



PANITIA SEMINAR NASIONAL
“KONSUMSI PANGAN SEHAT DENGAN GIZI SEIMBANG
MENUJU TUBUH SEHAT BEBAS PENYAKIT”

Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada
Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta. No. Telp/fax. 0274-549650, email: seminar_pgs2013@ugm.ac.id

No : 60/SEMNAS-PGS/IX/13
Lamp : 1 bendel
Hal : Letter of Acceptance

Yogyakarta, 3 Oktober 2013

Yth.

Nani Ratnaningsih
Universitas Negeri Yogyakarta
Yogyakarta

Terimakasih atas partisipasi Bapak/Ibu dalam mengirimkan abstrak pada Seminar Nasional Pangan dan Gizi Seimbang 2013 yang akan diselenggarakan di Auditorium Kamarijani-Soenjoto, Fakultas Teknologi Pertanian UGM tanggal 12-13 Oktober 2013. Berdasarkan hasil review *Scientific Committee* terhadap abstrak Bapak/Ibu yang berjudul:

“KADAR ISOFLAVON DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEMPE KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*)”

kami panitia Seminar Nasional Pangan dan Gizi Seimbang 2013 memberitahukan bahwa abstrak tersebut *diterima* dalam kategori *presentasi oral*.

Untuk selanjutnya makalah lengkap harus diterima oleh Panitia Seminar paling lambat tanggal 7 Oktober 2013. Adapun petunjuk penulisan makalah lengkap mengikuti panduan terlampir.

Sebagai bentuk konfirmasi kehadiran dimohon peserta segera melakukan registrasi via surel dan membayar biaya pendaftaran ke Bank Mandiri UGM an. **Ir. Indyah Sulistya Utami, MS.** dengan No. **Rek. 137-00-1072677-2**, paling lambat tanggal 30 September 2013. Bukti transfer pembayaran dimohon untuk dipindai dan dikirim ke surel seminar_pgs2013@ugm.ac.id.

Kedatangan dan partisipasi Bapak/Ibu pada Seminar Nasional Pangan dan Gizi Seimbang 2013 di Yogyakarta berkontribusi terhadap kesuksesan acara ini.

Ketua Panitia Pelaksana Seminar



Prof. Dr. Ir. Y. Marsono, MS.

PROFIL ISOFLAVON DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA TEMPE KACANG TUNGGAK (*Vigna unguiculata*)

Nani Ratnaningsih, Mutiara Nugraheni, dan Fitri Rahmawati

Jurusan Pendidikan Teknik Boga dan Busana
 Fakultas Teknik, Universitas Negeri Yogyakarta
 e-mail: nratnaningsih@yahoo.com

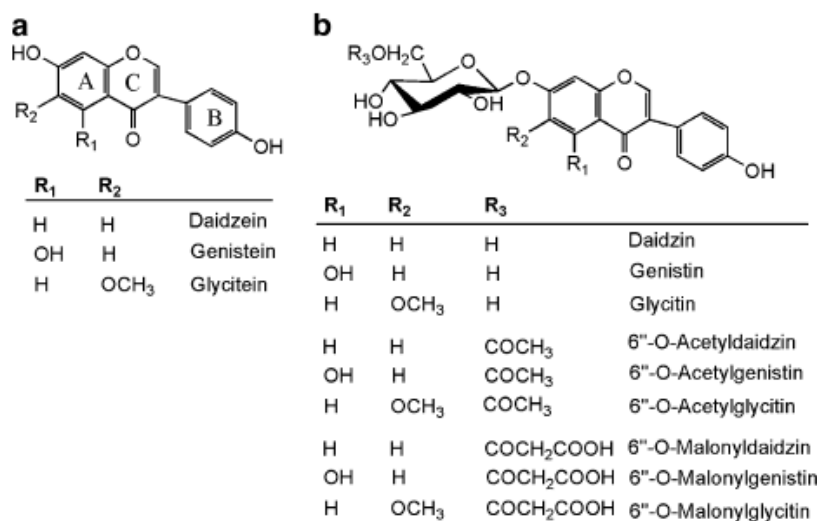
Abstract

The objective of this research was to determine isoflavone profile and antioxidant activity of cowpea (*Vigna unguiculata*) tempeh with different in the manufacturing process (wet and dry milling) and type of inoculum (leaves of *usar* and *Raprima*). Isoflavone profile was analyzed by HPLC using Han *et al.* (2007) method with modification. Antioxidant activity was determined by thio barbituric acid (TBA) value, peroxide value, and DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Cowpea tempeh have daidzin ranged 23,69-63,36 $\mu\text{g/g}$, genistin ranged 16,00-42,82 $\mu\text{g/g}$, daidzein ranged 65,87-109,77 $\mu\text{g/g}$, and genistein ranged 87,74-130,48 $\mu\text{g/g}$. TBA value of cowpea tempeh ranged 37,42-64,12 mg malonaldehid/kg, peroxide value ranged 6,44-10,59 mEq peroxide/kg, and DPPH ranged 42,94-49,46%. The best of isoflavone and aglycones content corresponding with antioxidant activity was found on cowpea tempeh with wet milling using leaves of *usar*. This research indicated that cowpea tempeh have potency as source of isoflavone and its aglycones also as antioxidant.

