



Analisis Aktivitas Antioksidan, Total Senyawa Fenolik Dan Kandungan Cemarkan Aflatoksin Pada Tempe Dari Berbagai Varietas Kedelai (*Glycine Max L. Merrill*)

Wulan Cahyaning Ayu

Universitas Katolik Widya Karya Malang

Korespondensi penulis: wulancahyaningayu@gmail.com

Abstract. Tempe is an authentic Indonesian fermented product made from soybeans or other types of beans that use the fungus *Rhizopus oligosporus* and uses the fungus *Rhizopus oryzae*. Soybean (*Glycine max*) is one of the sources of vegetable protein, which is relatively cheap compared to animal protein sources. Soybeans contain phenolic compounds. Phenolic compounds contained in soybeans partly act as antioxidants. Soybeans also contain aflatoxin. Tempe made from fermented soybeans can be indicated aflatoxin. In this study using a Complete Random Design (CRD) with four varieties treatment and that is import soybeans "Bola" (A1), local soybean varieties Dena 1 (A2), local soybean varieties Devon 1 (A3) and local soybean varieties Anjasmara (A4).

Keywords: Aflatoxin, Antioxidant Activity, Total Phenolic Compounds, Tempe, Soybean Varieties

Abstrak. Tempe merupakan produk fermentasi asli Indonesia yang terbuat dari kacang kedelai atau jenis kacang-kacang lain yang menggunakan jamur *Rhizopus oligosporus* dan menggunakan jamur *Rhizopus oryzae*. Kedelai (*Glycine max*) termasuk salah satu sumber protein nabati yang harganya relatif murah jika dibandingkan dengan sumber protein hewani. Kedelai mengandung senyawa fenolik. Senyawa fenolik yang terdapat dalam kedelai sebagian berperan sebagai zat antioksidan. Kedelai juga mengandung aflatoksin. Tempe yang terbuat dari fermentasi kacang kedelai bisa terindikasi aflatoksin. Pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan empat varietas kedelai yaitu kedelai impor cap "Bola" (A1), kedelai lokal varietas Dena 1 (A2), kedelai lokal varietas Devon 1(A3) dan, kedelai lokal varietas Anjasmara (A4).

Kata kunci: Aflatoksin, Antioksidan, Senyawa Fenolik, Tempe, Varietas Kedelai

LATAR BELAKANG

Tempe merupakan produk fermentasi asli Indonesia yang terbuat dari kacang kedelai atau jenis kacang-kacang lain yang menggunakan jamur *Rhizopus oligosporus* dan menggunakan jamur *Rhizopus oryzae*. Secara umum, tempe berwarna putih karena pertumbuhan miselia kapang yang merekatkan biji-biji kedelai sehingga terbentuk tekstur yang memadat. Proses pembuatan tempe melalui beberapa tahap yaitu, sortasi, pencucian, perebusan, perendaman, penirisan dan pengupasan kulit, pencucian, perebusan, penirisan dan pendinginan, peragian, pembungkusan, pemeraman (Rukmana dan Yudirachman, 2014). Degradasi komponen-komponen kedelai pada fermentasi membuat tempe memiliki rasa dan aroma khas. Tempe kaya akan serat pangan, kalsium, vitamin B dan zat besi. serta berbagai

macam kandungan dalam tempe mempunyai nilai obat, seperti antibiotika untuk menyembuhkan infeksi dan antioksidan pencegah penyakit degeneratif seperti penuaan dini, jantung koroner dan hipertensi (Suharyono dan Susilowati, 2006).

Kedelai (*Glycine max*) termasuk salah satu sumber protein nabati yang harganya relatif murah jika dibandingkan dengan sumber protein hewani (Koswara, 2005). Jenis kedelai ada dua yaitu, kedelai impor dan kedelai lokal. Kedelai lokal memiliki ± 86 varietas bibit unggul yang tercatat dalam data Balitkabi dari tahun 1918-2016 (Balitkabi, 2016). Kedelai impor dengan kualitas warna seperti lebih putih dan ukuran biji seragam, biji tidak tercampur kotoran, sedangkan kedelai lokal dengan ukuran kecil atau tidak seragam dan kurang bersih, kulit ari kacang sulit terkelupas saat proses pencucian kedelai, proses peragiannya pun lebih lama (Hidayah et al., 2012).

