

**KAJIAN PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA TEMPE
DENGAN BERBAGAI JENIS INOKULUM**

(Skripsi)

Oleh

VERA OKTAVIANA WIJAYANTI



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRACT

COMPARATIVE STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY IN TEMPEH WITH DIFFERENT TYPES OF INOCULUM

By

VERA OKTAVIANA WIJAYANTI

The purpose of the research was to determine the comparison of antioxidant activity in tempeh with different types of inoculum. The research was arranged in a non-factorial Complete Randomized Block Design (CRBD), with 5 treatments, namely soybean boiled 30 minutes (K0), soybean boiled 30 minutes + commercial yeast 0.2 g (K1), soybean boiled 30 minutes + *Sacharomyces cerevisiae* 1 mL (K2), soybean boiled 30 minutes + *Rhizopus oligosporus* 1 mL (K3), and soybean boiled 30 minutes + *Rhizopus oligosporus* 1 mL+ *Sacharomyces cerevisiae* 1 mL (K4). Each treatment was repeated 4 times. The data were analyzed by variance to get an estimator of the variance of error and a significance test to determine the effect between treatments. Differences between treatments were analyzed using Least Significant Different (LSD) at the 5% level. The results showed that soybean tempeh with the addition of *Saccharomyces cerevisiae* and *Rhizopus oligosporus* had higher antioxidant activity than soybean tempeh with the addition of other inoculums. Tempe treated with K4 (soybean boiled 30 minutes + *S. cerevisiae* 1 mL + *R. oligosporus* 1 mL) had antioxidant activity of 66,36%.

Keywords: antioxidant activity, tempeh, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oligosporus*.

ABSTRAK

KAJIAN PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA TEMPE DENGAN BERBAGAI JENIS INOKULUM

Oleh

VERA OKTAVIANA WIJAYANTI

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan pada tempe dengan berbagai jenis inokulum. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial, dengan 5 perlakuan yang berbeda yaitu kedelai yang direbus selama 30 menit (K0), kedelai yang direbus selama 30 menit + ragi komersial 0,2 g (K1), kedelai yang direbus selama 30 menit + *Sacharomyces cerevisiae* 1 mL (K2), kedelai yang direbus selama 30 menit + *Rhizopus oligosporus* 1 mL (K3), serta kedelai yang direbus selama 30 menit + *Rhizopus oligosporus* 1 mL + *Sacharomyces cerevisiae* 1 mL (K4). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Data dianalisis sidik ragam untuk mendapat penduga ragam galat dan uji signifikansi untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan. Perbedaan antar perlakuan dianalisis menggunakan Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tempe kedelai dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan tempe kedelai dengan penambahan inokulum lain. Pada tempe dengan perlakuan K4 (kedelai direbus 30 menit + *S. cerevisiae* 1 mL + *R. oligosporus* 1 mL) memiliki aktivitas antioksidan yaitu sebesar 66,36%.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, tempe, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oligosporus*

**KAJIAN PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA TEMPE
DENGAN BERBAGAI JENIS INOKULUM**

Oleh

VERA OKTAVIANA WIJAYANTI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul Skripsi : **KAJIAN PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA TEMPE DENGAN BERBAGAI JENIS INOKULUM**

Nama : **Vera Oktaviana Wijayanti**

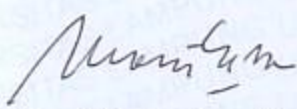
Nomor Pokok Mahasiswa : 1714051018

Program Studi : **Teknologi Hasil Pertanian**


Fakultas : **Pertanian**




Ir. Samsul Rizal, M.Si.
NIP. 19690225 199403 1 002


Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.
NIP. 1961129 198703 2 002


2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian


Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A.
NIP.19721006 199703 1 005

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Ir. Samsul Rizal, M.Si.



Sekretaris : Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc.



Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Ir. Suharyono AS., M.S.



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 09 Agustus 2021

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Vera Oktaviana Wijayanti

NPM : 1714051018

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukanlah hasil dari plagiat karya orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 09 Agustus 2021
Yang membuat pernyataan



Vera Oktaviana Wijayanti
NPM. 1714051018

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Ogan Komering Ulu Timur pada 25 Oktober 1999, sebagai anak pertama dari pasangan Bapak Wahyu Tri Widyatno dan Ibu Veronika Martina. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 02 Sidomulyo pada tahun 2011, kemudian melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Charitas 02 Mojosari pada tahun 2014. Penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Imanuel Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2017. Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2017 melalui jalur SBMPTN.

Pada bulan Januari-Februari 2020, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Bina Bumi, Kecamatan Meraksa Aji, Kabupaten Tulang Bawang. Pada bulan Juli-Agustus 2020, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di PT. Charoen Pokphand Indonesia Silo-Dryer Bandar Lampung dengan judul “Mempelajari Proses Persiapan Bahan Baku di PT. Charoen Pokphand Indonesia Silo-Dryer, Bandar Lampung”.

Selama menjadi mahasiswa, penulis bergabung menjadi anggota Departemen Komunikasi dan Informasi UKM-U Sains dan Teknologi (2019), dan anggota Departemen Hubungan Masyarakat UKM-U Sains dan Teknologi (2020). Penulis pernah menjadi Asisten Praktikum mata kuliah Kimia Dasar Pertanian 2018/2019 dan Teknologi Fermentasi 2020/2021.

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul *“Studi Komparasi Aktivitas Antioksidan Pada Tempe dengan Berbagai Jenis Inokulum”* adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Teknologi Pertanian di Universitas Lampung.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang memfasilitasi penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung.
3. Bapak Ir. Samsul Rizal, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus Dosen Pembimbing Pertama, atas arahan, saran, bantuan, motivasi, dan bimbingan yang telah diberikan selama perkuliahan dan selama proses penelitian hingga penyelesaian skripsi penulis.
4. Ibu Dr. Dra. Maria Erna Kustyawati, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Kedua, yang telah memberikan banyak bimbingan, arahan, masukan serta dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Ir. Suharyono AS, M.S. selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan saran serta masukan terhadap skripsi penulis.
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staf dan karyawan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung, yang telah mengajari, membimbing, dan membantu penulis dalam menyelesaikan administrasi akademik.

7. Kedua orang tua penulis Bapak Wahyu Tri Widiyatno dan Ibu Veronika Martina dan adik penulis Wimmy Mahendra, yang telah memberikan dukungan material dan semangat, serta do'a yang selalu menyertai penulis selama ini.
8. Teman penelitian tempe Virda dan mba Sonia, serta sahabat penulis di kampus Anggi, Anisa, Sherliana, Ibnu, dan Wisnu yang telah mewarnai hidup, menemani, membantu, mendukung, menegur, mengingatkan serta menjadi tempat penulis untuk berkeluh kesah.
9. Keluarga besar Teknologi Hasil Pertanian angkatan 2017 terima kasih atas perjalanan, kebersamaan serta seluruh cerita suka maupun dukanya selama ini. Adik-adik dan kakak-kakak yang telah membantu selama perkuliahan, penelitian, sampai penyelesaian skripsi penulis.

Penulis berharap semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas seluruh kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Bandar Lampung, Agustus 2021

Vera Oktaviana Wijayanti

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	3
1.3. Kerangka Pemikiran	3
1.4. Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1. Kedelai.....	7
2.2. Tempe	9
2.3. <i>Rhizopus oligosporus</i>	11
2.4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	13
2.5. Tempe Sumber Antioksidan.....	15
2.6. Bioaktivitas β -glukan.....	19
III. METODE PENELITIAN	21
3.1. Tempat dan Waktu.....	21
3.2. Bahan dan Alat	21
3.3. Metode	22
3.4. Pelaksanaan Penelitian	22
3.4.1. Persiapan Pembuatan Biakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	22
1. Pembuatan Media MEA (<i>Malt Extract Agar</i>).....	22
2. Persiapan Pemiakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	23
3.4.2. Persiapan Pembuatan Biakan <i>Rhizopus oligosporus</i>	24
1. Pembuatan Media PDA (<i>Potato Dextrose Agar</i>).....	24
2. Pemiakan <i>Rhizopus oligosporus</i>	25

3.4.3. Pembuatan Tempe Kedelai	26
3.5. Pengamatan	28
3.5.1. Uji Derajat Keasaman (pH)	28
3.5.2. Aktivitas Antioksidan	28
3.5.3. Uji Mikrobiologi.....	29
1. Perhitungan Jumlah Kapang dan Khamir menggunakan Metode Total Plate Count (TPC)	29
2. Perhitungan Jumlah Bakteri menggunakan Metode Total Plate Count (TPC)	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1. Derajat Keasaman (pH)	32
4.2. Hasil Uji Mikrobiologi	34
4.2.1. Jumlah Kapang	34
4.2.2. Jumlah Khamir	36
4.2.3. Jumlah Bakteri.....	38
4.3. Aktivitas Antioksidan	39
V. SIMPULAN DAN SARAN	44
5.1. Kesimpulan.....	44
5.2. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	52

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Komposisi Kimia Kedelai Kering per 100 g.....	8
2. Komposisi nutrisi kedelai dengan produk olahan kedelai per 100 g	9
3. Kandungan gizi tempe.....	10
4. Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 3144:2015	11
5. Hasil uji lanjut BNT 0,05 nilai pH pada tempe dengan penambahan berbagai jenis inokulum.....	32
6. Hasil uji lanjut BNT 0,05 perhitungan jumlah kapang pada tempe dengan penambahan berbagai jenis inokulum.....	34
7. Hasil uji lanjut BNT 0,05 perhitungan jumlah khamir pada tempe dengan penambahan berbagai jenis inokulum	36
8. Hasil uji lanjut BNT 0,05 perhitungan jumlah bakteri pada tempe dengan penambahan berbagai jenis inokulum	38
9. Hasil uji lanjut BNT 0,05 aktivitas antioksidan pada tempe dengan penambahan berbagai jenis inokulum	40
10. Hasil pengujian pH pada tempe dengan inokulum yang berbeda.....	53
11. Uji Kehomogenan (kesamaan) ragam (Bartlett's test) pengujian pH pada tempe dengan inokulum yang berbeda.....	53
12. Analisis ragam pengujian pH pada tempe dengan inokulum yang berbeda ...	54
13. Uji BNT terhadap pengujian pH pada tempe dengan inokulum yang berbeda	54
14. Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada tempe dengan inokulum yang berbeda	54
15. Uji Kehomogenan (kesamaan) ragam (Bartlett's test) aktivitas antioksidan pada tempe dengan inokulum yang berbeda	55

16. Analisis ragam aktivitas antioksidan pada tempe dengan inokulum yang berbeda	55
17. Uji BNT terhadap aktivitas antioksidan pada tempe dengan inokulum yang berbeda	56
18. Hasil pengujian total kapang pada tempe dengan inokulum yang berbeda	56
19. Uji Kehomogenan (kesamaan) ragam (Bartlett's test) total kapang pada tempe dengan inokulum yang berbeda.....	56
20. Analisis ragam total kapang pada tempe dengan inokulum yang berbeda	57
21. Uji BNT terhadap total kapang pada tempe dengan inokulum yang berbeda	57
22. Hasil pengujian total khamir pada tempe dengan inokulum yang berbeda	58
23. Uji Kehomogenan (kesamaan) ragam (Bartlett's test) total khamir pada tempe dengan inokulum yang berbeda.....	58
24. Analisis ragam total khamir pada tempe dengan inokulum yang berbeda.....	59
25. Uji BNT terhadap total khamir pada tempe dengan inokulum yang berbeda.	59
26. Hasil pengujian total bakteri pada tempe dengan inokulum yang berbeda.....	59
27. Uji Kehomogenan (kesamaan) ragam (Bartlett's test) total bakteri pada tempe dengan inokulum yang berbeda.....	60
28. Analisis ragam total bakteri pada tempe dengan inokulum yang berbeda.....	60
29. Uji BNT terhadap total bakteri pada tempe dengan inokulum yang berbeda	61