Keyword: cowpea tempeh, isoflavone profile, antioxidant activity

PENDAHULUAN

Isoflavon adalah salah satu golongan flavonoid yang merupakan senyawa metabolit sekunder dengan struktur dasar C₆-C₃-C₆ dan banyak terdapat pada biji tanaman leguminosa. Ada 4 tipe isoflavon, yaitu senyawa aglikon (daidzein, genistein, dan glisitein), dan senyawa konjugat glikosidik berupa senyawa 7-O-glukosida (daidzin, genistin, dan glisitin), senyawa 6"-O-acetylglukosida (6"-O-acetyldaidzin, 6"-O-acetylgenistin, dan 6"-O-acetylglisitin), dan senyawa 6"-O-malonilglukosida (6"-O-malonildaizidin, 6"-O-malonilgenistin, dan 6"-O-malonilglisitin) (Villares *et al.*, 2011). Gambar 1 menunjukkan struktur kimia senyawa isoflavon aglikon dan glukosidanya.



Gambar 1. Struktur kimia senyawa isoflavon: (a) aglikon dan (b) glukosida (Villares *et al.*, 2011)

Pada umumnya senyawa isoflavon berupa senyawa kompleks atau konjugasi dengan senyawa gula melalui ikatan glukosida yang mempunyai aktivitas fisiologis kecil. Selama proses pengolahan, baik melalui proses fermentasi maupun proses non-fermentasi, senyawa isoflavon dapat mengalami transformasi, terutama melalui proses hidrolisa, sehingga dapat diperoleh senyawa isoflavon bebas yang disebut aglikon yang lebih tinggi aktivitasnya. Senyawa aglikon tersebut adalah genistein, glisitein, dan daidzein.

Kandungan isoflavon pada beberapa kacang-kacangan dan tempe per 100 gram menurut USDA (2002) adalah 43,52 mg pada tempe, 2,42 mg pada kacang kapri, 0,26 mg pada kacang tanah, 0,20 mg pada navy bean, 0,10 mg pada chickpea dan lentil, sedangkan pada kedelai sebesar 2-4 mg/g kedelai. Lee *et al.* (2003) menyatakan kandungan isoflavon pada 15 varietas kedelai di Korea berkisar antara 188,4-948,9 mg/100 g dan mengalami penurunan selama penyimpanan kedelai. Genovese *et al.* (2005) melaporkan bahwa kandungan isoflavon pada 14 varietas kedelai di Brazil berkisar antara 57-188 mg/100 g.

Isoflavon mendapat perhatian yang sangat besar dari banyak peneliti karena mempunyai sifat sebagai antioksidan, antiinflamasi, antialergi, mengurangi resiko penyakit kardiovaskular, mendorong penghambatan pertumbuhan sel kanker, antiestrogen untuk mencegah osteoporosis dan gejala menopause, serta sebagai inhibitor tyrosine protein kinase. Sifat-sifat isoflavon tersebut berhubungan dengan struktur kimianya khususnya adanya substitusi hidroksil pada cincin B dan C, namun bukan cincin A yang esensial untuk aktivitas antioksidan (Villares *et al.*, 2011).

Salah satu cara diversifikasi bahan baku tempe adalah dengan menggunakan kacang-kacangan selain kedelai, misalnya kacang tunggak. Kacang tunggak atau kacang tunggak (*Vigna unguiculata*) merupakan tanaman kacang-kacangan yang sudah dikenal dan dibudidayakan oleh masyarakat. Penelitian Nani Ratnaningsih (2007) menunjukkan kacang tunggak dapat digunakan sebagai bahan pembuatan tempe dengan kandungan zat-zat gizi yang tidak kalah dengan tempe kedelai, yaitu kadar air 63,41 %, kadar abu 2,59 %, kadar lemak 1,72 %, kadar serat kasar 3,21 %, kadar protein total 31,57 % dan kadar protein tercerna 26,30 %.

Sampai saat ini penelitian sumber isoflavon dari kacang-kacangan masih didominasi dari kedelai dan produk olahannya. Potensi tempe kacang tunggak sebagai sumber isoflavon selain tempe kedelai belum diteliti, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi tempe kacang tunggak sebagai sumber isoflavon. Hal ini berdasarkan dugaan bahwa kacang tunggak juga mengandung isoflavon yang masih berikatan dengan senyawa gula. Proses fermentasi kacang tunggak menjadi tempe diduga dapat menghidrolisa isoflavon tersebut sehingga diperoleh isoflavon aglikon. Dengan demikian tempe kacang tunggak diharapkan dapat menjadi alternatif sumber isoflavon, selain tempe kedelai, yang berfungsi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari profil isoflavon dan aktivitas antioksidan pada tempe kacang tunggak dengan variasi proses pembuatan (giling basah dan giling kering) dan jenis inokulum (usar daun dan Raprima). Manfaat penelitian adalah adanya alternatif sumber isoflavon selain kedelai yang murah dan dapat berfungsi sebagai makanan fungsional, misalnya sebagai antioksidan, sehingga dapat mencegah berbagai penyakit degeneratif.

