



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA III

"Teori dan Aplikasi Sains dalam Isu Globalisasi Lingkungan, Profesionalisasi Pembelajaran dan Kewirausahaan"

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS

Surakarta, 7 Mei 2011



MAKALAH PENDAMPING

BIOKIMIA
(Kode : F-13)

ISBN : 978-979-1533-85-0

STUDI KANDUNGAN ISOFLAVON DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SECARA IN VITRO PADA TEMPE KEDELAI KUNING (*Glycine max L Merril*) MADURA DENGAN VARIASI LAMA WAKTU FERMENTASI

Sri Retno Dwi Ariani¹, Sri Handajani² dan Sri Handayani³

¹ Prodi Kimia, PMIPA, FKIP, UNS, Solo, Indonesia (edkostrad@yahoo.co.id)

² Jurusan THP, FP, UNS, Solo, Indonesia

³ Alumni Prodi Kimia, PMIPA, FKIP, UNS, Solo, Indonesia

Abstrak

Tujuan dari penelitian ini adalah : (1) mengetahui lama waktu fermentasi yang optimum untuk menghasilkan tempe berbahan baku kedelai kuning Madura dengan aktivitas antioksidan yang optimum, (2) mengetahui jenis-jenis senyawa isoflavon apa sajakah yang terkandung dalam tempe berbahan baku kedelai kuning Madura dengan lama waktu fermentasi tertentu untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang optimum, (3) mengetahui kadar masing-masing senyawa isoflavon yang terkandung dalam tempe berbahan baku kedelai kuning Madura pada lama waktu fermentasi tertentu untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang optimum dan (4) mengetahui potensi tempe berbahan baku kedelai kuning Madura dalam upaya pemanfaatannya sebagai antioksidan alami bila dibandingkan dengan beberapa antioksidan alami (α -tokoferol, asam askorbat, dan β -karoten) maupun antioksidan sintetis (BHT). Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium dan kajian pustaka. Teknik pengumpulan data dalam penelitian ini adalah : (1) penyediaan sampel berupa kedelai kuning dari Sampang Madura Jawa Timur, (2) penyediaan inokulum yaitu tepung merek "RAPRIMA" yang mengandung *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710, (3) Pembuatan tempe kedelai, (4) Isolasi yang meliputi ekstraksi dengan metode maserasi, penguapan menggunakan *rotary vacuum evaporator* serta pengeringan dengan oven selama 5 jam, (5) identifikasi kandungan isoflavon pada isolat dengan metode HPLC dengan standar pembandingan Faktor-2, Daidzein, Glisitein dan Genistein, dan (6) uji aktivitas antioksidan tempe kedelai dengan metode DPPH dengan standar pembandingan BHT, α -tokoferol, asam askorbat, dan β -karoten. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa : (1) lama waktu fermentasi yang optimum untuk menghasilkan tempe berbahan baku kedelai kuning Madura dengan aktivitas antioksidan yang optimum adalah 3 hari yaitu sebesar 81,43 %, (2) jenis-jenis senyawa isoflavon yang terkandung dalam tempe berbahan baku kedelai kuning Madura pada lama waktu fermentasi 3 hari (lama waktu optimum untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang optimum) adalah faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein, (3) kadar masing-masing senyawa isoflavon yang terkandung dalam tempe berbahan baku kedelai kuning Madura pada lama waktu fermentasi 3 hari adalah faktor-2 sebesar 24,819 mg, daidzein 499,531 mg, glisitein 91,334 mg dan genistein 568,314 mg dalam tiap 100 gram tempe dan (4) tempe berbahan baku kedelai kuning Madura hasil fermentasi 3 hari memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi (81,43%) dari BHT (81,16%), α -tokoferol (76,41%), asam askorbat (97,73 %) dan β -karoten (43,25%), sehingga sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai antioksidan alami.

Kata kunci : kedelai kuning, tempe, isoflavon, HPLC, antioksidan

PENDAHULUAN

Kab. Sampang Madura merupakan salah satu lumbung kedelai. Daerah sentra penanaman kedelai tersebar di empat kecamatan yakni Torjun, Robatal, Sokobanah, dan Jrengik. Kelompok tani Dharma Usaha bekerja sama dengan ATM-ROC Taiwan dalam pengembangan

4 varietas unggul yaitu : Krakatau, Tampomas, Jaya Wijaya, dan Wilis. Varietas ini bisa diproduksi sebanyak 1,85 ton/ha - 3,36 ton/ha [1].