Semua varietas kedelai dapat digunakan sebagai bahan baku tempe. Namun ada beberapa varietas kedelai lokal yang lebih baik digunakan sebagai bahan baku tempe karena akan membuat kualitas tempe menjadi lebih baik. Varietas kedelai lokal yang sebaiknya digunakan untuk bahan baku tempe yaitu, Argomulyo, Anjasromo, Dena 1, Burangrang, Gunitir, Argopuro, Gema, dan Devon 1. Varietas-varietas tersebut memiliki kadar protein 28,1%-42%, berat biji 11,9g/100 biji - 16g/100 biji, berwarna kuning dan berbentuk bulat atau bulat lonjong sehingga lebih sesuai untuk tempe dan membuat kualitas tempe menjadi baik (Balitkabi, 2016).

KAJIAN TEORITIS

1. Tempe

Tempe merupakan makanan tradisional yang telah lama dikenal di Indonesia. Indonesia merupakan negara produsen tempe terbesar di dunia dan menjadi pasar kedelai terbesar di Asia. Sebanyak 50% dari konsumsi kedelai di Indonesia dilakukan dalam bentuk tempe, 40% tahu dan 10% dalam bentuk produk lain (seperti tauco, kecap dan lain-lain). Konsumsi tempe rata-rata per orang per tahun di Indonesia saat ini diduga sekitar 6,45 kg (Astawan, 2004).

Proses pembuatan tempe dapat diawali dengan perebusan kacang kedelai ± 2 jam dan dibiarkan dalam air perebus tanpa api ± 24 jam. Kemudian kulit bijinya dibuang dan direbus kembali selama setengah jam, lalu ditiriskan untuk didinginkan. Setelah cukup dingin dicampur bibit tempe dan dibentuk menjadi lempengan-lempengan tipis, dibungkus daun pisang atau dalam kantung plastik yang dilubangi agar panas dapat keluar dengan uap air yang terjadi. Tempe dibiarkan mengalami fermentasi

selama 24 jam maka terjadilah hasil olahan tempe yang diliputi benang-benang jamur secara merata. Campuran untuk membuat tempe dapat ditambah tepung atau ampas tahu agar pertumbuhan jamur lebih baik (Sediaoetama, 2009).

2. Kedelai

Tanaman kedelai adalah tanaman yang merupakan salah satu sumber potensi pangan yang tidak asing lagi bagi masyarakat Indonesia. Kedelai merupakan sumber protein yang paling murah di dunia. Varietas kedelai yang ada di Indonesia mempunyai kadar protein 30,53 - 44 % (Snyder dan Kwon, 2000).

Kedelai atau *Glycine max* (L) Merr termasuk familia Leguminosae, sub famili Papilionaceae, genus *Glycine max*, berasal dari jenis kedelai liar yang disebut *Glycine unriensis*. Secara fisik setiap kedelai berbeda dalam hal warna, ukuran dan komposisi kimianya. Perbedaan secara fisik dan kimia tersebut dipengaruhi oleh varietas dan kondisi dimana kedelai tersebut dibudidayakan (Ketaren, 2006).

Klasifikasi tanaman kedelai menurut Snyder dan Kwon (2000) yaitu sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Sub Divisi	: <i>Angiospermae</i> (Biji tertutup)
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i> (Berkeping biji dua / dikotil)
Ordo	: <i>Rosales</i>
Famili	: <i>Leguminosae</i> (Kacang-kacangan)
Genus	: <i>Glycine</i>
Spesies	: <i>Glycine max</i> (L.) Merril

3. Antioksidan

Antioksidan dapat berasal dari dalam tubuh dan luar tubuh. Didalam tubuh kita memiliki sistem enzim antioksidan yang bekerja secara simultan memetabolisme radikal bebas sehingga tidak meninggalkan kerusakan pada jaringan (Hodgson dan Levi, 2000). Sementara itu jenis antioksidan yang lainnya berasal dari luar tubuh, yaitu yang berasal dari makanan, atau komponen bahan makanan (fitokimia) seperti fenol karotenoid, atau alkaloid (Ariani dan Hastuti, 2009). Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Winarsi, 2007).