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tempe kedelai.....	10
2. <i>Rhizopus oligosporus</i>	12
3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15
4. Diagram Alir Pembiakan <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	24
5. Diagram Alir Persiapan Inokulum <i>Rhizopus oligosporus</i>	25
6. Diagram alir pembuatan tempe kedelai	27
7. Diagram alir penghitungan jumlah kapang dan khamir pada tempe	30
8. Diagram alir penghitungan jumlah bakteri pada tempe.....	31
9. Pembuatan media PDA dan MEA dalam Erlenmeyer.....	62
10. Penuangan media PDA dan MEA pada petridish.....	62
11. Inokulasi <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> pada media agar padat	62
12. Inkubasi petridish pada suhu 32°C selama 48 jam	62
13. Pemanenan <i>R. oligosporus</i> dan <i>S. cerevisiae</i> dari petridish	62
14. Starter <i>R. oligosporus</i> dalam tabung sentrifuge.....	62
15. Starter <i>S. cerevisiae</i> dalam tabung sentrifuge.....	63
16. Sentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit.....	63
17. Penghitungan jumlah sel dengan <i>Hemacytometer</i>	63
18. Pencucian dan penghilangan kulit ari	63
19. Perebusan kedelai selama 30 menit	63
20. Penirisan kedelai menggunakan tampah.....	63
21. Penimbangan kedelai sebanyak 100 gram	64
22. Pemberian inokulum pada kedelai	64
23. Kedelai dikemas dan difermentasi	64
24. Tempe (kedelai + ragi komersial 0,2 g).....	64

25. Tempe (kedelai + <i>S. cerevisiae</i> 1 ml)	64
26. Tempe (kedelai + <i>R. oligosporus</i> 1 ml)	64
27. Tempe (kedelai + <i>S. cerevisiae</i> 1 ml + <i>R. oligosporus</i> 1 ml).....	65
28. Pengirisan tempe secara tipis	65
29. Pengovenan suhu 250° C selama 1 jam	65
30. Penghalusan menggunakan miller	65
31. Tepung tempe dalam plastic tertutup.....	65
32. Pengujian pH tempe dengan pH meter	65
33. Pembuatan larutan pengencer	66
34. Pengenceran sampel tempe dengan larutan pengencer.....	66
35. Persiapan uji TPC dengan media PDA, MEA dan PCA	66
36. Inkubasi petridish pada suhu 32° C selama 48 jam.....	66
37. Hasil uji TPC untuk menghitung jumlah kapang, khamir, dan bakteri	66
38. Penimbangan sampel tepung tempe untuk uji aktivitas antioksidan	66
39. Tepung tempe dimasukkan ke tabung sentriuge.....	67
40. Pemberian reagen DPPH pada sampel tepung tempe.....	67
41. Pembacaan nilai serapan sampel tepung tempe menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	67
42. Sampel tepung tempe yang telah diuji aktivitas antioksidan.....	67

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tempe dikenal sebagai makanan tradisional asli Indonesia yang terbuat dari kedelai dan bermanfaat sebagai sumber serat pangan bagi kesehatan manusia (Soka dkk., 2014). Tempe dihasilkan dari produk fermentasi kedelai rebus oleh aktivitas enzimatik kapang *Rhizopus oligosporus* (Kustyawati dkk., 2016). Tempe sangat diminati oleh masyarakat Indonesia karena rasanya yang enak, harga yang murah, mudah ditemui, dan pengolahannya cukup mudah. Indonesia yang merupakan negara produsen tempe terbesar di dunia memiliki konsumsi tempe rata-rata per kapita seminggu yaitu 0,14 kg (Badan Pusat Statistik, 2019). Tempe tergolong pangan fungsional karena mengandung senyawa-senyawa bioaktif diantaranya isoflavon yang baik bagi kesehatan tubuh, mempunyai keunggulan gizi, aroma, tekstur, dan citarasa yang khas (Kustyawati dkk., 2014).

Pada fermentasi pembuatan tempe terdapat mikroorganisme yang berperan penting yakni diantaranya *R. oligosporus*, *R. oryzae* dan *R. stolonifer*. Ketiganya berpotensi untuk memfermentasi kedelai menjadi tempe dengan kondisi lingkungan tumbuh pH awal 6,8 dan kelembaban nisbi 70-80%. Pada fermentasi pembuatan tempe *Rhizopus oligosporus* mensintetis enzim protease lebih banyak, sedangkan *Rhizopus oryzae* lebih banyak mensintesis enzim α -amilase (Triwibowo, 2011). Efriwati dkk. (2013), menyatakan bahwa terdapat mikroorganisme lain yang ditemukan selama fermentasi tempe yaitu bakteri asam laktat (BAL) dan khamir. Bakteri merupakan mikroflora indigenus yang secara signifikan selalu tumbuh selama pembuatan tempe dan mempunyai peranan yang

penting. *Saccharomyces cerevisiae* adalah salah satu jenis khamir yang ditemukan dalam fermentasi tempe (Kustyawati, 2016).

Pada saat ini banyak pertimbangan konsumen dalam memilih bahan pangan bukan hanya pada kandungan gizinya saja, akan tetapi juga pengaruhnya pada kesehatan. Hal ini menyebabkan bahan pangan tidak lagi hanya memberikan kebutuhan dasar bagi tubuh (bergizi dan lezat) akan tetapi pangan juga memiliki sifat fungsional yang dapat bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Pangan fungsional adalah pangan yang karena kandungan komponen aktifnya dapat memberikan manfaat bagi kesehatan. Terdapat kandungan isoflavon pada tempe kedelai sebagai salah satu kelompok flavonoid yang berperan sebagai antioksidan (Widoyo dkk., 2015). Menurut Nurdini dkk. (2015) nutrisi dan komponen bioaktif pada tempe dihasilkan dari kapang, khamir, dan bakteri asam laktat pada tempe. Beta-glukan ialah salah satu komponen yang dihasilkan oleh khamir.

Beta-glukan adalah jenis polisakarida dengan monomer D-glukosa yang diikat melalui ikatan β (1,3) glukosida. Beta-glukan merupakan komponen yang banyak terdapat pada dinding sel bakteri, tumbuhan dan juga khamir. Menurut Rizal dan Kustyawati (2019), dalam pembuatan tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 1% memiliki kandungan beta-glukan 0,181%, sedangkan dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 3% memiliki kandungan beta-glukan lebih tinggi yaitu 0,25%. Beta-glukan sangat baik difermentasi pada usus besar karena dapat menurunkan kadar kolesterol serum. β -glukan memiliki aktivitas biologis sebagai immunomodulator dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh, sebagai anti infeksi terhadap mikroorganisme yang meliputi bakteri, fungi, virus dan parasit, sebagai anti aging, sebagai antitoksik, antimutagenik, dan antitumorogenik (Dietrich *et al.*, 2011).

Saccharomyces cerevisiae merupakan salah satu jenis khamir potensial penghasil beta-glukan. *Saccharomyces cerevisiae* juga diketahui sebagai salah satu jenis khamir yang dapat mensintesis beta-glukan pada dinding selnya. Struktur dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* tersusun oleh β -(1,3) glukan, manan, kitin (1-2 %), serta manoprotein yang menyusun sekitar 20-30% dari berat kering dinding sel

(Naruemon *et al.*, 2013). *Saccharomyces cerevisiae* selain dapat mensintesis beta glukukan diduga dapat ikut berperan di dalam proses fermentasi tempe. *Yeast* (khamir) memetabolisme komponen-komponen penyusun makanan untuk menghasilkan metabolit sebagai produk akhir selama proses pertumbuhannya. Proses metabolisme itu mengakibatkan sifat kimia, fisik, dan sensori makanan akan mengalami perubahan yang diakibatkan oleh aktivitas khamir tersebut (Kustyawati, 2016). Tempe dengan penambahan khamir memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi yang berfungsi sebagai antioksidan, antihaemolisis, antivirus, antikanker dan antimikroba (Bavia *et al.*, 2012). Oleh karena itu penelitian ini dimaksudkan untuk mempelajari perbandingan aktivitas antioksidan pada tempe dengan berbagai jenis inokulum.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan pada tempe dengan berbagai jenis inokulum.

1.3. Kerangka Pemikiran

Menurut Maryam (2014), saat ini diperlukan pangan fungsional yang dapat memberikan manfaat sebagai antioksidan. Semakin banyak jumlah aktivitas antioksidan dalam suatu pangan maka keadaan ini akan menguntungkan dalam zaman globalisasi saat ini, dimana kerusakan akibat radikal bebas semakin banyak terjadi. Radikal bebas merupakan suatu molekul yang pada lingkaran luarnya mempunyai sejumlah elektron tidak berpasangan yang menyebabkan terjadinya instabilitas dan bersifat reaktif sehingga menyebabkan gangguan fungsi sel, kerusakan sel, bahkan kematian sel. Pengembangan produk tempe merupakan salah satu upaya untuk mengurangi dan mencegah masalah penyakit dan gizi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kandungan gizi yang terdapat pada tempe lebih mudah dicerna, diserap, dan dimanfaatkan oleh tubuh. Hal tersebut disebabkan kapang yang tumbuh pada kedelai menghidrolisis senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah dicerna oleh manusia

(Dwinaningsih, 2010). Sepotong tempe mengandung berbagai unsur yang bermanfaat bagi tubuh, seperti protein, lemak, hidrat arang, serat, vitamin, enzim, *daidzein*, *genestein*. Menurut Hashim dkk. (2018), tempe juga mengandung komponen antibakteri dan zat antioksidan yang berkhasiat sebagai obat, yaitu *genestein*, *daidzein*, *fitosterol*, *asam fitat*, *asam fenolat*, *lesitin* dan *inhibitor protease*.

Penggunaan ragi atau inokulum memegang peranan penting dalam pembuatan tempe karena mempengaruhi mutu tempe yang dihasilkan. Inokulum tempe berasal dari kapang *Rhizopus* antara lain seperti *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus arrhizus*, dan *Rhizopus stolonifer*. Namun, kapang jenis *R. oligosporus* merupakan mikroorganisme yang berperan utama dalam pembuatan tempe. Jika dilihat dari segi peningkatan gizi protein pada kedelai, *Rhizopus oligosporus* mampu memproduksi enzim protease (pemecah protein) lebih banyak, sedangkan *Rhizopus oryzae* lebih banyak mensintesis enzim α -amilase (pemecah pati). Kandungan pada tempe dapat dikaji lebih mendalam karena tidak hanya kapang yang berperan dalam proses fermentasi tempe. Selama proses fermentasi tempe, selain *R. oligosporus* terdapat pula keberadaan mikroorganisme lain seperti bakteri asam laktat (BAL) dan khamir. Selain jamur dan bakteri yang sudah dipelajari keterlibatannya dalam fermentasi tempe, terdapat kemungkinan bahwa khamir (ragi) dapat tumbuh selama fermentasi tempe (Efriwati dkk., 2013).

Pengembangan produk tempe yang dimaksudkan yaitu dengan cara menambahkan *Saccharomyces cerevisiae* pada fermentasi tempe. *Saccharomyces cerevisiae* merupakan salah satu jenis khamir yang dapat ikut berperan dalam proses fermentasi tempe. Tempe yang ditambahkan dengan *Saccharomyces cerevisiae* memiliki sifat sensori yang lebih baik. Penelitian Rizal dkk. (2017) menyatakan bahwa tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* memiliki sifat organoleptik yang dapat diterima oleh panelis. Penambahan khamir dapat meningkatkan *flavor* dimana menurut Kustyawati dkk. (2017), tempe modifikasi yang ditambahkan *Saccharomyces cerevisiae* memiliki komponen aroma volatil yang berbeda dengan tempe tanpa penambahan khamir. Komponen terdiri dari 26 komponen

aroma volatil yang meliputi alkohol, ester, keton, asam lemak, seskuiterpen, dan benzenoid.

Tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* juga dapat menghasilkan β -glukan. β -glukan memiliki aktivitas biologis sebagai immunomodulator. Hasil penelitian Rizal dkk. (2018) menyatakan bahwa pada tempe dengan penambahan *S. cerevisiae* 3% (dalam bentuk bubuk fermipan) dihasilkan kandungan β -glukan yang paling tinggi yaitu sebesar 0,076%. Tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan ragi roti instan komersial menghasilkan kandungan β -glukan yang lebih tinggi dibandingkan tanpa penambahan *Saccharomyces cerevisiae* (Ambarwati, 2017). Tempe juga memiliki aktivitas antioksidan. Menurut Istiani (2010), aktivitas antioksidan tertinggi pada tempe koro pedang utuh dan rajang dan tempe kedelai terjadi pada fermentasi 3 hari yaitu masing-masing 77,32%; 68,63% dan 81,43%. Banobe *et al.* (2019) melaporkan bahwa analisis aktivitas antioksidan terendah pada tempe yang dibuat dari kedelai: kecipir (20: 80) adalah sebesar 74,634% dan aktivitas antioksidan tertinggi pada tempe dari kedelai: kecipir (70: 30) sebesar 78,3342%.