Tempe kedelai merupakan salah satu makanan tradisional asli Indonesia. Masyarakat Indonesia yang secara tradisi telah lama mengkonsumsi tempe, banyak diuntungkan dari

berbagai faktor karena produk tersebut mengandung nilai gizi tinggi, khususnya sebagai sumber protein dan senyawa aktif isoflavon [2].

Isoflavon yang terdapat dalam biji kedelai dorman adalah dalam bentuk isoflavon glikosida yaitu daidzin, genistin dan glisitin. Isoflavon glikosida tersebut mempunyai aktivitas fisiologis yang rendah. Pawiroharsono (1996), menyatakan bahwa 99% isoflavon glikosida yang terdapat pada biji kedelai, selama proses perendaman (dalam pembuatan tempe) dapat terhidrolisis menjadi aglukan isoflavon dan glukosa. Aglukan isoflavon yang mempunyai aktivitas fisiologis tinggi tersebut adalah genistein (*5,7,4'-trihidroksi isoflavon*), daidzein (*7,4'-trihidroksi isoflavon*), dan glisitein (*6-metoksi-7,4'-trihidroksi isoflavon*), selanjutnya pada proses fermentasi kedelai rendam dengan kapang *Rhizopus oligosporus*, daidzein dapat mengalami proses hidrosilasi sehingga menjadi senyawa faktor-2 (*6,7,4'-trihidroksi isoflavon*) [3]. Faktor-2 mempunyai aktivitas antioksidan dan antihemolisis yang lebih baik dari daidzein dan genistein. Selain itu, telah ditemukan bahwa senyawa isoflavon lebih aktif 10 kali lipat dari senyawa karboksi kroman. Salah satu aktivitas fisiologis yang menonjol dari isoflavon daidzein, genestein, glisitein dan faktor-2 adalah aktivitas antioksidan. Antioksidan pada isoflavon sangat dibutuhkan tubuh untuk menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas, sehingga dapat menghambat proses penuaan dini, mencegah penyakit degeneratif seperti aterosklerosis, jantung koroner, *diabetes militus*, dan kanker [4, 5].

Pada umumnya selama ini antioksidan yang digunakan sebagai pengawet pada bahan makanan adalah antioksidan sintetik. Pemanfaatan zat antioksidan sintetik dapat menimbulkan gangguan kesehatan bagi konsumen antara lain gangguan fungsi hati, paru, mukosa usus dan keracunan [6,7]. Untuk itu perlu

dicari alternatif lain untuk mengatasi permasalahan tersebut.

Dalam rangka pengembangan senyawa antioksidan alami khususnya isoflavon maka perlu dilakukan penelitian tentang optimasi produksi senyawa antioksidan dari kedelai lokal dan produk tempenya serta karakterisasi kandungan isoflavonnya.

Adapun tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah : (1) Mengetahui lama waktu fermentasi yang optimum untuk menghasilkan tempe kedelai kuning dari Madura dengan aktivitas antioksidan yang optimum, (2) Mengetahui jenis-jenis senyawa isoflavon apa sajakah yang terkandung dalam tempe kedelai kuning dari Madura dengan lama waktu fermentasi tertentu untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang optimum, (3) Mengetahui kadar masing-masing senyawa isoflavon yang terkandung dalam tempe kedelai kuning dari Madura pada lama waktu fermentasi tertentu untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang optimum, (4) Mengetahui potensi tempe berbahan baku kedelai kuning Madura dalam upaya pemanfaatannya sebagai antioksidan alami bila dibandingkan dengan beberapa antioksidan alami (α -tokoferol, β -karoten, dan asam askorbat) maupun antioksidan sintesis (BHT).

PROSEDUR PERCOBAAN

Pembuatan Tempe Kedelai

Seratus gram biji kedelai kuning Madura direndam dengan 1000 ml air selama semalam. Pada saat perendaman, air diganti tiap 3-4 jam untuk menghindari bau tidak sedap. Kulit ari biji kedelai rendam dikupas dan dicuci hingga bersih. Biji dikukus selama 45 menit, diangkat lalu diangin-anginkan. Lalu ditambah ragi tempe (0,2 g) dan diratakan, lalu dikemas dengan daun

pisang [8,9,10,11]. Fermentasi pada suhu ruang dengan variasi lama waktu 0, 1, 2, 3 dan 4 hari.