METODE PENELITIAN

Bahan penelitian

Sampel kacang tunggak, usar daun dan Raprima diperoleh dari Pasar Beringharjo, Yogyakarta. Standar isoflavon, yaitu daidzin, genistin, daidzein, dan genistein diperoleh dari Sigma-Aldrich Co. Bahan kimia lain yang digunakan meliputi dimetil sulfoksida (DMSO), metanol, asam trifluoroasetat, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrasil hidrat), *butylated hidroxy toluene* (BHT), asam linoleat, etanol, buffer fosfat, air distilasi, ammonium tiosianat, klorida ferrous, dan asam hidroklorat bersifat *analytical grade*.

Pembuatan tempe kacang tunggak

Pembuatan tempe kacang tunggak dilakukan dengan dua variasi, yaitu proses pengupasan kulit ari kacang tunggak (giling basah dan giling kering) dan jenis inokulum (usar daun dan Raprima). Tahapan proses pembuatan tempe kacang tunggak dengan giling kering meliputi pengupasan kulit ari dengan alat pengupas kulit ari kedelai, perendaman dalam air selama semalam, pencucian dengan air mengalir, perendaman dalam air selama semalam, pencucian dengan air mengalir sampai bersih, perebusan, pendinginan, pemberian jamur tempe (usar daun atau Raprima), pengemasan dengan kantong plastik, dan fermentasi selama 2 hari pada suhu kamar. Tahapan proses pada giling basah meliputi perendaman dalam air selama semalam, penghilangan kulit ari dengan mesin penggiling,

perendaman dalam air selama semalam, pencucian dengan air mengalir sampai bersih, perebusan, pendinginan, pemberian jamur tempe (usar daun atau Raprima), pengemasan dengan kantong plastik, dan fermentasi selama 2 hari pada suhu kamar.

Pengujian profil isoflavon

Pengujian profil isoflavon menggunakan HPLC dengan prosedur Han *et al* (2007) yang dimodifikasi. Instrumen yang digunakan adalah HPLC DIONEX P680 yang dilengkapi dengan kolom Kromasil C18, pompa HPLC DIONEX P680, kolom termostat, fasilitas injektor sampel otomatis (ASI-100 Automated Sample Injector), dan detektor UV6000LP.

Preparasi larutan sampel dimulai dengan membuat tepung tempe kacang tunggak, yaitu pengirisan tipis-tipis, pengukusan 10-15 menit untuk mematikan enzim dan jamur tempe, pendinginan, pengeringan dengan *cabinet dryer* pada suhu 50°C selama 24 jam, penggilingan dengan blender, dan pengayakan 60 mesh. Selanjutnya ditimbang tepung tempe kacang tunggak seberat 0,50 g dan ditambah dengan 25 ml metanol pada labu takar 100 ml bertutup dan divorteks, lalu ditimbang lagi dan diletakkan pada *ultrasonic bath* selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian sampel ditimbang lagi dan ditambah sampai berat sebelum ekstraksi dengan metanol, disaring dan diambil 1 ml untuk dilarutkan dalam metanol sampai 25 ml. Semua solven dan larutan sampel disaring dengan filter Milipore 0,45 µm sebelum digunakan.

Preparasi larutan standar dan kurva kalibrasi dilakukan dengan cara menimbang 50,0 ppm senyawa standar genistein, daidzin, genistin, dan daidzein kemudian dilarutkan dalam metanol sehingga diperoleh stok larutan standar dengan konsentrasi antara 1,25 ppm sampai dengan 4,70 ppm. Selanjutnya luas puncak diplotkan terhadap konsentrasi senyawa standar sehingga diperoleh grafik kalibrasi dan persamaan regresi linier. Kondisi separasi optimum dengan sistem kromatografi HPLC dilakukan dengan elusi gradien multi tahap pada kecepatan alir 1,2 ml/menit menggunakan solven *double-distilled water* (A) dan metanol (B) dengan perbandingan 60:40. Volume sampel yang diinjeksikan sebesar 20 µL, panjang gelombang detektor adalah 260 nm dan suhu kolom dipertahankan pada 25°C.

Pengujian aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode pemerangkapan radikal DPPH, bilangan TBA, dan bilangan peroksida. Aktivitas pemerangkapan (kemampuan mentransfer H/e) melawan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrasil hidrat (DPPH) diuji menurut metode Brand-Williams dkk. (1995) dengan sedikit modifikasi. Dengan adanya antioksidan, warna ungu DPPH pudar, perubahan absorbansi dapat diketahui secara spektrofometri. Larutan 6,5 x 10⁻⁵ mol/l DPPH dalam metanol disiapkan sehari sebelum pengukuran pada spektrofotometer. Dua ml larutan DPPH dicampur dengan 5 µl larutan ekstrak tepung tempe kacang tunggak dalam methanol (10 mg/ml) dalam mikro kuvet tebal 1 cm. Konsentrasi akhir ekstrak adalah 0,244 mg/ml. Absorbansi DPPH yang tersisa ditentukan setelah 16 menit pada panjang gelombang 515 nm. Sampel blank mengandung metanol dan DPPH dalam jumlah yang sama. Ulangan analisis dilakukan sebanyak 3 kali. Aktivitas pemerangkapan radikal dihitung dengan rumus $I = [(AB - AA)/AB] \times 100$; dimana I = penghambatan DPPH, %; AB = penyerapan sampel blank (t = 0 menit); AA = penyerapan sampel larutan tepung tempe kacang tunggak yang diuji pada akhir reaksi (t = 16 menit).