4. Aflatoksin

Aflatoksin merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat toksik, diproduksi oleh strain tertentu jamur *Aspergillus flavus* dan *A. parasiticus* (Klich 2007). Penemuan aflatoksin bermula dari munculnya penyakit ‘Turkey X’ di Inggris pada tahun 1962 di mana 100.000 kalkun mati setelah makan kacang tanah terkontaminasi aflatoksin (Amaike dan Keller, 2011). Aflatoksin termasuk golongan karsinogen kelas 1 terhadap manusia (Bankole et al., 2005), serta mempunyai predikat sebagai *hepatotoxic, carcinotoxic dan teratogenic*.

Aflatoksin pada tempe dapat menurun hingga 70% karena adanya jamur yang dipakai dalam pembuatan tempe. Spesies-spesies kapang yang terlibat dalam fermentasi tempe tidak memproduksi racun, bahkan kapang itu mampu melindungi terhadap kapang penghasil aflatoksin.

R. oligosporus dapat menghambat pertumbuhan dan akumulasi aflatoksin B1 seperti *Aspergillus flavus* dan *A. parasiticus*. Berdasarkan kultur *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak tempe bersifat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, tetapi dapat menstimulasi pertumbuhan *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* yang merupakan flora normal usus (Kuligowski et al., 2013). Ekstrak tempe mentah dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus* dan sporanya (Roubous et al., 2010) dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* (Mambang et al., 2014).

METODE PENELITIAN

1. Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari sampai Mei 2019 di Laboratorium Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Katolik Widya Malang dan Laboratorium Teknik Kimia Polteknik Negeri Malang.

2. Rancangan Percobaan

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan sebagai berikut:

A1 = Kedelai impor “Bola”

A2 = Kedelai lokal varietas Dena 1

A3 = Kedelai lokal varietas Devon 1

A4 = Kedelai lokal varietas Anjasmara Setiap perlakuan akan diulang tiga kali.

3. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis dahulu menggunakan Uji Homogenitas. Uji Homogenitas merupakan prasyarat untuk analisis data. Data dianalisis menggunakan *General Linier Model* dengan SPSS IBM versi 23. Dasar pengambilan Keputusan dengan kemungkinan akan diperoleh yaitu:

- a. Jika nilai signifikansi $< 0,05$, maka dikatakan bahwa varian dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah tidak sama.
- b. Jika nilai signifikansi $> 0,05$, maka dikatakan bahwa varian dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah sama.

Jika hasil yang diperoleh menunjukkan tidak sama, maka untuk menentukan perlakuan-perlakuan mana yang berbeda dilakukan uji lanjutan (*post hoc test*) menggunakan Uji LSD (*Least Significant Different*). Uji LSD bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antar tiap individu perlakuan.

Hipotesis statistik dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

$$h_0 : \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_p = \mu$$

Jika nilai signifikansi perlakuan 1 sama dengan perlakuan 2 dengan faktor varietas kedelai. Artinya, varietas kedelai tidak berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, total senyawa fenolik dan kandungan cemaran aflatoksin pada tempe.

$$h_1 : \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_p \neq \mu$$

Jika nilai signifikansi perlakuan 1 tidak sama dengan perlakuan 2 dengan faktor varietas kedelai. Artinya, varietas kedelai berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan, total senyawa fenolik dan kandungan cemaran aflatoksin pada tempe.