Pembuatan Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Kuning Madura

Seratus gram I tempe kedelai diblender, kemudian dimaserasi dengan 200 ml etanol 70% pada bubur tempe, lalu didiamkan 24 jam. Rendaman disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat I. Menambahkan 75 ml etanol 70% pada residu hasil penyaringan, dan mendiamkan selama 24 jam. Rendaman disaring hingga diperoleh filtrat II. Menambahkan 75 ml etanol 70% pada residu hasil penyaringan, dan mendiamkan 24 jam. Rendaman disaring hingga diperoleh filtrat III. Filtrat I, Filtrat II dan Filtrat III digabungkan, kemudian disimpan pada suhu 4⁰ C selama 24 jam. Filtrat disaring dan diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50⁰ C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental dikeringkan dengan oven pada suhu 50⁰ C selama 5 jam [9].

Identifikasi Isoflavon dengan Metode HPLC

Membuat larutan uji 100 ppm dengan cara melarutkan 0,1 mg isolat ke dalam 10 ml metanol 80 %. Menyentrifuge sehingga larutan homogen. Memipet 20 µl larutan uji kemudian menginjeksikan pada injektor HPLC. Dalam instrumen terjadi proses yang hasilnya terbaca detektor, kemudian komputer menampilkannya dalam bentuk kromatogram [9,12,13].

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Kuning Madura

Membuat larutan DPPH 0,2 mM dalam 100 ml metanol. Membuat larutan uji 500 ppm ke dalam 4 ml metanol. Menyimpan larutan DPPH dan larutan uji dalam ruang gelap. Menentukan absorbansi kontrol dengan cara memipet 2 ml metanol lalu menambahkan 1 ml larutan DPPH 0,2 mM ke dalam kuvet dan mengocoknya hingga

homogen, kemudian mengukur absorbansinya pada λ 400-600 nm. Menentukan absorbansi larutan uji dengan cara memipet 2 ml larutan uji 500 ppm lalu menambahkan 1 ml larutan DPPH 0,2 mM. Sebelum mengukur absorbansinya, campuran didiamkan selama 30 menit dalam ruang gelap. Setelah mendiamkan 30 menit, selanjutnya mengukur absorbansinya pada λ 400-600 nm sehingga diperoleh absorbansi sampel. Menghitung prosentase aktivitas antioksidan [10, 14, 15, 16].

Teknik Analisis Data

Analisis kandungan isoflavon (faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein) dalam sampel dilakukan dengan metode HPLC. Adanya puncak kromatogram yang memiliki waktu retensi yang sama atau mendekati waktu retensi faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein standar menunjukkan adanya faktor-2, daidzein glisitein dan genistein dalam sampel. Analisis secara kuantitatif bertujuan untuk mengetahui kadar masing-masing senyawa isoflavon. Kadar masing-masing senyawa isoflavon dapat dihitung dengan cara mengalikan % konsentrasi sampel dalam kromatogram dengan massa isolat total yang diperoleh.

Aktivitas antiradikal dihitung dengan metode DPPH dimana sampel direaksikan dengan larutan DPPH. Aktivitas antiradikal dinyatakan dalam bentuk persen penangkapan radikal DPPH dan dihitung dengan persamaan:

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \left(1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \right) \times 100 \%$$

Untuk mengetahui potensi tempe kedelai kuning dari Madura selanjutnya dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pembanding yang sudah ada yaitu α-tokoferol, β-karoten, dan asam askorbat (antioksidan alami) dan BHT (antioksidan sintetis).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Tempe Kedelai Kuning Madura

Biji kedelai yang digunakan adalah biji kedelai yang bentuknya utuh, keras, berwarna kuning dan tidak terdapat cacat pada seluruh permukaannya seperti bekas hama dan sebagainya. Biji kedelai yang telah dipilih selanjutnya direndam dalam air biasa selama 24 jam. Selama perendaman, biji kedelai dikupas kulitnya dengan tetap memperhatikan aspek kebersihan. Biji kedelai yang telah dihilangkan kulit arinya (kedelai kupas) selanjutnya dikukus.