Tempe memiliki sifat fungsional dengan kandungan yang berbeda tergantung pada jenis substrat yang digunakan serta penggunaan ragi atau inokulumnya. Penting untuk mengetahui seberapa besar dan keefektifan dari kandungan yang terdapat dalam tempe khususnya sifat fungsionalnya. Pada penelitian ini dilakukan studi komparasi yaitu suatu bentuk penelitian yang bersifat membandingkan antara dua kelompok atau lebih dari suatu variabel tertentu yang sejenis atau hampir sama (Sukmadinata, 2013). Studi komparasi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu dengan membandingkan aktivitas antioksidan tempe tanpa penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. Berdasarkan hasil komparasi atau perbandingan aktivitas antioksidan yang akan didapatkan, maka dapat diketahui jenis tempe yang memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi. Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* diharapkan dapat memperbaiki nilai gizi serta meningkatkan aktivitas antioksidan pada tempe.

1.4. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah pada tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dibandingkan tempe dengan penambahan inokulum lain.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kedelai

Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) merupakan salah satu tanaman pangan yang termasuk dalam bangsa polong-polongan (*Fabales*), famili *Leguminosae*, dan subfamili *Papilionoideae*. Kedelai merupakan tanaman pangan berupa semak yang tumbuh tegak dengan tinggi batang antara 30 - 100 cm dan setiap batang membentuk 3 - 6 cabang. Tanaman kedelai dapat tumbuh dengan cepat dan dapat mencapai masa panen pada umur 10 minggu setelah penanaman (Adisarwanto, 2013). Indonesia mempunyai iklim tropis yang cocok untuk pertumbuhan kedelai, karena kedelai menghendaki hawa yang cukup panas. Kedelai merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang dapat digunakan sebagai sumber protein, lemak, vitamin, mineral dan serat. Kedelai juga mengandung asam lemak essensial, vitamin dan mineral yang cukup. Kedelai kaya akan protein yaitu sebesar 40,4 % (Badan Standarisasi Nasional, 2012).

Kedelai merupakan sumber gizi yang sangat penting bagi kesehatan tubuh manusia. Kedelai memiliki kandungan protein yang tinggi dan memiliki potensi lain yaitu isoflavon yang dibutuhkan oleh tubuh. Kedelai merupakan sumber protein (asam amino) serta lemak nabati. Meskipun kadar lemaknya tinggi, tetapi kadar lemak jenuh dan nilai kalorinya rendah serta bebas kolesterol. Pada lemak kedelai terkandung beberapa fosfolipida penting, yaitu lesitin, sepalin, dan lipositol (Rani dkk., 2013). Komposisi kimia pada kedelai dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia kedelai kering per 100 g

Komposisi	Jumlah
Kalori (kkal)	381
Air (gram)	12,7
Protein (gram)	40,4
Lemak (gram)	16,7
Serat (gram)	3,2
Kalsium (mg)	222
Fosfor (mg)	628
Zat Besi (mg)	10
Abu (gram)	5,5
Vitamin B (mg)	0,52

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2012)

Kedelai termasuk kelompok flavonoid yaitu salah satu bahan penghasil antioksidan alami, salah satu senyawa bioaktif di dalam kedelai yaitu isoflavon. Isoflavon merupakan salah satu golongan flavonoid yang merupakan senyawa polifenolik. Selain isoflavon, kedelai juga mengandung sekitar 2% saponin (triterpen glikosida) yang memiliki aktivitas antijamur dan penangkal predator tanaman. Pada awalnya manfaat saponin dikaitkan dengan fungsi antigizi dalam makanan dan menghasilkan rasa pahit. Namun, studi terbaru menunjukkan peran saponin dalam pencegahan dan pengendalian penyakit degeneratif kronis (Salgado and Donado-Pestana, 2011).

Kandungan asam lemak jenuh kedelai utama terdiri dari asam linoleat dan linolenat. Kedelai mengandung karbohidrat sekitar 35% hanya 12-14% saja yang dapat digunakan oleh tubuh secara biologis. Karbohidrat pada kedelai terdiri dari golongan oligosakarida yang terdiri dari sukrosa, stakiosa dan rafinosa yang larut dalam air. Kedelai juga merupakan sumber vitamin A, E, K, dan juga beberapa jenis vitamin B, mineral, Fe, Zn dan P (Winarsi, 2010). Komposisi nutrisi pada kedelai hampir sama dengan beberapa produk olahan kedelai. Perbandingan komposisi nutrisi kedelai dengan produk olahan kedelai per 100 gram disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi nutrisi kedelai dengan produk olahan kedelai per 100 g

Nutrisi	Kedelai	Susu kedelai	Tahu
Protein (g)	3,7	38,0	12,0
Lemak (total) (g)	2,2	18,0	7,0
Asam lemak jenuh (g)	0,4	2,5	-
Karbohidrat (g)	2,8	6,3	1,0
Vitamin B12	0,2	-	-

Sumber: Burssens *et al.* (2011)

2.2. Tempe

Tempe merupakan salah satu makanan yang terkenal di Indonesia. Tempe yang tersebar luas dan banyak dikonsumsi di Indonesia adalah tempe kedelai. Tempe adalah produk fermentasi kedelai oleh aktivitas enzimatik kapang *Rhizopus oligosporus* (Kustyawati dkk., 2016). Tempe kedelai merupakan produk makanan hasil fermentasi yang diperoleh dari kedelai kupas yang sudah direbus dan difermentasi menggunakan kapang tertentu, berbentuk padatan kompak dan berbau khas serta bewarna putih atau sedikit keabu-abuan (BSN, 2015). *Rhizopus oligosporus* merupakan kapang yang berperan utama dalam pembuatan tempe. Rahayu dkk. (2015) menyatakan spesies kapang *Rhizopus* lain yang berada dalam tempe antara lain *R. oligosporus*, *R. oryzae*, *R. arrhizus*, dan *R. stolonifer*. Proses pembuatan tempe meliputi pencucian kedelai, perebusan, perendaman, pengupasan kulit kedelai, inokulasi, pembungkusan dan fermentasi. Pembungkusan tempe dapat dilakukan dengan dua cara yaitu pembungkusan menggunakan daun pisang dan pembungkusan menggunakan plastik polyethylene yang sedikit dilubangi.

Tempe mempunyai ciri-ciri yaitu antara lain berwarna putih, tekstur kompak dan flavor spesifik. Warna putih disebabkan adanya miselia jamur yang tumbuh pada permukaan biji kedelai dan tekstur kompak juga disebabkan oleh miselia miselia jamur yang menghubungkan antara biji-biji kedelai tersebut. Terjadinya degradasi komponen-komponen dalam kedelai dapat menyebabkan terbentuknya flavor spesifik setelah fermentasi. Kapang yang tumbuh menyebabkan protein, lemak, dan karbohidrat menjadi lebih mudah dicerna oleh tubuh. Enzim protease akan

menguraikan protein pada tempe menjadi peptida dan asam amino (Rahayu dkk., 2015).



Gambar 1. Tempe kedelai
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

Terjadi banyak perubahan seperti perubahan fisik, kimia, dan mikrobiologi selama proses fermentasi kedelai menjadi tempe. Perubahan-perubahan yang terjadi selama proses fermentasi tempe ini berdampak baik bagi kandungan gizi tempe. Proses fermentasi tempe dengan menggunakan kapang *Rhizopus sp* mampu membuat kedelai memiliki rasa yang enak, dan bergizi. Kandungan gizi pada tempe dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kandungan gizi tempe per 100 g

Komposisi	Jumlah
Kalori (kkal)	201
Air (gram)	55,3
Protein (gram)	20,8
Lemak (gram)	8,8
Serat (gram)	1,4
Kalsium (mg)	155
Fosfor (mg)	326
Zat Besi (mg)	4
Abu (gram)	1,6
Vitamin B (mg)	0,19

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (2012)

Kualitas tempe dipengaruhi oleh bahan baku, proses pengolahan, dan starter yang digunakan untuk inokulasinya. Starter tempe disebut juga sebagai inokulum kapang tempe. Penggunaan starter tempe dengan jumlah yang banyak

menyebabkan waktu fermentasi menjadi terlalu kritis, karena menyebabkan proses fermentasi berlangsung dengan cepat, sedangkan pemakaian starter tempe dengan jumlah yang kurang menyebabkan mikroba kontaminan dapat tumbuh, karena kapang tidak dapat melakukan proses fermentasi secara menyeluruh pada bahan. Starter tempe memegang peranan penting dalam pembuatan tempe karena dapat mempengaruhi mutu yang dihasilkan. Syarat mutu SNI tempe menurut SNI 3144:2015 disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Syarat mutu tempe kedelai menurut SNI 3144:2015

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Kedadaan		
	○ Bau	-	Bau khas tempe tanpa adanya bau amoniak
	○ Warna	-	Putih merata pada seluruh permukaan
	○ Tekstur	-	Kompak, jika diiris tetap (tidak mudah rontok)
2.	Kadar Air	Fraksi massa %	Maks. 65
3.	Kadar Lemak	Fraksi massa %	Min. 7
4.	Kadar Protein (Nx5,71)	Fraksi massa %	Min. 15
5.	Kadar Serat Kasar	Fraksi massa %	Maks. 2,5
6.	Cemaran Logam		
	○ Kadmium (Cd)	Mg/kg	Maks. 0,2
	○ Timbal (Pb)	Mg/kg	Maks. 0,25
	○ Timah (Sn)	Mg/kg	Maks. 40
	○ Merkuri (Hg)	Mg/kg	Maks. 0,03
	Cemaran Arsen	Mg/kg	Maks. 0,25
7.	Cemaran Mikroba	Mg/kg	Maks. 10
	○ <i>Coliform</i>		Negatif/25 g
8.	○ <i>Salmonella sp.</i>		
		APM/g	

Sumber: Badan Standarisasi Nasional, (2015)

2.3. *Rhizopus oligosporus*

Proses fermentasi pada kedelai menjadi tempe membutuhkan inokulum (mikroba). Inokulum dalam proses fermentasi ini dibutuhkan agar kedelai tidak busuk. *Rhizopus oligosporus* termasuk dalam *Zygomycota* yang sering dimanfaatkan dalam pembuatan tempe dari proses fermentasi kacang kedelai (Wahyudi, 2018). *Rhizopus oligosporus* memiliki koloni abu-abu sampai biru

kecoklatan dengan tinggi kurang lebih 1 mm. *Rhizopus oligosporus* memiliki sporangiofor tunggal atau dalam kelompok dengan dinding halus atau agak sedikit kasar, dengan panjang lebih dari 1000 μm dan diameter 10-18 μm . Ukuran sporangiospora jamur ini tidak teratur berupa globosa atau elip dengan panjang 7-10 μm . Sporangia globosa yang pada saat masak berwarna hitam kecoklatan, dengan diameter 100-180 μm (Dewi dan Aziz, 2011).

Struktur morfologi kapang tersusun atas dua bagian yaitu miselium dan spora. Miselium merupakan kumpulan dari hifa. Hifa kapang biasanya berupa serabut-serabut halus seperti kapas yang dapat tumbuh di bawah atau di atas permukaan medium. Pertumbuhan hifa berasal dari spora yang telah melakukan germinasi membentuk *tuba germ* yang akan tumbuh terus membentuk miselium. *Rhizopus oligosporus* berkembang dengan baik pada temperatur 30-35⁰C dengan waktu berkembang 48 jam dan memiliki ciri-ciri hifa seperti benang berwarna putih sampai kelabu hitam serta tidak bersekat, memiliki rhizoid dan sporangiospora. Kapang ini dikenal sebagai kapang yang mampu memproduksi enzim lipase untuk merombak lemak media. Kapang ini juga mampu memproduksi asam lemak omega-3 rantai panjang, khususnya linoleat, selain itu *R. oligosporus* juga mampu menghasilkan asam linoleat pada proses fermentasi cair ampas kelapa sawit. *R. oligosporus* menghasilkan enzim *fitase* yang memecah fitat membuat komponen makro pada kedelai dipecah menjadi komponen mikro sehingga tempe lebih mudah dicerna dan zat gizinya lebih mudah terserap tubuh (Wahyudi, 2018).