Aktivitas antioksidan dalam sistem asam linoleat diuji dengan bilangan TBA (*thio barbituric acid*) dan bilangan peroksida dilakukan menurut metode Osawa dan Namiki (1983) dengan sedikit perubahan dalam Singh dkk (2004) dilakukan dengan mencampur 4 mg sampel dalam 99,5% metanol dengan 2,5% asam linoleat dalam 99,5% etanol 4,1 ml, buffer fosfat 0,05M (pH 7; 8ml) dan 3,9 ml air distilasi. Campuran dibiarkan dalam kontainer *screw cap* di tempat gelap pada 40°C lalu diambil 0,1 ml larutan sampel ditambahkan ke dalam 9,7 ml 75% etanol dan 0,1 ml 30% ammonium tiosianat, biarkan selama 3 menit. Setelah 3 menit, 0,1 ml 0,02 M klorida ferrous dalam 3,5% asam hidroklorat ditambahkan ke dalam campuran reaksi dan absorbansi warna merah diukur pada 500 nm. Kontrol dan standar dibuat dengan prosedur yang sama, dengan kontrol tidak mengandung sampel, dan standar adalah 4 mg sampel diganti 4 mg BHT.

Penentuan angka peroksida dalam Singh dkk (2004) menggunakan uji oven yang dimodifikasi dengan BHT sebagai pembanding. Dua ratus ppm BHT ditambahkan ke dalam 30 g sampel dalam gelas beaker yang terbuka (*open mouthed beaker*). Campuran dihomogenkan dan ditempatkan dalam termostat 80°C dan diukur bilangan peroksidanya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik tempe kacang tunggak

Tempe kacang tunggak dengan variasi proses pengupasan kulit ari dan jenis inokulum mempunyai karakteristik yang spesifik (Tabel 1). Nampak bahwa perlakuan yang diberikan mempengaruhi karakteristik tempe kacang tunggak terutama pada warna, aroma, dan tekstur. Semua perlakuan menghasilkan warna putih kecoklatan dengan intensitas yang berbeda dan tidak dapat menghasilkan warna seputih tempe kedelai. Warna putih kecoklatan pada tempe kacang tunggak disebabkan karena masih adanya kulit ari kacang tunggak yang terikut selama pembuatan tempe karena masih menempel pada biji kacang tunggak. Pengupasan kulit ari kacang tunggak dengan cara giling basah dan kering ternyata belum optimal untuk menghilangkan kulit ari. Namun demikian pengupasan kulit ari dengan cara giling basah lebih efektif dalam menghilangkan kulit ari tersebut.

Tabel 1. Karakteristik tempe kacang tunggak dengan variasi pengupasan kulit ari dan jenis inokulum

Perlakuan	Karakteristik tempe kacang tunggak			
	Warna	Bentuk	Aroma	Tekstur
Giling basah, Raprima	Putih kecoklatan (+)	Persegi panjang	Asam seperti tape (+++)	Kompak (++)
Giling kering, Raprima	Putih kecoklatan (+)	Persegi panjang	Asam seperti tape (+)	Kompak (++)
Giling basah, usar daun	Putih kecoklatan (+)	Persegi panjang	Asam seperti tape (+)	Kompak (+++)
Giling kering, usar daun	Putih kecoklatan (++)	Persegi panjang	Asam seperti tape (+)	Kompak (++)

Keterangan: tanda (+) menunjukkan intensitas yang semakin tinggi

Tempe kacang tunggak mempunyai aroma asam seperti aroma tape dan sangat berbeda dengan aroma khas tempe kedelai. Fermentasi tempe kacang tunggak menghasilkan peningkatan suhu yang lebih hangat bila dibandingkan dengan fermentasi tempe kedelai sehingga diduga proses metabolisme jamur terjadi lebih cepat. Faktor inilah yang diduga turut berkontribusi terhadap aroma tempe kacang tunggak. Aroma asam seperti tape paling kuat dijumpai pada perlakuan giling basah dengan jamur RAPRIMA, sedangkan perlakuan lain menghasilkan aroma yang sama. Aroma seperti tape ini dapat diminimalkan bahkan dihilangkan dengan proses pengolahan.

Adanya kulit ari yang masih menempel pada biji kacang tunggak menyebabkan tekstur tempe tidak sekompak tempe kedelai karena kulit ari tersebut dapat menghalangi pertumbuhan miselia jamur tempe. Semakin banyak kulit ari yang masih menempel pada biji kacang tunggak akan menghasilkan tempe yang semakin tidak kompak. Tekstur yang paling kompak diperoleh dari perlakuan giling basah dengan usar daun. Tekstur tempe kacang tunggak menyerupai tempe koro, yaitu terasa berpasir. Kelebihan tempe kacang tunggak dibandingkan dengan tempe kedelai adalah mempunyai rasa yang lebih gurih sehingga dapat menutupi kekurangan sifat sensoris lainnya.