Biji kedelai yang telah dikupas selanjutnya dikukus menggunakan dandang tertutup selama 30 menit. Cara pengukusan dipilih karena senyawa antigizi yang terkandung pada biji kedelai dapat ikut terekstraksi bersama air kukusan. Sebelum ditambahkan inokulum, kedelai hasil pengukusan diangin-anginkan terlebih dahulu untuk mengurangi kadar air berlebih pada kedelai [8,11].

Kedelai yang telah diinokulasi selanjutnya dikemas menggunakan daun pisang. Kedelai yang telah diinokulasi dan dikemas dalam daun pisang selanjutnya difermentasi dalam suhu kamar selama 0,1,2,3 dan 4 hari. Produk fermentasi yang siap dikonsumsi yaitu tempe berwarna putih, tekstur kompak dan flavour spesifik.

Hasil Ekstraksi

Senyawa isoflavon yang terkandung dalam kedelai umumnya berupa senyawa kompleks atau konjugasi dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Jenis senyawa isoflavon ini terutama adalah genistin, daidzin dan glisitin [3,4]. Isolasi isoflavon dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Proses penyiapan bahan adalah dengan memotong tempe kedelai fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 hari dalam ukuran yang tipis, kemudian

diblender hingga berbentuk bubuk tempe. Pembuatan bubuk tempe bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga dapat memperluas permukaan. Dengan demikian, diharapkan senyawa isoflavon yang terekstrak akan semakin banyak karena interaksi antara pelarut dengan bahan yang akan diekstrak semakin tinggi.

Maserasi merupakan cara ekstraksi senyawa organik yang mudah dan sederhana. Senyawa yang akan diisolasi direndam dalam pelarut yang sesuai selama waktu tertentu. Selanjutnya filtrat dipisahkan dari residu untuk diproses lebih lanjut menjadi ekstrak yang murni. Pada penelitian ini, maserasi dilakukan dalam pelarut etanol 70%. Etanol merupakan pelarut yang sesuai untuk mengisolasi senyawa-senyawa organik. Dari proses maserasi diperoleh hasil berupa filtrat berwarna kuning untuk tempe fermentasi 0 hari, lalu meningkat intensitasnya dengan semakin lama waktu fermentasinya. Filtrat yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50⁰ C sampai didapatkan ekstrak yang pekat atau hampir semua etanol teruapkan. Ekstrak ini selanjutnya disimpan dalam oven suhu 50⁰C selama 5 jam untuk menguapkan pelarut yang masih tersisa. Hasilnya adalah ekstrak etanol tempe kedelai kuning Madura. Pada tabel 1 menyatakan bahwa massa isolat dari tempe kedelai hasil fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 hari berturut-turut adalah 0,677 g/100 g, 2,933 g/100 g, 4,982 g/100 g, 3,421 g/100 g dan 5,192 g/100 g tempe kedelai.

Hasil Analisis Isoflavon dengan Metode HPLC

Analisis dengan HPLC bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa isoflavon faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein dalam sampel tempe kedelai pada berbagai waktu fermentasi. Seperti metode kromatografi yang

lain, analisis HPLC dilakukan dengan membandingkan waktu retensi dari senyawa isoflavon standar dengan waktu retensi dari masing-masing sampel.

Penentuan waktu retensi senyawa faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein standar dilakukan pada hari yang sama dengan penentuan waktu retensi dari masing-masing sampel agar diperoleh kondisi yang sama. Pada tabel 1 menunjukkan bahwa pada sampel tempe kedelai hasil fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 hari terdapat puncak kromatogram dengan waktu retensi yang relatif sama dengan waktu retensi senyawa faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein standar, hal ini menunjukkan bahwa dalam sampel tempe kedelai hasil fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 hari terdapat kandungan isoflavon faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein. Senyawa faktor-2 (6,7,4'-trihidroksi isoflavon) diperkirakan terbentuk melalui reaksi dekarboksilasi genistein menjadi daidzein yang kemudian mengalami hidrosilasi menjadi faktor-2. Kadar faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein pada tempe kedelai hasil fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 hari dapat dilihat pada Tabel 2. Sedangkan grafik kadar faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein dalam sampel tempe kedelai hasil fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 hari ditampilkan pada gambar 1. Gambar 1 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar senyawa isoflavon faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein antara tempe kedelai hasil fermentasi 0 hari dengan tempe yang telah difermentasi lebih lanjut. Genistein memiliki kadar yang paling tinggi dalam sampel tempe kedelai dibandingkan senyawa isoflavon yang lain pada semua variasi waktu fermentasi, yang selanjutnya diikuti glisitein, daidzein dan faktor-2.