Uji lanjutan LSD (*Least Significant Different*) dilakukan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan setiap perlakuan jenis varietas kedelai.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan senyawa antioksidan menghalangi radikal bebas yang dinyatakan dalam persentase (%). Analisis aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH (2,2,-difenil-1-pikilhidrazil). DPPH adalah senyawa organik yang stabil dan berwarna ungu yang digunakan untuk penangkapan radikal bebas dari beberapa komponen alam seperti isoflavon pada kedelai. Isoflavon merupakan komponen alam yang berperan sebagai

antioksidan alami. Hasil analisis data anova pada uji aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 2. Hasil aktivitas antioksidan pada tempe dari berbagai varietas kedelai menggunakan metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rerata Aktivitas Antioksidan (%) Tempe dari Berbagai Varietas Kedelai

No	Varietas Kedelai	Ulangan			Jumlah	Rata-Rata
		1	2	3		
1.	Cap Bola	30,33	30,68	30,24	91,25	30,42 ± 0,23 ^b
2.	Dena 1	29,95	29,71	29,84	89,50	29,83 ± 0,12 ^a
3.	Devon 1	35,31	35,89	34,97	106,17	35,39 ± 0,47 ^c
4.	Anjasmara	38,54	38,87	38,45	115,86	38,62 ± 0,22 ^d

Sumber : Data diolah

Keterangan: Angka yang diikuti notasi huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada uji LSD 5% = 1,4748

Pada Tabel 7. menunjukkan bahwa rerata aktivitas antioksidan pada tempe paling tinggi dari varietas kedelai lokal Anjasmara sebesar 38,62 ± 0,22d. Rerata aktivitas antioksidan pada tempe paling rendah dari dengan varietas kedelai lokal Dena 1 sebesar 29,83 ± 0,12a. Data aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Lampiran 1. Pada Tabel 7. menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tempe dari setiap perlakuan yaitu varietas kedelai berbeda nyata jika dilihat dari nilai signifikan > 0,05 sehingga setiap perlakuan memiliki notasi huruf yang berbeda.

Aktivitas antioksidan pada tempe dari berbagai varietas kedelai memiliki nilai yang berbeda-beda aktivitas antioksidan pada tempe bergantung pada kandungan dari varietas kedelai dan kondisi lingkungan tumbuh tanaman. Antioksidan alami berasal dari senyawa fenolik seperti golongan *flavonoid*. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan tanaman, yang dapat berfungsi mencegah terjadinya kerusakan sel akibat radikal bebas. *Metabolit* sekunder adalah senyawa organik yang dihasilkan tumbuhan yang tidak memiliki fungsi langsung pada fotosintesis pertumbuhan atau *respirasi*, *transport solute*, *translokasi*, *sintesis protein*, *asimilasi nutrient*, *diferensiasi*, pembentukan karbohidrat, protein dan lipid.

Aflatoksin merupakan mikotoksin yang berbahaya bagi kesehatan manusia jika tertelan lebih dari ambang batas yang ditentukan yaitu 50 ppb (Farombi, 2006). Sebagian besar negara termasuk Amerika Serikat menetapkan 20 ppb sebagai batas maksimal kandungan aflatoksin di dalam pangan, sementara masyarakat ekonomi

Erupa (*European Economic Community, EEC*) pada 1999 menetapkan kandungan aflatoksin total adalah 4.0 ppb, AFB1 sebesar 2.0 ppb, dan menurut BPOM 20 ppb (Farombi, 2006). Cemaran aflatoksin pada tempe dari berbagai varietas kedelai dianalisis menggunakan analisis kualitatif LC MS/MS. LC MS/MS (*Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometer* (LC-MS), yang dikenal juga sebagai *High Performance Liquid Chromatography* dengan *Mass Spectrometer* (HPLC-MS). LC-MS/MS memadukan daya pemisahan HPLC untuk bahan berat molekul besar dengan kemampuan MS untuk mendeteksi dan mengonfirmasikan identitas molekul secara selektif.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa hasil dari penelitian tentang aktivitas antioksidan pada tempe dari berbagai varietas kedelai (*Glycine max L. Merrill*) menghasilkan rerata aktivitas antioksidan pada tempe paling tinggi dari tempe dengan varietas kedelai lokal Anjasmara sebesar $38,62 \pm 0,22$ dan rerata aktivitas antioksidan pada tempe paling rendah dari tempe dengan varietas kedelai lokal Dena 1 sebesar $29,83 \pm 0,12$.