Profil isoflavon pada tempe kacang tunggak

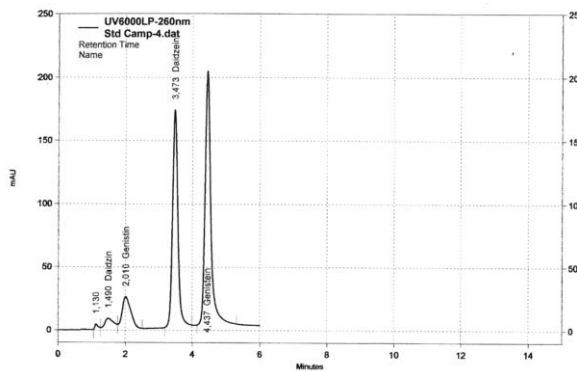
Variasi pengupasan kulit ari dan jenis inokulum sangat mempengaruhi profil isoflavon dan aglikonnya pada tempe kacang tunggak (Tabel 2). Tempe kacang tunggak mempunyai kadar daidzin 23,69-63,36 µg/g, genistin 16,00-42,82 µg/g, daidzein 65,87-109,77 µg/g, dan genistein 87,74-130,48 µg/g berat kering. Kadar isoflavon dan aglikonnya pada tempe kacang tunggak jauh lebih tinggi daripada tempe kedelai. Birt *et al.* (2001) menjelaskan bahwa ketersediaan isoflavon dipengaruhi oleh ikatan kimia pada bahan pangan dan kepekaan terhadap degradasi selama pemanasan sehingga diduga kandungan isoflavon pada biji kacang tunggak mempunyai ikatan kimia yang lebih peka terhadap proses pengolahan dibandingkan biji kacang kedelai. Ini menyebabkan ketersediaan isoflavon pada tempe kacang tunggak lebih tinggi daripada tempe kedelai.

Tabel 2. Profil isoflavon dan aglikonnya pada tempe kacang tunggak dengan variasi pengupasan kulit ari dan jenis inokulum

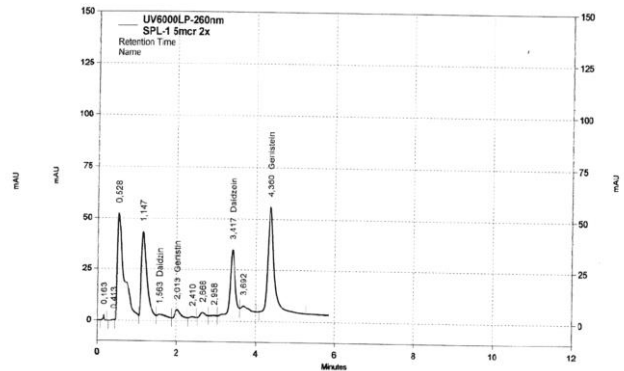
Sampel	Kadar isoflavon (µg/g berat kering)			
	Daidzin	Genistin	Daidzein	Genistein
Tempe kedelai	8,77	11,09	27,07	41,84
Tempe kacang tunggak giling basah dengan Raprima	43,53	22,49	65,87	87,74

Tempe kacang tunggak giling kering dengan Raprima	63,36	28,06	92,36	116,40
Tempe kacang tunggak giling basah dengan usar daun	23,69	16,00	109,77	130,48
Tempe kacang tunggak giling kering dengan usar daun	56,22	42,82	96,07	117,50

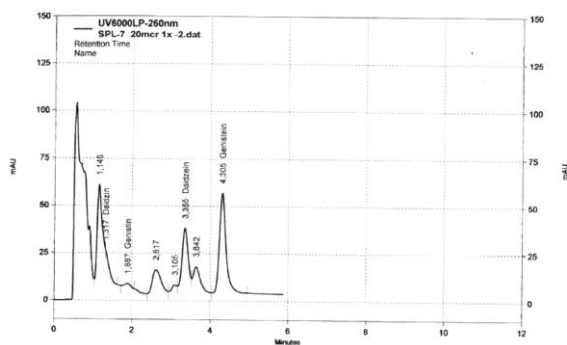
Kapang golongan *Rhizopus* sp sangat berperan penting dalam proses fermentasi tempe dan memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim β -glukosidase. Selama proses fermentasi kedelai dan kacang tunggak menjadi tempe, isoflavon glukosida dikonversi menjadi isoflavon aglikon oleh enzim β -glukosidase yang disekresikan oleh mikroorganisme (Wuryani, 1992). Enzim ini selain terdapat di dalam kedelai dan kacang-kacangan lain seperti kacang tunggak, juga diproduksi oleh mikroorganisme selama proses fermentasi berlangsung dan mampu memecah komponen glukosida menjadi aglikon dan gugus gula. Usar daun didominasi oleh jamur *Rhizopus oligosporus*, *R. oryzae*, *Mucor circinelloides*, *Absidia* sp, dan *Aspergillus* sp mempunyai kemampuan lebih tinggi dalam mendegradasi senyawa kompleks seperti karbohidrat, protein, lemak, dan mineral menjadi senyawa yang lebih sederhana dibandingkan dengan jamur RAPRIMA yang didominasi oleh *R. oligosporus* dan *R. stolonifer*. Kromatogram senyawa standar isoflavon, tempe kedelai, dan tempe kacang tunggak dengan variasi pengupasan kulit ari dan jenis inokulum disajikan pada Gambar 2.