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (2,2 difenil 1 picril hidrazil).

Metode yang dipilih adalah metode DPPH karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel [14]. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning. Hasil uji aktivitas antioksidan sampel tempe kedelai hasil fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 hari terangkum dalam Tabell 3. Dari tiga kali perulangan percobaan, hasil uji aktivitas antioksidan diperoleh rata-rata aktivitas antioksidan sampel tempe kedelai hasil fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 hari berturut-turut adalah $76,05 \pm 0,57 \%$, $76,31 \pm 0,31 \%$, $76,06 \pm 0,23 \%$, $81,43 \pm 0,19 \%$ dan $77,14 \pm 0,00$. Grafik hasil uji aktivitas antioksidan sampel tempe berbahan kedelai kuning Madura dapat dilihat pada gambar 2. Dari grafik terlihat bahwa sampel tempe kedelai hasil fermentasi 3 hari memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Aktivitas antioksidan menurun pada sampel tempe kedelai hasil fermentasi 4 hari, kemungkinan disebabkan oleh reaksi lebih lanjut senyawa isoflavon menjadi senyawa lain yang aktivitasnya belum diketahui dan perlu dikaji lebih mendalam.

Lama waktu fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol yang mengandung senyawa isoflavon. Hal ini terlihat dari hasil uji aktivitas antioksidan yang menunjukkan adanya kenaikan aktivitas antioksidan seiring bertambahnya waktu fermentasi yang mencapai maksimum pada hari ketiga yaitu sebesar $81,43 \pm 0,19 \%$.

Aktivitas antioksidan tempe kedelai kuning Madura hasil fermentasi 3 hari bila dibandingkan dengan aktivitas antioksidan lain yang sudah ada yaitu α -tokoferol, β -karoten dan asam askorbat sebagai antioksidan alami maupun BHT yang merupakan antioksidan sintesis dapat dilihat pada Tabel 4. Tempe kedelai kuning Madura hasil fermentasi 3 hari memiliki aktivitas antioksidan

(81,43%), asam askorbat (97.73 %), BHT (81,16%), α -tokoferol (76,41%), dan β -karoten (43,25%).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, metanol 90 % merupakan pelarut yang optimum untuk mengekstrak isoflavon dari kedelai. Pelarut metanol 80% dan 90% menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding metanol absolut. Diduga metanol dengan konsentrasi tersebut memiliki tingkat kepolaran yang mendekati tingkat kepolaran senyawa isoflavon yang diteliti, sehingga mampu mengekstrak lebih banyak senyawa isoflavon daripada metanol absolut [7], akan tetapi metanol bersifat toksik sehingga penggunaannya untuk skala komersial masih perlu dikaji lebih lanjut. Penelitian dengan menggunakan pelarut etanol untuk ekstraksi diharapkan dapat mengganti metanol untuk menghasilkan ekstrak antioksidan alami secara komersial, karena kepolaran etanol mendekati metanol dan relatif tidak beracun [10].

Dalam penelitian ini dicoba digunakan etanol 70 %, dan ternyata hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70 % memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi bahkan lebih tinggi bila dibandingkan dengan senyawa antioksidan lain yang telah ada di perdagangan, sehingga dapat dipertimbangkan sebagai antioksidan alami terutama dapat menggantikan antioksidan sintetik seperti BHT yang berbahaya bagi kesehatan.

Kelebihan ekstrak etanol dari tempe kedelai disamping aktivitas antioksidannya yang cukup tinggi adalah kandungan isoflavonnya. Pada ekstrak etanol tempe kedelai hasil fermentasi 3 hari diketahui mengandung 0,73 % faktor-2, 14,60 % daidzein, 2,67 % glisitein dan 16,61 % genistein.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa : (1) Lama waktu fermentasi