Hasil dari penelitian tentang total senyawa fenolik pada tempe dari berbagai varietas kedelai (*Glycine max L. Merrill*) menghasilkan rerata total senyawa fenolik pada tempe paling tinggi dari tempe dengan varietas kedelai lokal Anjasmara sebesar $16,26 \pm 0,29$ dan rerata total senyawa fenolik pada tempe paling rendah dengan varietas kedelai lokal Dena 1 sebesar $13,96 \pm 0,29$.

Hasil dari penelitian tentang cemaran aflatoksin pada tempe dari berbagai varietas kedelai (*Glycine max L. Merrill*) paling rendah pada tempe kedelai varietas Devon 1 sebesar $2,53 \times 10^{-7}$ ppb dengan jenis aflatoksin B2 dan masih dalam ambang batas yang ditentukan oleh BPOM yaitu 20 ppb.

2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian, pembahasan dan kesimpulan yang diperoleh, maka saran yang dapat diberikan adalah sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut tentang cemaran aflatoksin pada tempe secara kuantitas agar lebih jelas nilai cemaran aflatoksinya dengan menggunakan metode LC MS/MS.

DAFTAR REFERENSI

- Ali, I. 2008. Pembuatan Tempe. Yogyakarta: Kanisius.
- Amaiike, S., Keller, N.P. 2011. *Aspergillus flavus*. *The Annual Review of Phytopathology* 49: 107-133.
- Ariani, D.R.S. dan Hastuti, W. 2009. Analisis *Isoflavon* dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Tempe dengan Variasi Lama waktu Fermentasi dan Metode Ekstraksi. Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia. Surakarta.
- Astawan M. 2004. Tetap Sehat dengan Produk Makanan Olahan. Solo.
- Balitkabi. 2016. Deskripsi Varietas Unggul Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, Malang. 171 hlm.
- Bankole, Singh, Trussell. 2005. *Food and feeding habits of some commercially important fish species in Gbedikere Lake, Bassa Kogi State, Nigeria*. *Inter. J. of Lakes and Rivers* 2(1): 31-36.
- Farombi, E.O. 2006. *Review: Aflatoxin contamination of foods in developing countries: Implications for hepatocellular carcinoma and chemopreventive strategies*. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 5, No. 1, Jan, pp. 1-14.
- Hodgson, E., dan Levi, P.E. (2000). *A Textbook of Modern Toxicology. Edisi Kedua*. New York: McGraw-Hill Companies, Inc. Halaman 292, 298, 301, 302.
- Ketaren. 2006. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Koswara. 2005. Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadikan Makanan Bermutu. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan.
- Kuligowski, Ronchi, and Kinshey, 2013. *Evaluation of Bean and Soy Tempeh Influence on Intestinal Bacteria and Estimation of Antibacterial Properties of Bean Tempeh*. *Polish Journal of Microbiology*. 62(2): 189-194.
- Mambang, Eka Fitri, Sri Hartanti., 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak tempe terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal teknol dan Industri Pangan* 25(1): 115-118. DOI: 10.6066/jtip.2014.25.1.115.
- Roubous., 2010. *Soya bean "tempe" extract show antibacterial activity against Bacillus cereus cells and spore*. *Journal of Applied Microbiology* (109): 137- 145. DOI: 10.1111/j.1365- 2672.2009.04637.x.
- Rukmana, H.R., dan Yudirachman, Herdi. 2014. Budi Daya Dan Pengolahan Hasil Kacang Kedelai Unggul. Bandung: Nuansa Aulia
- Sediaoetama A. D. 2009. Ilmu Gizi. Jakarta : Dian Rakyat.
- Snyder, H.E. and W. Know, T. 2000. *Soybean Utilization. an AVI Book. Published by van Nostrand Rein hold company*, New york.
- Suharyono, A. S. dan Susilowati. 2006. Pengaruh Jenis Tempe dan Bahan Pengikat Terhadap Sifat Kimia dan Organoleptik Produk Nugget Tempe. Prosiding Seminar Hasil-hasil Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Universitas Lampung, 2006, hal 280-290.
- Winarsi, W., 2007, Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, pp. 13-15, 77-81.