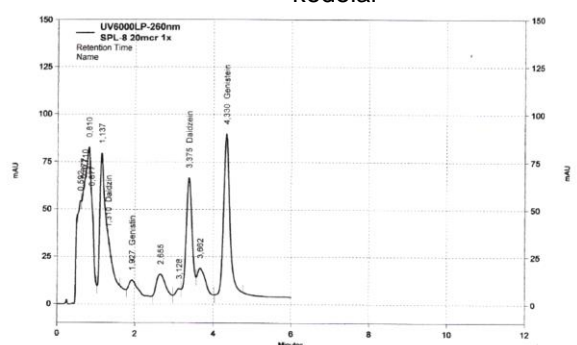
a. Kromatogram senyawa standar isoflavon



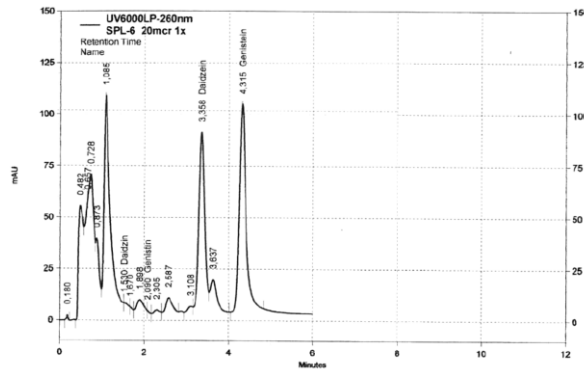
b. Kromatogram isoflavon pada tempe kedelai



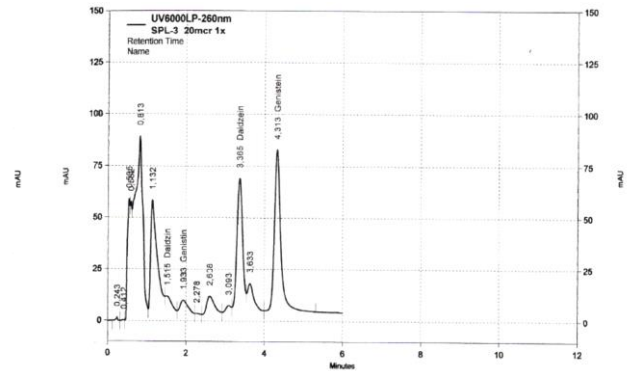
c. Kromatogram isoflavon pada tempe kacang tunggak giling basah dengan Raprima



d. Kromatogram isoflavon pada tempe kacang tunggak giling kering dengan Raprima



e. Kromatogram isoflavan pada tempe kacang tunggak giling basah dengan usar daun



f. Kromatogram isoflavan pada tempe kacang tunggak giling kering dengan usar daun

Gambar 2. Kromatogram profil isoflavan dan aglikonnya pada senyawa standar, tempe kedelai, dan tempe kacang tunggak dengan variasi pengupasan kulit ari dan jenis inokulum

Selama fermentasi tempe kacang tunggak diduga lebih banyak terdapat enzim β -glukosidase. Kehadiran enzim β -glukosidase berhubungan dengan produksi daidzein dan genistein yang meningkat selama proses perendaman biji kacang tunggak. Semakin banyak enzim β -glukosidase yang dihasilkan oleh jamur tempe, maka kadar daidzein dan genistein juga semakin banyak. Hidrolisis isoflavan glukosida menjadi isoflavan aglikon dapat diinhibisi oleh glukono δ -laktone yang merupakan inhibitor kompetitif bagi enzim β -glukosidase (Matsura dan Obata, 1993).

Selama pembuatan tepung tempe baik dari tempe kacang kedelai maupun tempe kacang tunggak melibatkan berbagai perlakuan termal seperti proses penggilingan, perendaman, perebusan, pengukusan, pengeringan, dan *defatting*. Shao *et al.* (2009) menjelaskan bahwa proses pengolahan dan varietas dapat mempengaruhi profil dan kadar isoflavan. Dengan demikian diduga berbagai proses selama pembuatan tepung tempe dapat mempengaruhi profil dan kadar isoflavan dan aglikonnya.

Proses fermentasi tempe dan pembuatan tepung tempe dapat menyebabkan senyawa isoflavan mengalami transformasi, terutama melalui proses hidrolisis sehingga dapat diperoleh senyawa isoflavan bebas yang disebut aglikon, yaitu daidzein dan genistein yang lebih tinggi aktivitasnya. Peningkatan kadar isoflavan aglikon ini diduga karena proses pemanasan, penghilangan kulit ari, *defatting*, dan fermentasi secara bersama-sama. Shao *et al.* (2009) juga melaporkan peningkatan kadar isoflavan aglikon pada pembuatan tepung kedelai yang disebabkan oleh proses penghilangan kulit dan *defatting*. Transformasi senyawa isoflavan selama fermentasi tempe dan pembuatan tepung tempe menghasilkan peningkatan kandungan senyawa isoflavan aglikon secara tajam. Transformasi senyawa isoflavan melibatkan enzim β -glukosidase yang secara alami terdapat pada kacang-kacangan maupun hasil sekresi dari jamur tempe. Proses transformasi ini menyebabkan perubahan struktur kimia dan gugus fungsional sehingga dapat mempengaruhi aktivitas biologis misalnya aktivitas antioksidan. Kandungan senyawa isoflavan aglikon ini dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan tempe kacang tunggak.