yang optimum untuk menghasilkan tempe kedelai kuning Madura dengan aktivitas antioksidan yang optimum adalah 3 hari yaitu sebesar 81,43 %, (2) Jenis-jenis senyawa isoflavon yang terkandung dalam tempe kedelai kuning Madura pada lama waktu fermentasi 3 hari (lama waktu optimum untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang optimum) adalah faktor-2, daidzein, glisitein dan genistein , (3) Kadar masing-masing senyawa isoflavon yang terkandung dalam tempe kedelai kuning Madura pada lama waktu fermentasi 3 hari adalah faktor-2 sebesar 24,819 mg, daidzein 499,531 mg, glisitein 91,334 mg dan genistein 568,314 mg dalam tiap 100 gram tempe, (4) Tempe kedelai kuning Madura hasil fermentasi 3 hari memiliki aktivitas antioksidan (81,43%), yang lebih rendah dari asam askorbat (97.73 %), tetapi lebih tinggi bila dibandingkan dari BHT (81,16%), α -tokoferol (76,41%), dan β -karoten (43,25%), sehingga sangat potensial untuk dimanfaatkan sebagai antioksidan alami.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Anonim, 2000, *Berpotensi Jadi Lumbung Kedelai*, <http://zkarnain.tripod.com>, diakses 24 Januari 2011.
- [2] S. Pawiroharsono, 1996, *Aspek Mikrobiologi Tempe*, Bunga Rampai Tempe Indonesia, Yayasan Tempe Indonesia, Jakarta.
- [3] Gyorgy, S., Murata, K. and Ikehata, H., 1964, Antioxydant Isolated From Fermented Soybean, *Nature*, 23, 4947, p. 870-872.
- [4] S. Pawiroharsono, 2001, *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*, diakses 03 Pebruari 2007.
- [5] Sutrisno Koswara, 1995, *Isoflavon Senyawa Multimanfaat dalam Kedelai*, IPB, Bogor.
- [6] Imam Suryo dan Imam Tohari, 1995, Aktivitas Antioksidan Buah Jambu Mete dan Penerapannya pada Abon, *Biosains*, 1, 7, h. 50-51.

- [7] Tri Susanto, Z. Elok, dan B.W. Simon, 1998, *Studi Aktivitas Antioksidan pada Tempe*, Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia, Jakarta, hal. 6.
- [8] W. Sunarno, dan S.R.D. Ariani, 2001, Identifikasi Awal Senyawa Faktor-2 pada Tempe selama Proses Fermentasi Hari Ke-0, 1, 2, 3, 4 dan 5, *Paedagogia*, 4, 1.
- [9] Sri Retno Dwi Ariani, 2003, Pembuatan Keju Kedelai yang Mengandung Senyawa Faktor-2 Hasil Biokonversi Isoflavon pada Tahu oleh *Rhizopus Oligosporus (L41)*, *BioSMART*, 5, 1, hal. 8-12.
- [10] Sri Retno Dwi Ariani dan Wiji Hastuti, 2009, Analisis Isoflavon dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Tempe dengan Variasi Lama Waktu Fermentasi dan Metode Ekstraksi, *Prosiding Seminar Kimia dan Pendidikan Kimia*, Surakarta.
- [11] Kasmidjo, R. B., 1990, *Tempe : Mikrobiologi dan Biokimia Pengolahan serta Pemanfaatannya*. Yogyakarta, PAU Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.
- [12] Fajar Restuhadi, 1993, *Studi Pendahuluan Biokonversi Isoflavon pada Proses Fermentasi Kedelai Menggunakan Rhizopus spp. L.41.*, Thesis, Magister Kimia ITB, Bandung.
- [13] A. Rudiretna, 1991, *Studi Pendahuluan Biokonversi Isoflavon pada Proses Fermentasi Tempe dengan Teknik Peredaman (Submerge)*, Thesis, Magister Kimia ITB, Bandung.
- [14] Amrun, H., M. Umiyah, dan E.U. Umayah, 2007, *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Metanol Beberapa Varian Buah Kenitu (Chrysopyllum cainito L.) dari Daerah Jember*, Berkala Penelitian Hayati, 13.
- [15] Dian Sri Pramita, 2008, *Pengaruh Teknik Pemanasan Terhadap Kadar Asam Fitat dan Aktivitas Antioksidan Koro Benguk (Mucuna pruriens), Koro Glinding (Phaseolus lunatus) dan Koro Pedang (Canavalia ensiformis)*, Skripsi, Jurusan Teknologi Pertanian FP UNS, Surakarta.
- [16] Gordon, M.H., 1990, *The Mechanism of Antioxidant Action In Vitro, Food Antioxidant*, Elsevier Applied Science, London and New York, 1, p. 9-10.

