. (2018). Evaluasi komposisi gizi dan sifat antioksidatif kedelai hitam mallika (*Glycine max*) akibat penyangraian. *Agroindustrial Technology Journal*. **2**(1): 82-90.
- Rosida, D.F. & Sudaryati, H.P. (2015). Karakteristik fisiko kimia dan aktivitas antioksidan taucu lamtoro gung (*Leucaena leucocephala*) angkak. *Jurnal Teknologi Pangan*. **8**(2): 156-164.

- SNI. (2015). Tempe Kedelai (SNI 3144.). Badan Standar Nasional.
- Song, J., Luo, J., Ma, Z., Sun, Q., Wu, C. & Li, X. (2019). Quality and authenticity control of functional red yeast rice-a review. *Molecules*. **24**: 1-25.
- Utami, R., Wijaya, C. H. & Lioe, H. N. (2016). Taste of water-soluble extracts obtained from over-fermented tempe. *International Journal of Food Properties*. **19(9)**: 2063–2073.
- Widoyo, S., Handajani, S. & Nandariyah, N. (2015). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar serat kasar dan aktivitas antioksidan tempe beberapa varietas kedelai. *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*. **13(2)**: 59–25.
- Wiyoto, H. (2010). Kajian aktivitas antioksidan dan kadar antikoolesterol pada angkak dengan variasi jenis substrat (beras, jagung, gaplek). Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Xu, B.J. & Chang, S.K.C. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science*. **72(2)**: S159-S166.
- Yang, Q.Q., Gan, R.Y., Ge, Y.Y., Zhang, D. & Corke, H. (2018). Polyphenols in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.): chemistry, analysis, and factors affecting composition. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. **17(6)**: 1518–1539.
- Yuliana, A. (2018). Isolasi zat warna baru monascus purpureus dari hasil fermentasi padat dengan beras sebagai substrat. *Journal of Pharmacopolium*. **1(1)**: 13-22.
- Zeng, H., Qin, L., Liu, X. & Miao, S. (2021). Increases of lipophilic antioxidants and anticancer activity of coix seed fermented by *Monascus purpureus*. *Foods*. **10(3)**: 1-12.
-