Kadar isoflavan aglikon tertinggi ditemukan pada tempe kacang lokal dengan proses giling basah menggunakan usar daun. Ini mengindikasikan bahwa selama proses perendaman biji kacang tunggak dan proses giling basah dihasilkan enzim β -glukosidase yang lebih banyak sehingga kemampuan memecah komponen glukosida menjadi aglikon dan gugus gula jauh lebih tinggi dibandingkan dengan proses giling kering. Di samping itu jamur pada usar daun, khususnya *Rhizopus sp.*, kemungkinan juga menghasilkan enzim β -glukosidase yang lebih banyak dibandingkan dengan jamur RAPRIMA.

Penelitian Nakajima *et al.* (2005) melaporkan bahwa kandungan isoflavan dari tempe kedelai kuning sebesar 102,7 mg/100 g dan pada tempe kedelai hitam sebesar 103,2 mg/100 g. Selanjutnya Nakajima *et al.* (2005) membuat tempe kaya isoflavan dari kombinasi kecambah dan kotiledon kedelai kuning tanpa lemak (*defatted-yellow soybean germ* dan *defatted-yellow soybean cotyledon*) dengan perbandingan 20:80 (%) dan ternyata kandungan isoflavan meningkat tiga kali lipat daripada tempe konvensional, yaitu menjadi 276,7 mg/100 g, sedangkan tempe dari kecambah kedelai kuning tanpa lemak (*defatted-yellow soybean germ*) mengandung 877,1 mg total isoflavan tiap 100 g tempe. Sementara itu penelitian Priatni dan Budiwati (2002) melaporkan bahwa kandungan senyawa

isoflavon aglikon pada tempe koro benguk tertinggi sebesar 700,8 ug daidzein dan 702,9 ug genistein dalam 100 g tepung tempe bebas lemak.

Kadar senyawa isoflavon aglikon tertinggi terdapat pada tempe kacang tunggak dengan proses giling basah menggunakan jamur usar daun. Bila dibandingkan dengan jenis tempe yang lain, maka dapat diketahui bahwa tempe kacang tunggak mengandung isoflavon yang lebih tinggi daripada tempe kedelai dan tempe koro benguk. Dengan demikian tempe kacang tunggak mempunyai potensi sebagai sumber isoflavon selain tempe kedelai.

Aktivitas antioksidan pada tempe kacang tunggak

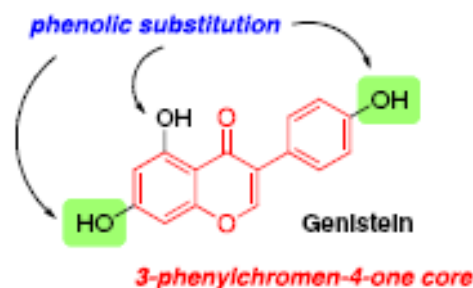
Aktivitas antioksidan pada tempe kacang tunggak dianalisis dengan penentuan bilangan peroksida, TBA dan DPPH (Tabel 3). Nampak bahwa angka TBA pada tempe kacang tunggak berkisar 37,42-64,12 mg malonaldehid/kg, bilangan peroksida berkisar 6,44-10,59 meq peroksida/kg, dan pemerangkapan radikal DPPH berkisar 42,94-49,46%. Aktivitas antioksidan tempe kacang tunggak yang terbaik ditemukan pada perlakuan giling basah dengan usar daun. Hal ini didukung oleh kadar isoflavon aglikon (daidzein dan genistein) yang lebih tinggi daripada perlakuan lain.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan pada tempe kacang tunggak

Perlakuan	Aktivitas antioksidan		
	TBA (mg malonaldehid/kg)	Bilangan peroksida (meq/kg)	DPPH (%)
Giling basah, Raprima	64,12	9,47	42,94
Giling kering, Raprima	42,55	10,59	45,62
Giling basah, usar daun	37,42	7,66	44,20
Giling kering, usar daun	44,52	6,44	49,46

Aktivitas antioksidan senyawa isoflavon ditentukan oleh bentuk struktur bebas (aglikon) dari senyawa (Murakami, 1984). Selanjutnya, Hudson dalam Achmad (1990) menyatakan bahwa aktivitas tersebut ditentukan oleh gugus -OH ganda, terutama dengan gugus C=O pada posisi C-3, dengan gugus -OH pada posisi C-2 atau pada posisi C-5. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Wu (2003) yang melaporkan bahwa genistein mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada daidzein karena adanya struktur B-ring. Daidzein lebih bersifat lipofilik daripada genistein sehingga lebih mudah berasosiasi dengan kolesterol dan lebih efektif sebagai antioksidan daripada genistein. Namun genistein lebih bersifat sitotoksik daripada daidzein sehingga lebih efektif sebagai antikanker.

