

# PERTUMBUHAN JAMUR, SIFAT ORGANOLEPTIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEMPE KEDELAI HITAM YANG DIPRODUKSI DENGAN BERBAGAI JENIS INOKULUM

The Mold Growth, Organoleptic Properties and Antioxidant Activities of Black Soybean Tempe Fermented by Different Inoculums

Nurrahman<sup>1</sup>, Mary Astuti<sup>2</sup>, Suparmo<sup>2</sup>, Marsetyawan HNE Soesatyo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang, Jl. Kedung Mundu Raya no. 18 Semarang;

<sup>2</sup>Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gajah Mada, Jl. Flora, Bulaksumur, Yogyakarta; <sup>3</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada, Jl. Sekip Utara, Yogyakarta.

Email: nurrahmanmail@yahoo.com

## ABSTRAK

Kualitas tempe dipengaruhi oleh bahan baku, proses pengolahan dan jenis inokulum yang digunakan. Kedelai hitam dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan tempe yang mempunyai kualitas seperti halnya tempe yang terbuat dari kedelai kuning. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis inokulum dan lama inkubasi terhadap pertumbuhan jamur, sifat organoleptik dan aktivitas antioksidan tempe kedelai hitam. Penelitian ini menggunakan kedelai hitam varietas mallika sebagai bahan baku pembuatan tempe. Kedelai hitam yang telah dibuang kulitnya, direndam dan dikukus kemudian dicampur dengan inokulum yang berasal dari biakan murni *Rhizopus stolonifer*, *R. oligosporus* dan *R. oryzae*. Setelah itu diinkubasi selama 24, 30, 36 dan 42 jam pada suhu 25-27 °C. Parameter yang diamati adalah pertumbuhan jamur, sifat organoleptik dan aktivitas antioksidan tempe kedelai hitam. Hasil penelitian menunjukkan perlakuan jenis inokulum dan lama inkubasi berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur, sifat organoleptik dan aktivitas antioksidan. Pertumbuhan jamur meningkat sampai lama inkubasi 36 jam, kemudian turun. Panelis memberikan nilai tertinggi pada tempe yang diinkubasi selama 36 jam. Ada kecenderungan lama inkubasi tempe meningkat aktivitas antioksidannya. Kesimpulan dari penelitian ini *Rhizopus stolonifer* mempunyai karakteristik relatif lebih tinggi pertumbuhan jamur, sifat organoleptik dan aktivitas antioksidan dibandingkan jenis jamur yang lain pada lama inkubasi 30 jam.

**Kata kunci:** Tempe, kedelai hitam, *Rhizopus*

## ABSTRACT

The quality of tempe is influenced by raw materials, processing and type of inoculum used. Black soybeans can be used as raw material for making tempe that has quality like tempe made from yellow soybeans. This study aims to determine the effect of inoculum type and duration of incubation on the mold growth, organoleptic properties and antioxidant activity of black soybean tempe. This study uses mallika black soybean varieties as raw material for making tempe. Black soybeans that have been discarded skin, soaked and steamed, then mixed with inoculum derived from pure cultures of *Rhizopus stolonifer*, *R. oligosporus* and *R. oryzae*. After it was incubated for 24, 30, 36 and 42 hours at a temperature 25-27 °C. The parameters were used mold growth, organoleptic properties and antioxidant activity of black soybean tempe. Results showed the treatment inoculum type and duration of incubation, effect on mold growth, organoleptic properties and antioxidant activity. Mold growth increased up to 36-hour long incubation, then decreased. Panelists gave the highest value in tempe that were incubated for 36 hours. There are a tendency long incubation tempe increased antioxidant activity. The conclusion of this research has the characteristics of *Rhizopus stolonifer* relatively highest mold growth, organoleptic properties and antioxidant activity that compared to other types of mold at the old 30-hour incubation.

**Keywords:** Tempe, black soybean, *Rhizopus sp*

## PENDAHULUAN

Tempe merupakan salah satu makanan tradisional Indonesia yang sudah dikenal secara global. Beberapa negara seperti Amerika, Jepang dan Mesir telah memproduksi dan mengkonsumsi tempe sebagai bahan makanan. Tempe terbuat dari berbagai varietas dan warna kacang kedelai yang mengalami fermentasi oleh jamur. Makanan ini banyak diminati oleh masyarakat sebagai lauk-pauk atau camilan. Rasanya khas dan lezat, dan menjadi sumber protein dalam makanan harian.