LAMPIRAN





Tabel 1. Hasil Identifikasi Isoflavon dengan Metode HPLC pada Sampel Tempe Kedelai Hasil Fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 Hari

Jenis Isoflavon	Waktu Retensi (Rf)					
	Senyawa Standar	Tempe Hasil Fermentasi Hari Ke-				
		0	1	2	3	4
Faktor-2	11,746	11,812	11,731	11,958	11,642	11,533
Daidzein	12,660	12,691	12,709	12,745	12,561	12,437
Glisitein	13,204	13,298	13,303	13,246	13,246	13,028
Genistein	14,630	14,662	14,686	14,798	14,708	14,291


Tabel 2. Kadar Faktor-2, Daidzein, Glisitein dan Genistein dalam Tempe Kedelai Hasil Fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 Hari Setiap 100 gram Tempe Kedelai

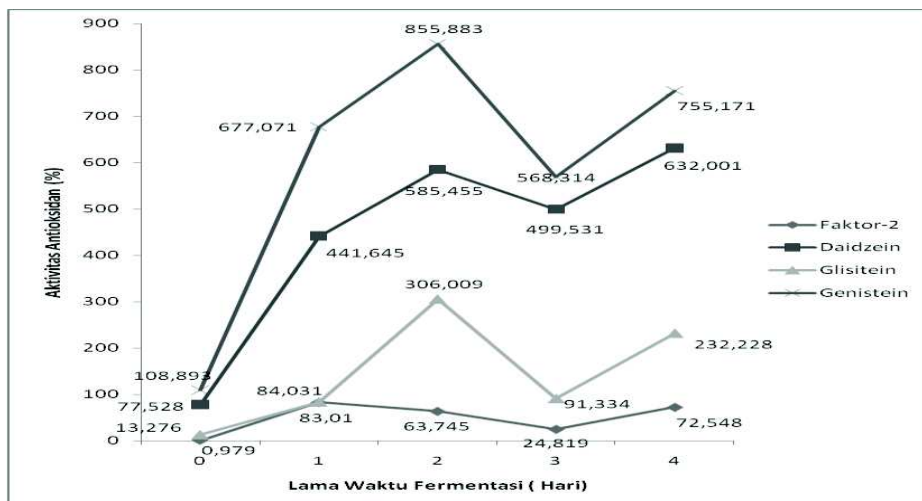
Lama Waktu Fermentasi (Hari)	Massa Ekstrak Total (mg)	Jenis Senyawa Isoflavon	% Luas Area	Massa Senyawa Isoflavon (mg)
0	697	Faktor-2	0,1405	0,979
		Daidzein	11,1231	77,528
		Glisitein	1,9048	13,276
		Genistein	15,6231	108,893
1	2933	Faktor-2	2,8302	83,010
		Daidzein	15,0578	441,645
		Glisitein	2,8650	84,031
		Genistein	23,0846	677,071
Lama Waktu Fermentasi (Hari)	Massa Ekstrak Total (mg)	Jenis Senyawa Isoflavon	% Luas Area	Massa Senyawa Isoflavon (mg)
2	4982	Faktor-2	1,2795	63,745
		Daidzein	11,7514	585,455
		Glisitein	6,1423	306,009
		Genistein	17,1795	855,883
3	3421	Faktor-2	0,7255	24,819
		Daidzein	14,6019	499,531
		Glisitein	2,6698	91,334
		Genistein	16,6125	568,314
4	5192	Faktor-2	1,3973	72,548
		Daidzein	12,1726	632,001
		Glisitein	4,4728	232,228
		Genistein	14,5449	755,171

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Tempe Berbahan Baku Kedelai Kuning Madura Hasil Fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 Hari dengan Metode DPPH