Genistein atau 4',5,7-trihydroxyisoflavone merupakan salah satu isoflavon aglikon dengan ukuran molekul kecil yang berperan sebagai antioksidan dan antikanker. Struktur kimia genistein dicirikan dengan satu inti 3-phenylchromen-4-one dan substitusi phenolik pada posisi C4', C5 dan C7. Gugus phenol pada posisi C4' dan C7 dari genistein sangat mirip dengan posisi gugus hidroksil kunci pada estradiol sehingga genistein mudah berikatan dengan reseptor estrogen. Struktur kimia genistein dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia genistein (Pavese *et al.*, 2010)

Struktur kimia genistein tersebut mempengaruhi sifat-sifat genistein, antara lain genistein dikenal sebagai antioksidan karena mengandung beberapa gugus hidroksil yang terikat pada inti cincin phenyl; inhibitor protein-tyrosine kinase karena gugus phenolik pada C4' yang menyerupai moiety tyrosin sebagai phosphoacceptor; bertindak sebagai estrogen lemah sehingga termasuk phytoestrogen karena gugus phenolik pada posisi C7 dan C4' yang memudahkan genistein berikatan dengan reseptor estrogen baik dalam isoform α maupun β sehingga genistein dapat memperbaiki

massa tulang dan mengurangi gejala menopause seperti hot flashes dan vaginitis (Pavese *et al.*, 2010).

KESIMPULAN

Tempe kacang tunggak dengan variasi proses pengupasan kulit ari dan jenis inokulum mempunyai kadar daidzin 23,69-63,36 µg/g, genistin 16,00-42,82 µg/g, daidzein 65,87-109,77 µg/g, dan genistein 87,74-130,48 µg/g. Aktivitas antioksidan yang ditunjukkan dengan angka TBA pada tempe kacang tunggak berkisar 37,42-64,12 mg malonaldehid/kg, bilangan peroksida berkisar 6,44-10,59 mEq peroksida/kg, dan pemerangkapan radikal DPPH berkisar 42,94-49,46%. Kadar isoflavon aglikon dan aktivitas antioksidan yang terbaik ditemukan pada tempe kacang tunggak dengan perlakuan giling basah menggunakan usar daun. Hasil ini mengindikasikan bahwa tempe kacang tunggak berpotensi sebagai sumber isoflavon aglikon dan bersifat antioksidan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat, Direktorat Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan bantuan dana Penelitian Hibah Bersaing sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian Nomor: 136/H34.21/PL-HB/2009 tanggal 6 April 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Birt, D.F., S. Hendrich and W.Q. Wang. 2001. Dietary agents in cancer prevention: Flavonoids and isoflavonoids, *Pharmacology and Therapeutics* **90**, pp. 157–177.
- Genovese, M.I., N.M.A. Hassimotto, dan F.M. Lajolo. 2005. Isoflavone Profile and Antioxidant Activity of Brazilian Soybean Varieties. *Food Science and Technology International*, Vol 11 (3) : 205-211.
- Han, Guang Ming, Zhang Yan-yan, Wang Yong-zhong. 2007. Simultaneous Determination Four Isoflavones in Soybean Extraction. *Journal of US-China Medical Science* Vol 4, No.7. p 53-60.
- Lee, S.J., J.K. Ahn, S.H. Kim, J.T. Kim, S.J. Han, M.Y. Jung, dan I.M. Chung. 2003. Variation in isoflavone of soybean cultivars with location and storage duration. *J. Agric. Food Chem*, 51(11), pp 3382-3389.
- Matsura, M and Obata, A .1993. β-Glucosidase from soybeans Hydrolyse Daidzin and Genistin. *Journal of Food Science*, 38, 105-111
- Nakajima, N., N. Nozaki, K. Ishihara, A. Ishikawa, dan H. Tsuji. 2005. Analysis of isoflavone content in tempeh, a fermented soybean, and preparation of a new isoflavone-enriched tempeh. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 100, No. 6, pp 685-687.
- Nani Ratnaningsih. 2007. Pembuatan Tempe Kacang Tolo sebagai Alternatif Sumber Protein Nabati. *Prosiding Diseminasi Hasil Penelitian Dosen Muda dan Kajian Wanita Dikti. Lemlit UNY.*
- Pavese, Janet M., Rebecca L. Farmer dan Raymond C. Bergan. 2010. Inhibition of cancer cell invasion and metastasis by genistein. *Cancer Metastasis Rev* (2010) 29:465–482. DOI 10.1007/s10555-010-9238-z
- Priatni dan Budiwati. 2002. Pengaruh Inokulum terhadap kandungan Senyawa Isoflavon Tempe Koro Benguk (*Mucuna pruriens*). *Semiloka Hasil Penelitian Makanan Tradisional*. Diakses dari www.lipi.go.id.

Shao , S., Alison M. Duncan, Raymond Yang, Massimo F. Marcone, Istvan Rajcan and Rong Tsao. 2009. Tracking isoflavones: From soybean to soy flour, soy protein isolates to functional soy bread. *Journal of Functional Foods*. Volume 1, Issue 1, January 2009, Pages 119-127

USDA-Iowa State University Database on the Isoflavone, Rel. 1.3 - 2002

Villares, A., Mauricio A. Rostagno, Ana García-Lafuente, Eva Guillamón , dan J. Alfredo Martínez. 2011. Content and Profile of Isoflavones in Soy-Based Foods as a Function of the Production Process. *Food Bioprocess Technol* (2011) 4:27–38. DOI: 10.1007/s11947-009-0311-y.

Wu, Q. 2003. Purification and antioxidant activities of soybean isoflavones. Thesis Magister of Science. Louisiana State University and Agricultural dan Mechanical College.

Wuryani, W. 1992. A Study of Isoflavones in Soybeans and Tempe, A Thesis Submitted for The Degree of PhD. Departement of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Food, University of Reading UK.