Gambar 3. *Rhizopus oligosporus* dalam media PDA pada cawan petri
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

2.4. *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae merupakan khamir sejati yang tergolong eukariot yang secara morfologi hanya membentuk blastopora berbentuk bulat lonjong, silindris, oval yang dipengaruhi oleh strainnya. Khamir ini mempunyai potensi yang tinggi sebagai imunostimulan, dan bagian yang bermanfaat tersebut adalah dinding selnya (Dwijoseputro, 2010). Dinding selnya tipis dan lentur untuk sel yang masih muda, sedangkan sel yang tua dinding selnya tebal dan kaku. Terdapat membran berfsifat permiabel selektif di bawah dinding selnya. Dinding sel khamir terdiri atas kitin. Menurut Agustining (2012), khamir ini memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Filum: Ascomycota

Subfilum: Saccharomycotina

Class: Saccharomycetes

Ordo: Saccharomycetales

Famili: Saccharomycetaceae

Genus: *Saccharomyces*

Species: *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae berkembang biak secara aseksual dan seksual dengan cepat. Reproduksi dapat dipengaruhi oleh keadaan lingkungan serta jumlah nutrien yang tersedia bagi pertumbuhan sel (Dwijoseputro, 2010). Khamir ini akan membelah diri dan menghasilkan tunas yang berkecambah multipolar pada saat perkembang biakannya. Tunas dapat terbentuk pada seluruh permukaan dinding sel. Reproduksi secara seksual membentuk askospora di dalam askus. Umumnya di dalam satu askus terdapat 4 buah askospora dengan berbagai bentuk. Sel khamir terdiri dari kapsul, dinding sel, membran sitoplasma, nucleus, vakuola, globula lipid dan mitokondria. Khamir ini berbentuk oval (bulat telur) dengan ukuran sekitar 1-5 μm atau 20-25 μm dengan lebar sekitar 1-10 μm . Koloninya berbentuk rata, lembab, mengkilap dan halus (Agustining, 2012).

Saccharomyces cerevisiae merupakan mikroorganisme yang berperan penting dalam industri fermentasi dan mampu memfermentasi berbagai karbohidrat.

Kemampuan *Saccharomyces cerevisiae* yaitu dapat tumbuh pada pH rendah, mendegradasi pati dan menghasilkan alkohol membuat mikroba ini banyak digunakan dalam industri pangan (Kustyawati dkk., 2013). *Saccharomyces cerevisiae* mempunyai enzim α -amilase dan glukoamilase yang mempercepat penguraian pati menjadi glukosa dan maltosa. Enzim α -amilase dan glukoamilase yang dihasilkan khamir, dapat mendegradasi pati. Enzim ekstraseluler, khususnya α -amilase akan memutus ikatan glikosidik α (1,4) yang merupakan penyusun pati. Aktivitas enzim α -amilase ini juga mempengaruhi komponen yang terdapat dalam pati yaitu amilosa dan amilopektin. Enzim tersebut dapat memutus ikatan rantai lurus α (1,4) glikosidik pada amilosa sehingga struktur rantai amilosa menjadi lebih sederhana dan hal ini akan mengakibatkan penurunan kadar amilosa.

Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai campuran inokulum dalam pembuatan tempe kedelai dapat memperbaiki kandungan gizi tempe yang dihasilkan. Menurut Rizal dan Kustyawati (2019), penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dalam fermentasi tempe menghasilkan kandungan β -glukan yang berasal dari khamir. Hal ini dibuktikan dengan meningkatnya jumlah beta-glukan tempe seiring dengan meningkatnya jumlah *Saccharomyces cerevisiae* yang ditambahkan. Pada penelitian Rizal dan Kustyawati (2019), dihasilkan beta-glukan sebesar 0,25% pada tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 3%. Tempe dengan penambahan yeast juga memiliki kandungan isoflavon yang lebih tinggi yang berfungsi sebagai antioksidan, antihaemolisis, antivirus, antikanker dan antimikroba (Bavia *et al.*, 2012). Kustyawati dkk. (2016) menyatakan bahwa tempe modifikasi yang dibuat dengan penambahan 1% dan 2% *S. cerevisiae* memiliki tampilan warna putih miselia yang menutupi seluruh tempe dan tekstur yang kompak mirip dengan tempe biasa.



Gambar 4. *Saccharomyces cerevisiae* dalam media MEA pada cawan petri
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

2.5. Tempe Sumber Antioksidan

Tempe merupakan pangan sumber protein, serat, kalsium, vitamin, dan zat besi, selain itu tempe juga berpotensi untuk melawan radikal bebas karena kaya akan antioksidan sehingga dapat memperlambat penuaan dan mencegah terjadinya penyakit degeneratif. Senyawa antioksidan yang terdapat dalam tempe adalah isoflavon. Isoflavon sangat dibutuhkan tubuh agar reaksi pembentukan radikal bebas dapat dihentikan. Isoflavon adalah salah satu golongan flavonoid yang merupakan senyawa polifenolik. Isoflavon dalam tempe terdiri dari beberapa bentuk yaitu aglikon (genistein, daidzein, glycytein), glikosida (daidzin, genistin glisten), asetilglikosida (6''-O-asetil daidzin, 6''-Oasetilgenistin, 6''-O-asetil glisitin), dan maloniglikosida (6''-O-malonildaizidzin, 6''-O-malonil genistin, 6''-Omalonilglisitin). Isoflavon utama yang terdapat pada tempe kedelai meliputi genistein (4',5',7- tryhydroxyisoflavone) dan daidzein (4',7-dihydroxyisoflavone), serta turunan β -glikosida, gensitin dan daidzin. Sifat antioksidan paling kuat dari beberapa jenis isoflavon tersebut adalah antioksidan faktor II (6,7,4-trihidroksi isoflavon) (Badan Standarisasi Nasional, 2012).

Agung (2013), menyatakan bahwa manusia dapat memenuhi lebih dari setengah kebutuhan akan isoflavon dengan mengonsumsi dua potong tempe. Kebutuhan isoflavon yang dianjurkan untuk tubuh manusia adalah 30-50 mg/hari. Sementara tempe dapat menyediakan isoflavon sampai dengan 28,5 mg isoflavon. Menurut Ferreira (2011), proses perendaman, pemasakan, dan fermentasi tempe dapat

menurunkan kadar isoflavon glukosida dan malonyl, tetapi meningkatkan bioavailabilitas isoflavon. Terjadinya proses hidrolisis enzimatis pada saat perendaman kedelai dan fermentasi kedelai dalam proses pembuatan tempe diduga akan mengubah distribusi isomer aglikon daidzein dan genistein, sehingga menyebabkan perbedaan kandungan isoflavon aglikon yang terdapat di dalamnya (Mursyid, 2014). Kandungan isoflavon aglikon terbesar terdapat pada tempe mentah. Kandungan genestein dan fitoestrogen yang terdapat pada tempe juga dapat mencegah kanker prostat dan payudara (Badan Standarisasi Nasional, 2012).

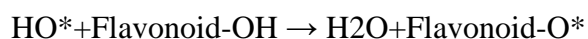
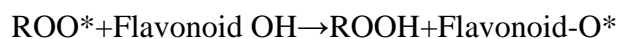
Isoflavon pada tempe juga dapat menurunkan kolesterol LDL (Low Density Lipoprotein) dan menaikkan kolesterol HDL (High Density Lipoprotein). Kolesterol HDL (High Density Lipoprotein) adalah lemak baik yang dapat memindahkan kolesterol di pembuluh darah ke hati sehingga menurunkan resiko penyakit jantung. Tempe juga mengandung asam lemak tidak jenuh antara lain asam lemak oleat, linoleat, dan linolenat yang tinggi yaitu 50-70 kali dibanding pada kedelai dan kandungan ini sangat penting dalam mengatasi penyakit jantung. Pada asam linoleat, asam lemak tersebut akan dikonversi menjadi asam arakhidonat, sedangkan untuk asam linolenat akan dikonversi menjadi eicosapentaenoic acid (EPA) dan decosahexosenoic (DHA) yang dapat mencegah timbulnya platelet darah (Agung, 2013).

Hasil penelitian Widoyo dkk. (2015) menyatakan tempe kedelai hitam pada lama fermentasi 42 jam memiliki aktivitas antioksidan yaitu sebesar 67,40%. Maryam (2014) melaporkan adanya aktivitas antioksidan yang cukup tinggi pada tempe kacang hijau yang difermentasi dengan inokulum tradisional yaitu sebesar 210,7372 mg/L. Banobe *et al.* (2019) menyatakan bahwa analisis aktivitas antioksidan terendah pada tempe yang dibuat dari kedelai: kecipir (20: 80) adalah sebesar 74,634% dan aktivitas antioksidan tertinggi pada tempe dari kedelai: kecipir (70: 30) adalah sebesar 78,3342%. Hasil penelitian Pertiwi dkk. (2013) menyatakan aktivitas antioksidan tertinggi kedelai adalah sebesar 28,241% pada waktu perkecambahan 64 jam.

Metode pengujian yang biasa digunakan untuk menganalisis aktivitas antioksidan dalam suatu penelitian adalah metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Metode DPPH ini secara luas digunakan untuk pengujian kemampuan penangkapan radikal bebas dari berbagai komponen alam. Komponen alam yang dimaksudkan seperti komponen flavonoid, fenolik, antosianin dan lain-lain. Metode DPPH pada umumnya banyak digunakan untuk mendeteksi kemampuan antiradikal dalam suatu senyawa dikarenakan hasilnya terbukti cukup akurat, relatif cepat, realiable dan praktis. Prinsip dari metode DPPH yaitu melalui pengukuran penangkapan radikal bebas dalam suatu pelarut organik polar pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan. Pelarut organik polar yang biasa digunakan adalah etanol atau methanol (Widoyo dkk., 2015).

Mekanisme pada proses penangkapan radikal bebas yaitu melalui pengambilan atom hidrogen dari suatu senyawa antioksidan oleh radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut menangkap satu elektron dari suatu senyawa antioksidan. Senyawa radikal bebas sintetik berupa DPPH bereaksi dengan suatu senyawa antioksidan melalui pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan tersebut untuk menangkap dan mendapatkan pasangan elektron. Radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) akan direduksi oleh senyawa yang aktif sebagai antioksidan menjadi difenil pikril hidrazin sehingga menyebabkan warna sampel berubah dari ungu pekat menjadi ungu pudar atau sedikit kekuningan. Aktivitas antioksidan yang semakin tinggi dalam suatu sampel maka akan dihasilkan perubahan warna yang semakin memudar yang dikarenakan semakin besar jumlah radikal bebas direduksi oleh antioksidan (Widoyo dkk., 2015).

Flavonoid (flavonoid-OH) pada tempe kedelai dilaporkan dapat beraksi sebagai scavenger radikal peroksil (ROO^*) yang kemudian akan diregenerasi menjadi ROOH . Flavonoid juga dapat bertindak sebagai scavenger radikal hidroksil (OH^*) yang akan diregenerasi menjadi H_2O . Sifat dari senyawa hasil regenerasi radikal peroksil dan radikal hidroksil lebih stabil. Sementara itu sifat dari radikal fenoksil yang terbentuk (flavonoid- O^*) menjadi kurang reaktif untuk melakukan reaksi propagasi (Agung, 2013). Tingginya reaktivitas grup hidroksil senyawa flavonoid menyebabkan senyawa radikal fenoksil inaktif yang terjadi melalui reaksi:



Isoflavon yang berperan sebagai antioksidan memiliki kemampuan untuk mencegah peroksidasi lipid. Isoflavon berfungsi sebagai antioksidan primer dalam hal tersebut karena isoflavon berperan sebagai akseptor radikal bebas yang kemudian dapat menghambat reaksi rantai radikal bebas pada oksidasi lipid. Kemampuan antioksidan dalam hal mendonasikan hidrogen mempengaruhi aktivitasnya (Ningsih dkk., 2018). Suatu molekul yang dapat mendonasikan atom hidrogen secara cepat pada radikal lipida mampu bereaksi sebagai antioksidan primer. Antioksidan menurunkan radikal yang lebih stabil dibandingkan radikal lipid awal, atau diubah menjadi suatu produk yang lebih stabil. Maka dengan demikian reaktivitas radikal bebas dapat diredam. Bavia *et al.*, (2012). melaporkan senyawa flavonoid yang berperan sebagai antioksidan dapat mendonorkan hidrogen pada radikal bebas sehingga dapat menghasilkan radikal yang lebih stabil dan berenergi rendah yang berasal dari senyawa flavonoid yang telah kehilangan atom hidrogen. Melalui proses resonansi dalam struktur cincin aromatik radikal antioksidan yang akan terbentuk menjadi lebih stabil, sehingga tidak mudah untuk dapat terlibat pada reaksi radikal yang lain (Agung, 2013).