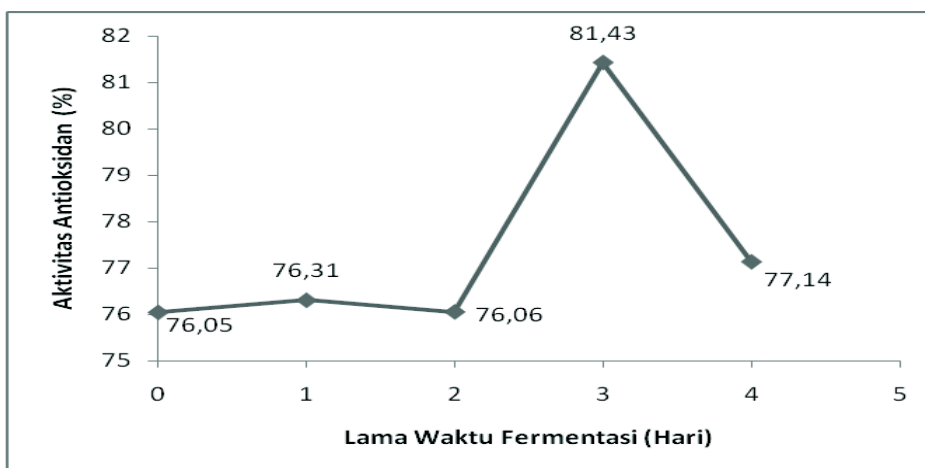
Lama Waktu Fermentasi (Hari)	Aktivitas Antioksidan (%)			
		 2	 3	
0	75,93	75,56	75,56	76,05 ± 0,57
1	76,00	76,62	76,31	76,31 ± 0,31
2	75,79	76,19	76,19	76,06 ± 0,23
3	81,21	81,54	81,54	81,43 ± 0,19
4	77,14	77,14	77,14	77,14 ± 0,00

Tabel 4. Data Aktivitas Antioksidan Beberapa Senyawa Antioksidan

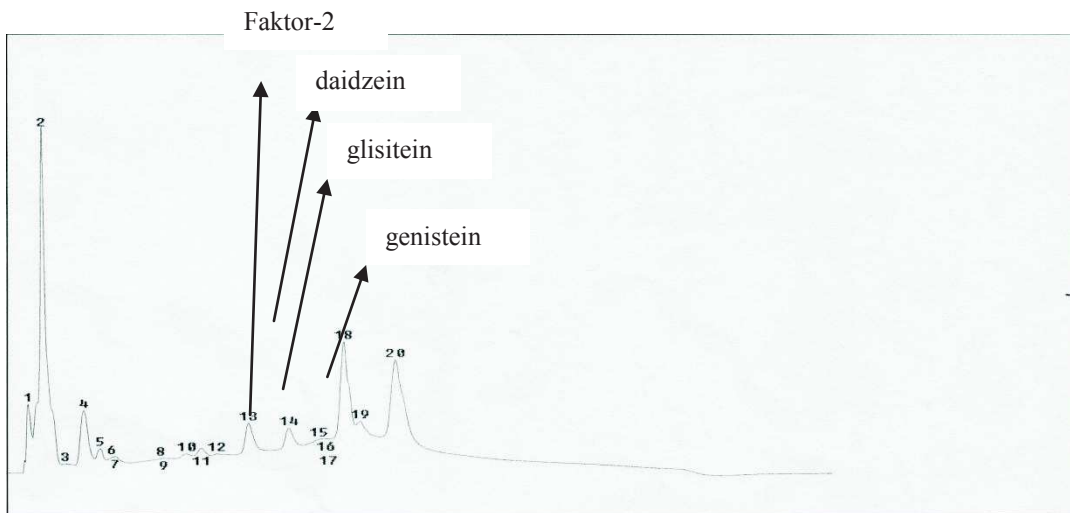
No	Senyawa Antioksidan	Aktivitas Antioksidan (%)			
		X1	X2	X3	
1	Isolat Tempe Kedelai hasil fermentasi 3 hari	81,21	81,54	81,54	81,43 ± 0,19
2	BHT	81,07	81,07	81,33	81,16 ± 0,15
3	α-tokoferol	76,23	76,50	76,50	76,41 ± 0,16
4	β-karoten	43,53	43,25	42,98	43,25 ± 0,28
5	Asam askorbat	98,01	97,19	98,00	97,73 %±0.47



Gambar 1. Kurva Kadar Faktor-2, Daidzein, Glisitein dan Genistein dalam Sampel Tempe Kedelai Hasil Fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 Hari



Gambar 2. Grafik Uji Aktivitas Antioksidan Sampel Tempe Kedelai Hasil Fermentasi 0, 1, 2, 3 dan 4 Hari



Gambar 3. Kromatogram HPLC Isoflavon Tempe Kedelai Kuning Madura Hasil Fermentasi Hari ke-3 yang merupakan