Pada umumnya membran plasma memiliki sifat yang sangat rentan terhadap oksidasi asam lemak tidak jenuh, dikarenakan sebagian besar komponen utama penyusun membran plasma adalah PUFA (Poly Unsaturated Fatty Acid). Sifat PUFA paling rentan/labil terhadap peroksidasi lipid karena PUFA mengandung banyak ikatan rangkap. Apabila potensial reduksi standar 1- elektron lebih rendah dari 600 mV (lebih rendah dari potensial reduksi PUFA), maka suatu senyawa dapat bertindak sebagai antioksidan dan mencegah oksidasi lipid. Isoflavon yang termasuk salah satu golongan flavonoid memiliki potensial reduksi 530 mV (Mursyid, 2014). Isoflavon berperan sebagai antioksidan primer dengan mendonasikan atom hidrogen pada radikal lipid apabila berdasarkan data potensial reduksi tersebut. Sebelum PUFA memberikan satu atom hidrogen pada radikal peroksil, isoflavon bekerja dengan memberikan satu atom hidrogen

terlebih dahulu kepada radikal peroksil. Regenerasi radikal peroksil menghasilkan senyawa yang terbentuk bersifat lebih stabil.

2.6. Bioaktivitas β -glukan

β -glukan merupakan turunan polisakarida alami yang tersusun dari monomer glukosa dengan ikatan β -glikosida. Beberapa sifat β -glukan yang menguntungkan bagi tubuh diantaranya β -glukan merupakan bahan alami, tidak beracun, tidak memiliki efek samping yang dapat merugikan, membantu memperbaiki jaringan dan regenerasi, mengaktifasi dan memperkuat imun, serta dapat meningkatkan keaktifan obat antibioktik (Sefriana, 2012). β -glukan dapat diisolasi dari dinding sel ragi roti dan bir yaitu *Saccharomyces cerevisiae*. Proses ekstraksi β -glukan yaitu tahapan lisis sel ragi dan selanjutnya pemurnian dinding sel yang harus mengarah ke bagian yang kurang terdegradasi dari rantai glukosa, distribusi massa β -glukan dalam supernatan (Varelas *et al.*, 2015).

Pada pembuatan tempe, pemilihan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai perlakuan penambahan inokulum dengan pertimbangan karena *Saccharomyces cerevisiae* ini mampu memproduksi beta-glukan yang dikenal sebagai biological defense modifier (BDM). Sebagian besar dinding sel *Saccharomyces cerevisiae* tersusun atas beta-glukan (Hong *et al.*, 2019) sehingga dapat dikatakan bahwa kandungan beta-glukan dalam tempe disebabkan adanya penambahan *Saccharomyces cerevisiae* pada proses fermentasi tempe. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa beta-glukan memiliki aktivitas biologis sebagai immunomodulator dalam meningkatkan sistem kekebalan tubuh (Dietrich *et al.*, 2011), sebagai anti infeksi terhadap mikroorganisme yang meliputi bakteri, fungi, virus dan parasit (Hetland *et al.*, 2013), sebagai antisitotoksik, antimutagenik, dan anti-tumorigenik. Zat-zat yang terkandung dalam beta-glukan dapat merangsang sistem kekebalan tubuh, modulasi imunitas humoral dan selular, dengan demikian beta-glukan memiliki efek menguntungkan dalam memerangi infeksi bakteri, virus, jamur dan parasit

Beta-glukan juga dapat digunakan sebagai zat aditif pada makanan. Menurut Rizal dan Kustyawati (2019), tempe yang di goreng dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 1% memiliki kandungan beta-glukan 0,181%. Sedangkan tempe dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 3% memiliki kandungan beta-gluka lebih tinggi yaitu 0,25%. Meskipun secara organoleptik perlakuan yang terbaik adalah tempe yang diberi perlakuan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* 1% dan dimasak dengan cara digoreng, akan tetapi penambahan *Saccharomyces cerevisiae* yang direkomendasikan untuk digunakan adalah *Saccharomyces cerevisiae* 3% karena kandungan beta-glukan tempe yang dihasilkan lebih tinggi yaitu 0,250%.

Beta-glukan memiliki potensi mengaktifkan sistem imun tubuh melalui sel makrofag imun dan diketahui merupakan Biological Defence Modifier (BDM). Makrofag akan diaktifkan oleh beta-glukan melalui sisi reseptor glukon berukuran 1 μ . Makrofag harus melewati kondisi aktivasi agar dapat berfungsi secara imunologi. Berbagai perubahan morfologi, perubahan metabolik dan produksi sitokin dilibatkan dalam aktivitas ini sebagai regulator internal dari sistem imun (Dietrich *et al.*, 2011).

Menurut Varelas *et al.* (2015), β -glukan memiliki fungsi sebagai bioaktivitas antikanker. Mekanisme penghambatan dari perkembangan sel kanker yang dilakukan oleh beta glukon dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung penghambatan pertumbuhan sel kanker dilakukan dengan cara β -glukan mengaktifasi makrofag, neutrofil, dan natural killer cells serta memecah dinding sel kanker, sehingga pertumbuhan sel kanker terhambat. Penghambatan pertumbuhan sel kanker secara tidak langsung oleh β -glukan juga dilakukan dengan cara β -glukan yang menempel pada makrofag menstimulasi makrofag membentuk Cytotoksik T Limposit yang kemudian menghasilkan substansi kimia antikanker lain yang dapat menghancurkan sel kanker sehingga pertumbuhan sel kanker dapat dihambat.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Hasil Pertanian dan Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari sampai dengan Mei 2021.

3.2. Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi ragi tempe dengan merk dagang Raprima, kultur murni *Rhizopus oligosporus* FNCC (Food and Nutrition Culture Collection) 6010 dan *Saccharomyces cerevisiae* FNCC (Food and Nutrition Culture Collection) 3012 yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM Yogyakarta, kacang kedelai jenis impor dengan merk dagang Soybean USA no. 1 yang diperoleh dari Gunung Sulah di Bandar Lampung, akuades, air bersih, garam fisiologis (NaCl) 0,85%, alkohol 70%, Plate Count Agar (PCA), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) 0,2 mM, etanol, Malt Extract Agar (MEA), Potato Dextrose Agar (PDA), alumunium foil, dan kapas.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tabung reaksi, cawan petri, erlenmeyer, jarum ose, batang pengaduk, beaker glass, batang pengaduk segitiga, rak tabung reaksi, timbangan analitik, inkubator, kulkas, hot plate, centrifuge, tabung centrifuge, spektrofotometer UV-Vis, baskom, loyang, batang

dry glaski, timbangan, panci, kompor, tampah, saringan bambu, mikropipet, pipet tip, haemacytometer, vortex, pH meter, bunsen, dan autoklaf.

3.3. Metode

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial, dengan 5 perlakuan berbeda yaitu kedelai yang direbus selama 30 menit (K0), kedelai yang direbus selama 30 menit + ragi komersial (K1), kedelai yang direbus selama 30 menit + *Sacharomyces cerevisiae* (K2), kedelai yang direbus selama 30 menit + *Rhizopus oligosporus* (K3), serta kedelai yang direbus selama 30 menit + *Rhizopus oligosporus* + *Sacharomyces cerevisiae* (K4). Setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Masing-masing perlakuan kemudian diuji pH, aktivitas antioksidan dan dihitung jumlah kapang, khamir dan bakteri yang terdapat pada tempe. Kehomogenan data yang diperoleh diuji dengan uji Bartlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Data hasil pengamatan dianalisis sidik ragam untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar perlakuan data, kemudian dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) dengan taraf 5%.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

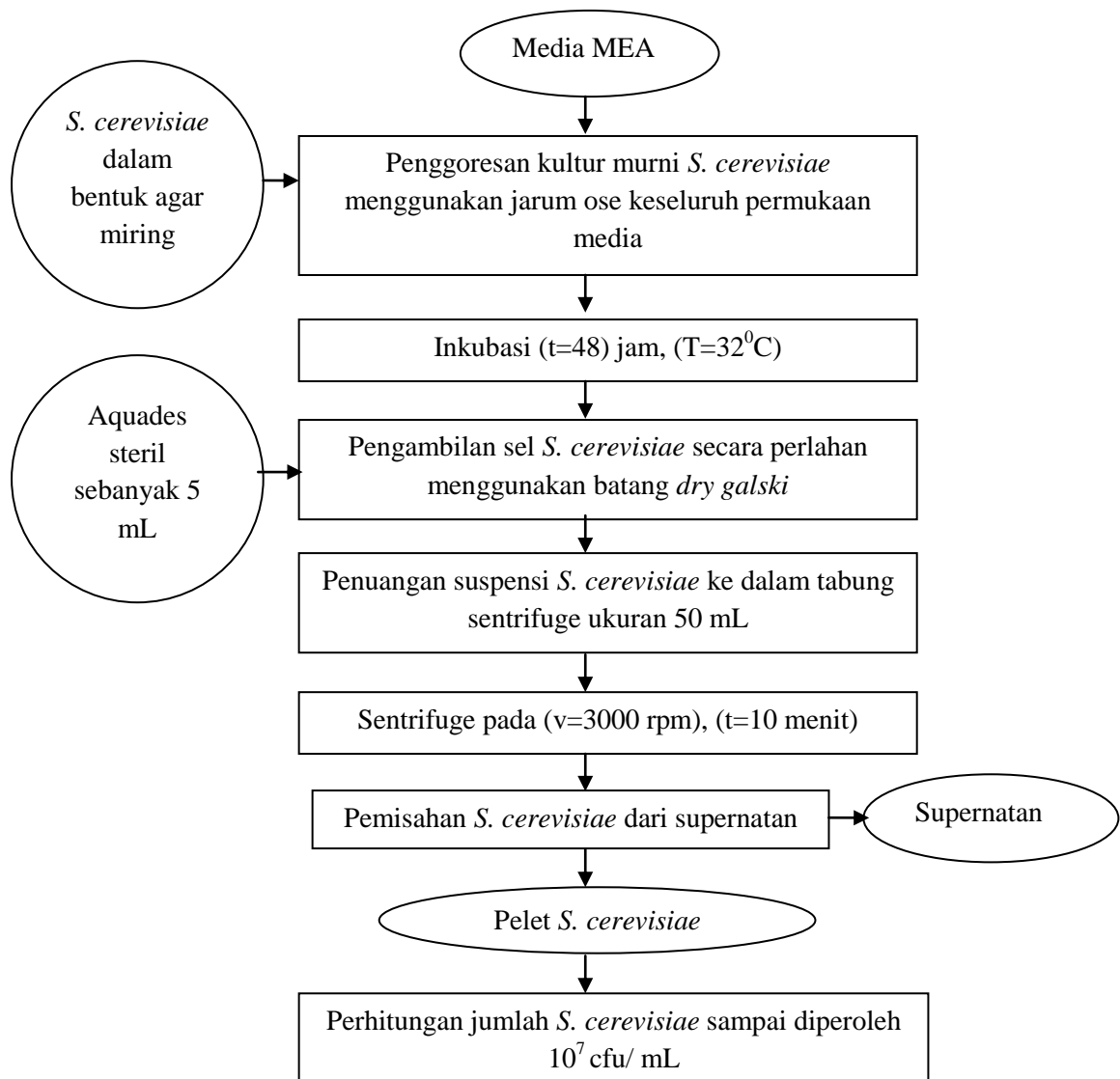
3.4.1. Persiapan pembuatan biakan *Saccharomyces cerevisiae*

1. Pembuatan media MEA (Malt Extract Agar)

Sebanyak 24 g media Malt Extract Agar dilarutkan ke dalam akuades sebanyak 500 mL. Kemudian dihomogenisasi dan dipanaskan sampai media terhomogenisasi sempurna. Selanjutnya disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah didiamkan beberapa saat dilakukan penuangan media ke dalam cawan sebanyak 20 mL, dibiarkan sampai media memadat dan siap untuk digunakan.

2. Persiapan Pemiakan *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae dari bentuk agar miring dibiakkan ke dalam media Malt Extract Agar (MEA) menggunakan jarum ose yang telah disterilisasi, selanjutnya diinokulasi dengan metode cawan gores. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 32°C sehingga diperoleh *Saccharomyces cerevisiae* murni dalam bentuk koloni. Koloni yang telah tumbuh dilakukan pemanenan dengan menambahkan akuades steril sebanyak 5 mL dan dilakukan pengambilan secara perlahan menggunakan batang dry galski. Suspensi *S. cerevisiae* yang telah diperoleh, dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge ukuran 50 mL. Tabung sentrifuge selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan kultur murni dan supernatan. Supernatan pada tabung sentrifuge dibuang dan didapatkan pellet kultur murni *S. cerevisiae*. Jumlah sel *S. cerevisiae* dihitung menggunakan haemocytometer sampai diperoleh *S. cerevisiae* berjumlah 10^7 sel/mL. Tahapan tahapan persiapan inokulum *Saccharomyces cerevisiae* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram Alir Pembiakan *Saccharomyces cerevisiae* (Sumber: Zahrah, 2019).

3.4.2. Persiapan pembuatan biakan *R. oligosporus*

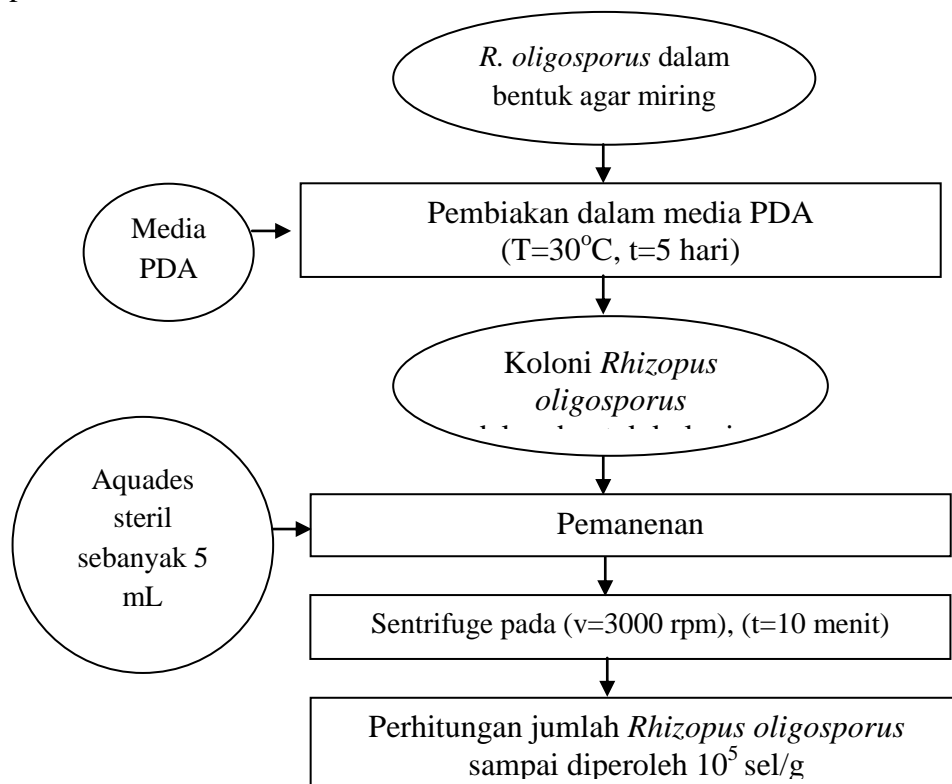
1. Pembuatan media Potato Dextrose Agar (PDA)

Sebanyak 19,5 g media PDA ditambahkan aquadest sebanyak 500 mL. Kemudian dihomogenisasi dan dipanaskan sampai media terhomogenisasi sempurna. Selanjutnya disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, didiamkan

beberapa saat dilakukan penuangan media ke dalam cawan sebanyak 20 mL, dibiarkan sampai media memadat dan siap untuk digunakan.

2. Pemiakan *Rhizopus oligosporus*

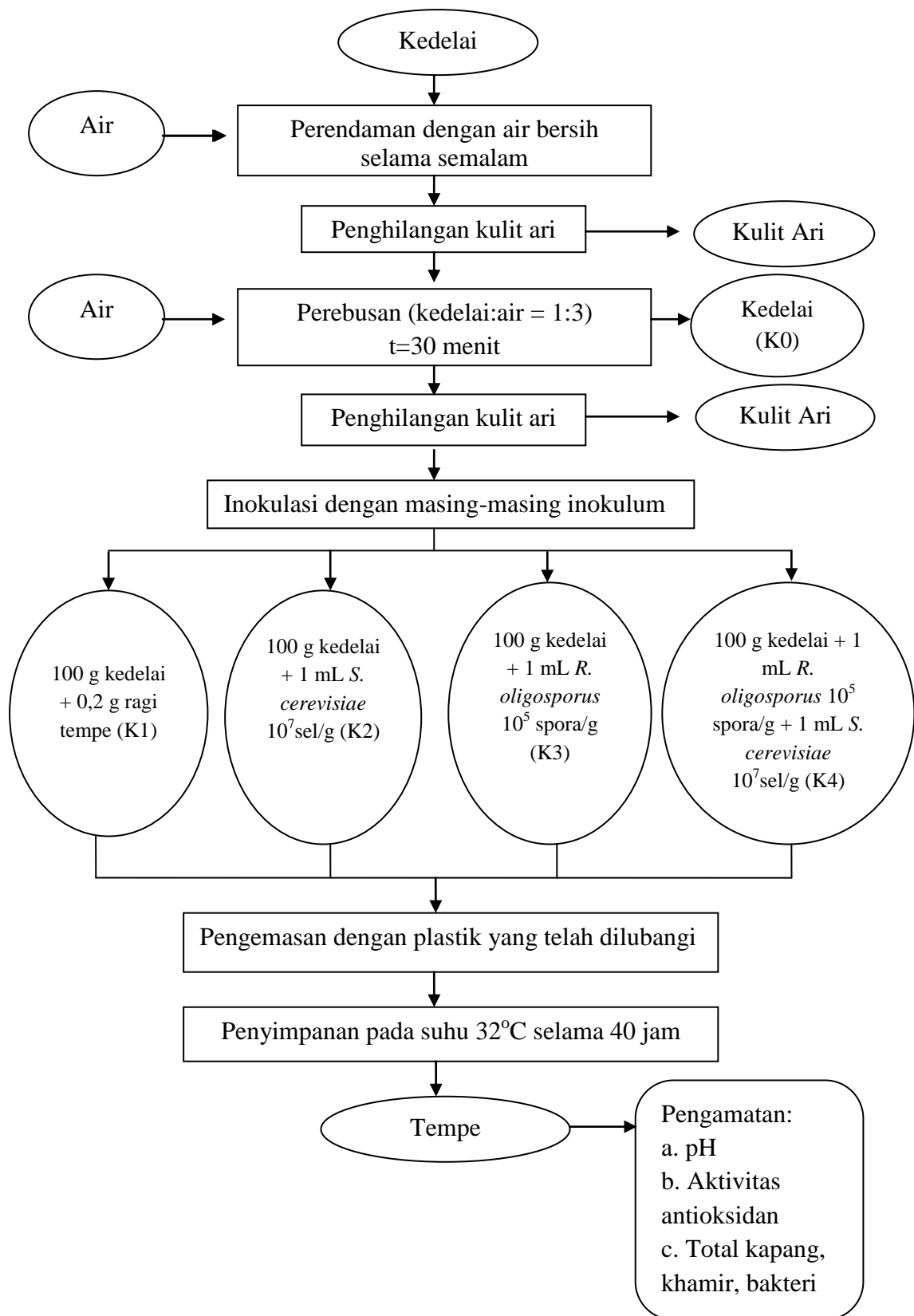
Rhizopus oligosporus dari agar miring dibiakkan ke dalam media Potato Dextrose Agar (PDA) dalam cawan petri, kemudian diinkubasi selama 5 hari pada suhu 30°C sehingga diperoleh *R. oligosporus* dalam bentuk koloni. Koloni-koloni *R. oligosporus* tersebut dipanen menggunakan batang pengaduk segitiga dengan menambahkan akuades steril sebanyak 5 mL. Selanjutnya, spora *R. oligosporus* disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Setelah itu, diperoleh spora *R. oligosporus* padat, lalu diencerkan dalam larutan pengencer. Jumlah spora *R. oligosporus* yang berada di dalam larutan pengencer dihitung dengan menggunakan *haemocytometer* sampai diperoleh spora *R. oligosporus* berjumlah 10^5 spora/g. Tahapan tahapan persiapan inokulum *R. oligosporus* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Diagram Alir Persiapan Inokulum *R. oligosporus* (Sumber: Fatimah, (2018))

3.4.3. Pembuatan Tempe Kedelai

Proses pembuatan tempe mengikuti prosedur Aptesia (2013). Sebanyak 500 g kedelai direndam dalam air bersih pada suhu ruang selama semalam lalu dihilangkan kulit arinya secara manual. Selanjutnya kedelai direbus menggunakan air bersih dengan perbandingan 1:3 (kedelai : air) selama 30 menit, ditiriskan lalu diangin-anginkan sampai suhu kedelai mencapai suhu ruang, 50 gram dari kedelai yang telah direbus dilakukan pengamatan sesuai dengan variabel yang diuji. Tahap peragian dilakukan dengan cara mencampurkan setiap 100 g kedelai rebus sesuai dengan perlakuan. Setelah tercampur rata, dikemas dalam kemasan plastik yang telah dilubangi secara teratur untuk tujuan aerasi dan diinkubasi pada suhu 32°C selama 40 jam dan dilakukan pengamatan tempe. Diagram alir proses pembuatan tempe dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram alir pembuatan tempe kedelai (Sumber: Fatimah (2018) yang telah dimodifikasi)

3.5. Pengamatan

Pengamatan dilakukan terhadap tempe kedelai sesuai dengan perlakuan. Pengamatan yang dilakukan yaitu pengamatan terhadap pH, aktivitas antioksidan dan dihitung total kapang, khamir dan bakteri.

3.5.1. Derajat Keasaman (pH) (AOAC, 2005)

Nilai pH diukur dengan menggunakan pH meter menurut prosedur AOAC (2015). Nilai pH diukur pada suhu yang sama. Sebelum pengukuran, pH-meter distandarisasi dengan menggunakan buffer standar pH 4 dan pH 7. Pengukuran dilakukan dengan cara elektroda dibilas dengan akuades dan dikeringkan dengan tissue. Sampel dimasukkan ke dalam gelas piala 100 mL kemudian elektroda dicelupkan hingga tenggelam pada larutan sampel dan dibiarkan kurang lebih satu menit hingga diperoleh angka yang stabil dan dicatat nilainya.

3.5.2. Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas penangkapan radikal bebas dilakukan dengan DPPH menurut Ismail dkk (2012). 0,5 ml larutan sampel tempe ditambahkan 2 ml larutan DPPH 0,2 mM. larutan blanko dibuat dengan cara larutan DPPH 0,2 mM dipipet 2 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan etanol 0,5 ml. Sampel diinkubasi selama 30 menit di dalam ruang gelap tanpa cahaya. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Kemampuan antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH akibat adanya penambahan sampel. Nilai serapan DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan sampel, dihitung sebagai persen aktivitas antioksidan dengan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{(A \text{ Kontrol} - A \text{ Sampel})}{(A \text{ Kontrol})} \times 100\%$$

Keterangan:

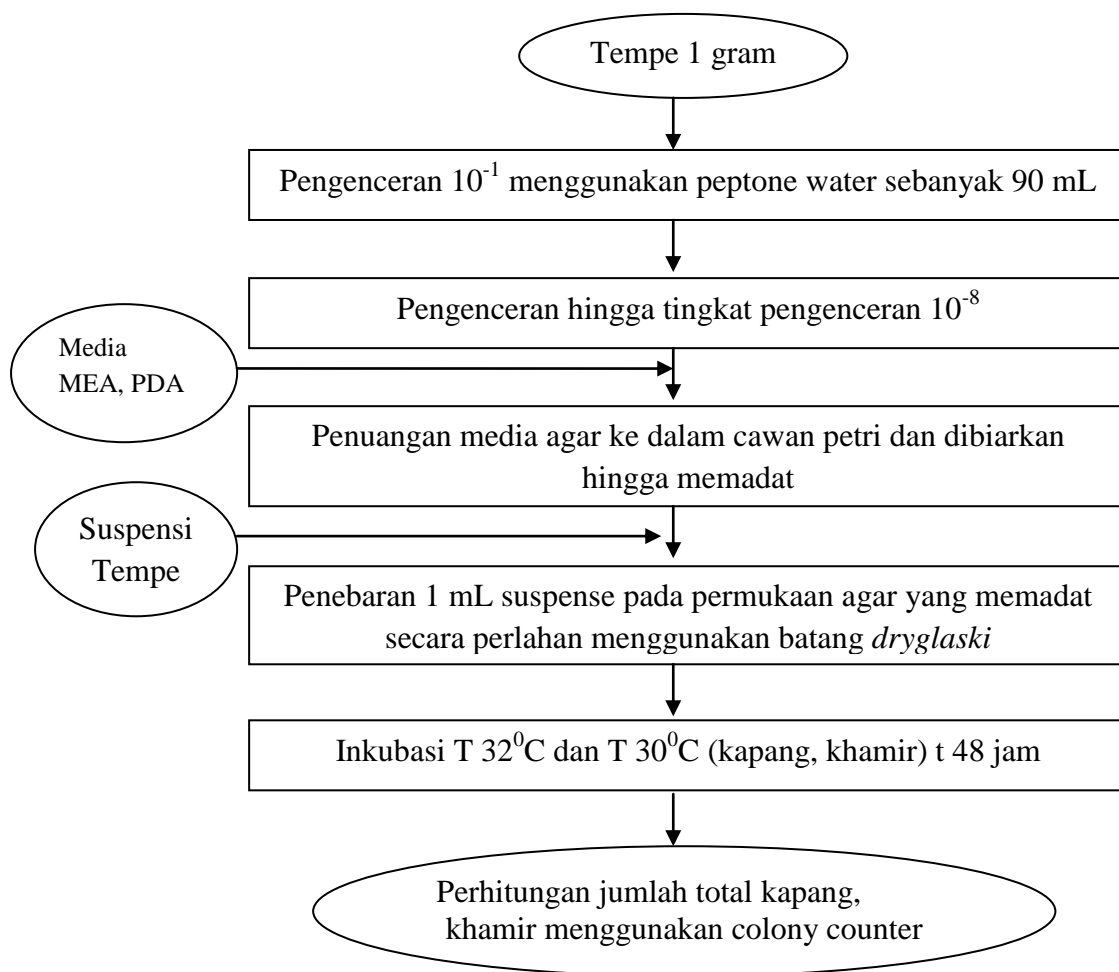
A sampel= Absorbansi sampel

A kontrol= Absorbansi tidak mengandung sampel

3.5.3. Uji Mikrobiologi

1. Perhitungan Jumlah Kapang dan Khamir menggunakan Metode Total Plate Count (TPC)

Perhitungan jumlah total kapang dan khamir pada tempe menurut Pratiwi (2018) dilakukan dengan metode hitungan cawan (Total Plate Count) dengan media Potato Dextrose Agar (PDA) untuk kapang dan media Malt Extract Agar (MEA) untuk khamir. Perhitungan jumlah kapang dan khamir ini dilakukan pada fermentasi 40 jam. Masing masing tempe diambil sampelnya dan dibuat seri pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-8} secara duplo. Persiapan sampel pengujian, sebanyak 1 g sampel tempe dicampur dengan 90 mL NaCl 0.85%, lalu dihomogenkan. Setelah itu, dibuat seri pengenceran sampai konsentrasi tertentu, selanjutnya dilakukan penanaman kapang dan khamir dengan metode spread plate. Inkubasi kapang dilakukan pada suhu 30°C dan inkubasi khamir dilakukan pada suhu 32°C selama 48 jam. Diagram alir perhitungan jumlah total kapang dan khamir disajikan pada Gambar 7.

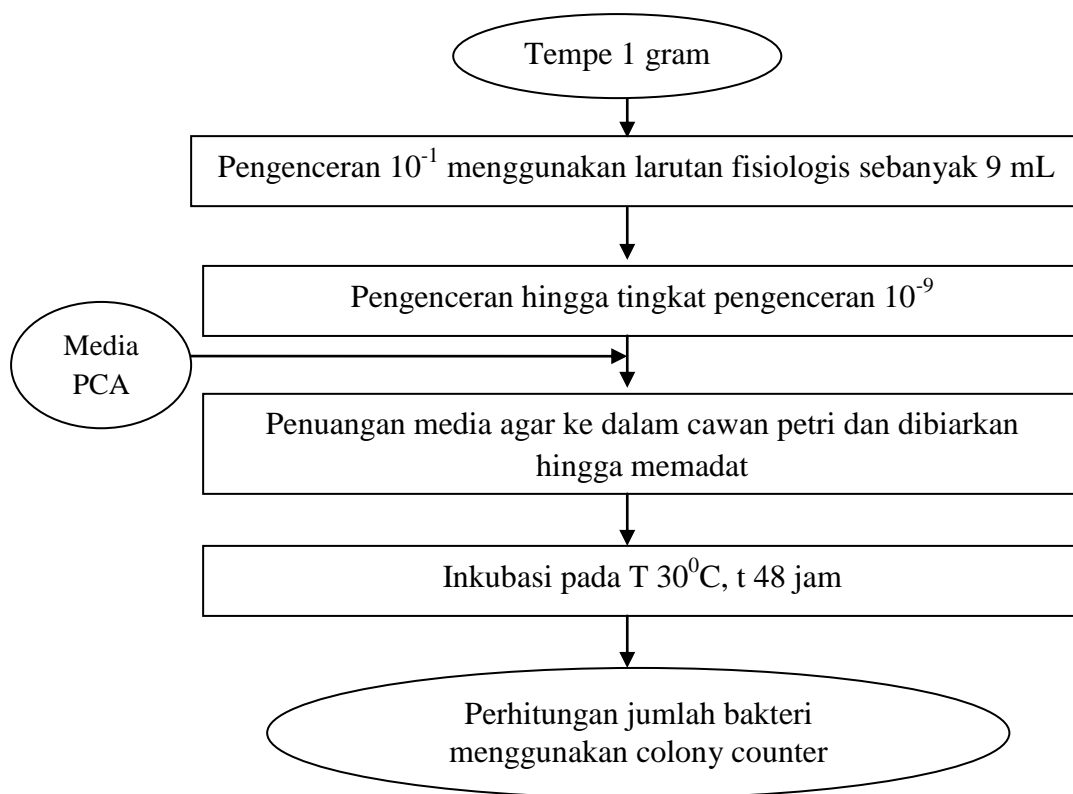


Gambar 7. Diagram alir penghitungan jumlah kapang dan khamir pada tempe (Sumber: Pratiwi, (2018))

2. Perhitungan Jumlah Bakteri dengan metode Total Plate Count (TPC)

Prinsip kerja dari analisis TPC adalah perhitungan jumlah koloni bakteri yang ada di dalam sampel dengan pengenceran sesuai keperluan yang dilakukan secara aseptik untuk mencegah kontaminasi yang tidak diinginkan. Jumlah koloni bakteri yang dapat dihitung adalah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri antara 30-300 koloni. Sebelum digunakan alat-alat dan media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Menurut Pratiwi (2018), sampel yang ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian dilarutkan ke dalam larutan pengencer steril (larutan garam fisiologis) dengan volume mencapai 100 ml sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Larutan tersebut dipipet 1 ml,

kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml larutan pengencer steril untuk memperoleh pengenceran 10^{-2} dan seterusnya sampai didapat pengenceran 10^{-9} . Setiap tabung reaksi pengenceran tersebut diambil dengan menggunakan pipet sebanyak 1 ml selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilkan. Tuang 15 ml media PCA ke dalam setiap cawan petri kemudian digerakkan secara melingkar di atas meja supaya media PCA merata. Setelah PCA membeku, cawan petri diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam pada suhu 30°C . Diagram alir perhitungan jumlah bakteri disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Diagram alir penghitungan jumlah bakteri pada tempe (Sumber: Pratiwi, (2018))

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan diperoleh kesimpulan bahwa tempe kedelai dengan penambahan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan tempe kedelai dengan penambahan inokulum lain, aktivitas antioksidan pada tempe kedelai paling tinggi yaitu pada perlakuan K4 (kedelai direbus 30 menit + *S. cerevisiae* 1 mL + *R. oligosporus* 1 mL), yaitu sebesar 66,36%.

5.2. Saran

Saran yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pada proses pembuatan tempe dalam penelitian ini semua starter yang akan diinokulasikan harus dalam jumlah yang sama agar dapat diketahui pengaruhnya pada tempe yang dihasilkan.
2. Untuk membuat produk tempe yang tinggi antioksidan dapat memilih alternatif yaitu tempe yang terbuat dari kedelai yang ditambahkan *S. cerevisiae* 1 mL dan *R. oligosporus* 1 mL

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto, T. 2013. Kedelai Tropika Produktivitas 3 Ton/Ha. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal 92.
- Agung. I.G.A. 2013. Suplementasi Kombinasi Tempe M-2 dengan Wortel Meningkatkan HDL dan Antioksidan Total, serta Menurunkan LDL, F2-Isoprostan dan IL-6 pada Wistar Aterosklerosis. (Disertasi). Universitas Udayana. Denpasar. Hal 25-50.
- Agustining, D. 2012. Daya Hambat *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap pertumbuhan Jamur *Fusarium oxysporum*. (Skripsi). Prodi Pendidikan Biologi. Universitas Jember. Jember. Hal 21-28.
- Ambarwati, G. A. 2017. Pengaruh Konsentrasi Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Perubahan Kandungan Kimia pada Tempe. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hal 53.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Published by the Association of Official Analytical Chemist. Marlyand.
- Aptesia, L, T., 2013. Pemanfaatan *Lacto-bacillus Casei* dan Tapioka dalam Upaya Menghambat Kerusakan Tempe Kedelai. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hal 31-35.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2019. Berita Industri Kementerian Perindustrian Republik Indonesia. <http://www.kemenperin.go.id/artikel/3853/Ironi-Kedelai--Impor-di-Negeri-Tempe>. Diakses 19 September 2017. Hal 11.
- Badan Standarisasi Nasional. 2012. Tempe: Persembahan Indonesia untuk Dunia. Jakarta. Hal 8-9.

- Badan Standardisasi Nasional. 2015. SNI 3144-2015 Tempe Kedelai. Badan Standardisasi Nasional. Hal 6.
- Banobe, C. O., Kusumawati, I.G.A.W., dan Wiradnyani, N. K. 2019. Nilai Zat Gizi Makro Dan Aktivitas Antioksidan Tempe Kedelai (*Glycine max L.*) Kombinasi Biji Kecapir (*Psophocarpus tetragonolobus L.*). Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan. Vol 5 (2): 486-495.
- Bavia, A.C.F., C.E. Silva, M.P. Ferreira, R.S. Leite, J.M.G. Mandarino, and M.C.C. Panizzi. 2012. Chemical Composition of Tempeh from Soybean Cultivars Specially Developed for Human Consumption. Journal Ciência Tecnologia de Alimentos, Campinas, 32 (3): 613-620.
- Burssens, S., I. Pertry, D.D. Ngudi, Y. Kuo, M.V. Montagu and F. Lambein. 2011. Soya, Human Nutrition and Health. Hany A. El-Shemy (ed.). In Soybean and Nutrition. InTech. Croatia. pp.157-180.
- Dewi, R.S., dan Aziz, S. 2011. Isolasi *Rhizopus oligosporus* Pada Beberapa Inokulum Tempe Di Kabupaten Banyumas. Molekul. Vol. 6 (2): 93 – 104.
- Dietrich, M. A., Olas, B., Kontek, B., and Rabe, J. J., 2011. Beta-glucan from *Saccharomyces cerevisiae* reduces plasma lipid peroxidation induced by haloperidol. International Journal of Biological Macromolecules. 49: 113-116.
- Dwidjoseputro. 2010. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerbit Djembatan. Jakarta. Hal 61-67.
- Efriwati, Suwanto, A., Rahayu, G., and Nuraida, L. 2013. Populations Dinamic of Yeast and Lactic Acid Bacteria (LAB) during Tempeh Production. Hayati Journal of Biosciences 20 (2): 57-64.
- Fatimah. 2018. Pola Pertumbuhan Khamir dan Aktivitas Antibakteri Pada Tempe dengan Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hal 29-38.
- Hashim, K. S., Khaddar, R. A., Jasim, N., Shaw, A., Phipps, D., Kota, P., Pedrola, M. O., Alattabi, A. W., Abdulredha, M. and Alawsh, R. 2018. Electrocoagulation as a green technology for phosphate removal from River water. Separation and Purification Technology. 210, 135-144.

- Hetland, G., E. Johnson, D.M. Eide, B. Grinde, A.B.C. Samuelsen, and H. G. Wiker. 2013. Antimicrobial effects of β -glucans and pectin and of the *Agaricus blazei* Based Mushroom Extract, AndoSan™. Examples of Mouse Models for Pneumococcal, Fecal Bacterial, and Mycobacterial Infections. Microbial Pathogens and Strategies for Combating Them. Science, Technology and Education (A. Méndez-Vilas, Ed.). p.889-898.
- Hong, J, Y., Son, S, H., Hong, S, P., Yi, S, H., Kang, S, H., Lee, N, K., and Paik, H, D. 2019. Production of β -glucan, glutathione, and glutathione derivatives by probiotic *Saccharomyces cerevisiae* isolated from cucumber jangajji. LWT. 100, 114-118.
- Indarwati, A.R., Kumalaningsih, S., dan Wigyanto. 2010. Penambahan konsentrasi *Lactobacillus plantarum* dan waktu perendaman pada proses pembuatan tempe probiotik. (Skripsi). Jurusan teknologi industri pertanian Universitas Brawijaya. Malang. Hal 45-49.
- Ismail, J., Runtuwene, M. R. J., dan Fatimah, F. 2012. Penentuan Total Fenolik dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Biji dan Kulit Buah Pinang Yaki (*Areca vetiaria Giseke*). J. Sains.12 (2): 84-85.
- Istiani, Y. 2010. Karakterisasi Senyawa Bioaktif Isovlafon dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Tempe Berbahan Baku Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*). (Tesis). Program Studi Biosains Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Kustyawati, M.E., Sari, M., dan Haryati, T. 2013. Efek Fermentasi dengan *Saccharomyces cerevisiae* Terhadap Karakteristik Biokimia Tapioka. Jurnal Agritech. 33 (3): 281-287.
- Kustyawati, M.E., Pratama, F., Saputra, D., dan Wijaya, A. 2014. Modifikasi Warna, Tekstur dan Aroma Tempe Setelah diproses dengan Karbondioksida Superkritik. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan. 25 (2): 168-175.
- Kustyawati, M.E., Nawansih, O., dan Nurdjannah, S. 2016. Profile of Aroma Compounds and Acceptability of Modified Tempeh. International Food Research Journal. 24 (2): 734-740.
- Kustyawati, M.E. 2016. Signifikansi Khamir dalam Pangan. Plantaxia. Yogyakarta.

- Kustyawati, M.E., Nawansih, O., dan Nurdjannah, S. 2017. Profile of aroma compounds and acceptability of modified tempeh. *International Food Research Journal* 24(2): 734-740.
- Maryam, S. 2014. Aktivitas Antioksidan Pada Tempe Kacang Hijau Hasil Proses Fermentasi Menggunakan Inokulum Tradisional. Seminar Nasional FMIPA UNDIKSHA IV. 428-435.
- Mikstas, C. 2019. Health Benefits of Tempeh. Web MD Medical Reference. <https://www.webmd.com/food-recipes/tempeh-health-benefits#2>. Diakses 17 Mei 2020.
- Mursyid. 2014. Kandungan Zat Gizi dan Nilai Gizi Protein Tepung Tempe Kedelai Lokal dan Impor serta Aktivitas Antioksidannya. (Tesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal 51-60.
- Muslikhah, S., Anam, C., dan Andriani, M.A.M. 2013. Penyimpanan tempe dengan metode modifikasi atmosfer (Modified atmosphere) untuk mempertahankan kualitas dan daya simpan. *Jurnal tekhnosains*. 2(3): 51-60.
- Muzdalifah, D., Z. A. Athaillah, W. Nugrahani, dan A. F. Devi. 2016. Colour and pH Changes of Tempe During Extended Fermentation. In AIP conference Proceedings. AIP Publishing. 1 (1803), p. 020036.
- Naruemon, M., Romanee, S., Cheunjit, P., Xiao, H., Mc. Landsborough, and Pawadee, L. A. 2013. Influence of additives on *Saccharomyces cerevisiae* β -glucan production. *International Food Research Journal*. 20(4) : 1953-1959.
- Ningsih, T. E., Siswanto, dan Winarsa, R. 2018. Aktivitas Antioksidan Kedelai Edamame Hasil Fermentasi Kultur Campuran oleh *Rhizopus oligosporus* dan *Bacillus subtilis*. *BERKALA SAINSTEK*. Vol 6 (1): 17-21.
- Noviani, S. D. 2021. Kajian Tempe Termodifikasi sebagai Makanan Probiotik secara In Vivo. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hal 30.
- Nurdini A.L., Nuraida, L., Suwanto, A., and Suliantari. 2015. Microbial Growth Dynamics during Tempeh Fermentation in Two Different Home Industries. *International Food Research Journal*. 22 (4): 1668-1674.
- Pratiwi, L. D. 2018. Kajian Kinetika Pertumbuhan Mikroorganisme dan Kandungan B-Glukan Selama Fermentasi Tempe dengan Penambahan

Saccharomyces cerevisiae. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hal 25-36.

Puspitasari, I. D., Widjanarko, S. B., dan Yuwono, S. S. 2018. Pengaruh Metode Perendaman Kedelai (*Glycine Max*) Terhadap Karakteristik Pektin. Jurnal Teknologi Pertanian. Vol. 19 (2): 117-124.

Rahayu, W.P., Pambayun, R., Santoso, U., Nuraida, L., dan Ardiansyah. 2015. Tinjauan Ilmiah Teknologi Pengolahan Tempe Kedelai. Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI). <http://patpi.or.id>. Diakses pada 07 Desember 2020.

Rani, B., Singh, U., Sharma, R., Gupta, A., Dhawan, N. G., Sharma, A. K., Sharma, S., and Maheshwari, R. K. 2013. *Prosopis cineraria* (L) Druce: a desert tree to brace livelihood in Rajasthan. Asian J. Pharmaceutical Res. Health Care. 5 (2): 58-64.

Rizal, S., Kustyawati, M.E., Marniza, dan Ramadhani, I. 2017. Pengaruh Penambahan *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Sifat Organoleptik Tempe Kedelai. PROSIDING, Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI): “Peran Ahli Teknologi Pangan dalam Mewujudkan Ketahanan Pangan Nasional”. Bandar Lampung. 1096-1105.

Rizal, S., Kustyawati, M. E., Murhadi, Hasanudin, U., dan Marniza. 2018. Pengaruh Konsentrasi *Saccharomyces cerevisiae* terhadap Kadar Abu, Kadar Protein, Kadar Lemak dan Kandungan Beta-Glukan Tempe. Prosiding Seminar Nasional Dalam Rangka Dies Natalis UNS Ke 42 Tahun 2018. Vol 2, No. 1.

Rizal, S. dan Kustyawati, M. E. 2019. Karakteristik Organoleptik dan Kandungan Beta-Glukan Tempe Kedelai dengan Penambahan *Saccharomyces cerevisiae*. Jurnal Teknologi Pertanian 2 (20): 127-138.

Roubos-van den Hil PJR. 2010. Bioactive components of fermented soya beans effective against diarrhea-associated bacteria (Tesis). Belanda (NL): Wageningen University.p.32-40.

Salgado, J.M. and Donado-Pestana, C. M. 2011. Soy as a Functional Food. Hany A. El-Shemy (ed.). In Soybean and Nutrition. InTech. Croatia. pp.21-44.

- Sefriana, F. 2012. Variasi Nitrogen dan Hidrolisis Enzimatis pada Produksi β -glukan *Saccharomyces cerevisiae* dengan Medium Onggok Ubi Kayu dan Onggok Umbi Garut. (Skripsi). Universitas Indonesia. Hal 21-29.
- Soka, S., Suwanto, A., Sajuthi, D., and Rusmana, I. 2014. Impact of Tempeh Supplementation on Gut Microbiota Composition in Sprague-Dawley Rats. *Research Journal of Microbiology* 9 (4): 189-198.
- Sukmadinata, N. S. 2013. Metode Penelitian Pendidikan. PT. Remaja Rosdakarya. Bandung.
- Suliantari, Suryaatmadja, S. L., dan Kusumaningrum, H. 2015. Kandungan Dan Keragaman Mikroba Beberapa Tempe Dari Daerah Bogor. *Prosiding Seminar Hasil-Hasil PPM IPB Vol. I: 229–237*.
- Suparno, Giyanto, Kusumadati, W., dan Sadono, A. 2020. Pengaruh Lama Perendaman Kedelai Dan Proporsi Tepung Beras Sebagai Upaya Meningkatkan Mutu Gizi Tempe. *Jurnal Agrienvi*. Vol 14 (2): 50 – 58.
- Suyadi, Nurwantoro, dan Mulyani, S. 2012. Total *Yeast*, pH, Cita Rasa Asam dan Cita Rasa Alkohol pada Es Krim dengan Penambahan Starter *Saccharomyces Cerevisiae* pada Lama Pemeraman yang Berbeda. *Animal Agriculture Journal*. Vol. 1 (2): 246 – 257.
- Triwibowo, R. 2011. Kajian Kimiawi Stakhiosa dan Asam Lemak Esensial Pada Tempe Kedelai (*Glycine max*) Selama Proses Fermentasi. (Skripsi). Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Varelas, V., Liouni, M., Calokerinos, A. C., and Nerantzis, E. T. 2015. An evaluation study of different methods for the production of β -D-glucan from yeast biomass. *Journal of the Institute of Brewing*, doi 10.1002/dta.1833.
- Virgianti, D.P. 2015. Uji Antagonis Jamur Tempe (*Rhizopus sp*) Terhadap Bakteri Patogen Enterik. *Jurnal Biosfera*. 32 (3): 162-168.
- Wahyudi, A. 2018. Pengaruh Variasi Suhu Ruang Inkubasi Terhadap Waktu Pertumbuhan *Rhizopus Oligosporus* Pada Pembuatan Tempe Kedelai. *Jurnal Teknik Kimia*. Vol 3 (1): 1-8.
- Widoyo, S., Handajani, S., dan Nandariyah. 2015. Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar serat kasar dan aktivitas antioksidan tempe beberapa varietas kedelai. *Biofarmasi*. Vol. 13 (2) pp. 59-65.

- Winarsi, H. 2010. Protein Kedelai dan Kecambah Manfaatnya bagi Kesehatan. Kanisius. Yogyakarta.
- Zaheer, K and Akhtar, M. H. 2017. An updated review of dietary isoflavone: nutrition, processing, bioavailability and impacts on human health. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. 57(6):1280-1293.
- Zahrah, R. 2019. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Tepung Terhadap Pertumbuhan Khamir dan Kandungan Beta-glukan Tempe. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung. Hal 20-32.