Proses produksi tempe di masyarakat, menurut Astuti (1996) ada 7 cara pembuatan tempe. Ada yang paling sederhana 8 tahap sampai yang paling panjang terdiri dari 12 tahap. Namun prinsip utama dalam pembuatan tempe adalah adanya perebusan, pengupasan, perendaman dan fermentasi. Ada yang menggunakan satu kali perendaman dan perebusan, ada pula perebusan dan perendaman dilakukan sebanyak dua kali. Tentu ini berkaitan dengan masalah kemudahan produksi dan biaya produksi.

Proses fermentasi yang terjadi dua kali pada pembuatan tempe. Proses fermentasi awal terjadi pada saat perendaman kedelai dalam air. Pada proses ini tumbuh bakteri pembentuk asam-asam organik seperti asam laktat dan asam asetat, antara lain bakteri dari kelompok *Enterobacillus*, sehingga terjadi pengasaman hingga pH mencapai 4,5-5,3. Kondisi ini memungkinkan terjadinya proses fermentasi utama yang dilakukan oleh jamur *Rhizopus* sp., terutama oleh jamur *Rhizopus oligosporus* (Pawiroharsono, 1996).

Bentuk dari tempe berupa padatan yang tersusun oleh kacang kedelai yang dibungkus oleh miselia berwarna putih yang merupakan hifa dari jamur spesies *Rhizopus*. Aktivitas fisiologis jamur pada proses fermentasi tempe dimulai sejak diinokulasikannya inokulum pada kedelai yang telah siap difermentasi. Spora jamur tersebut mulai tumbuh dengan membentuk benang-benang hifa yang tumbuh makin memanjang, membalut dan menembus biji kotiledon kedelai. Benang-benang tersebut semakin padat, membentuk tempe yang kompak, putih dan dengan aroma khas tempe. Jamur berperan penting dengan menghasilkan enzim-enzim yang menghidrolisis komponen kedelai dan berkontribusi membentuk tekstur, aroma dan flavor yang dikehendaki.

Pada fermentasi tradisional, inokulumnya berasal dari kultur jamak dan terdapat mikroorganisme yang berasal dari lingkungan proses pembuatan tempe yang tidak aseptis. Dengan kata lain, selain terdapat *Rhizopus oligosporus* masih terdapat pula sejumlah mikroorganisme kontaminan yang jenisnya bervariasi. Menurut Pawiroharsono (1996), mikroorganisme yang berperan penting dalam proses pembuatan tempe berasal dari jamur genera *Rhizopus* sp. Mikroorganisme ini memiliki koloni heterothalik, tumbuh

cepat ditandai dengan bangunan khas seperti stolon (hifa penghubung diantara kelompok sporangiophora), rhizoid (bangunan mirip akar yang tumbuh ke dalam substrat), dan sporangifora (bangunan khusus yang pada ujungnya terdapat sporangium) yang tumbuh ke atas dengan posisi berlawanan dengan rhizoid. Jumlah spora yang terbentuk sangat banyak dengan ukuran relatif besar, berbentuk oval bersudut, tidak beraturan dan sering berkerat-kerat (striated).

Ada tiga spesies *Rhizopus* yang berperan penting dalam fermentasi pembuatan tempe, yakni *R. oligosporus*, *R. oryzae* dan *R. stolonifer*. Ketiga-tiganya punya potensi untuk memfermentasi kedelai menjadi tempe, walaupun kecepatannya berbeda-beda. *R. oligosporus* memfermentasi lebih cepat dibanding *R. oryzae* dan *R. stolonifer*, sedangkan *R. oryzae* lebih cepat dibanding *R. stolonifer* (Pawiroharsono, 1996). Menurut Siregar dan Pawiroharsono (1997) penggunaan inokulum yang berbeda menghasilkan total isoflavon berbeda. Penggunaan inokulum dengan campuran *R. oligosporus* dan *R. oryzae* dengan nisbah 30:70 mendapatkan total isoflavon lebih tinggi dibanding nisbah yang lain.

Beberapa senyawa aktif di dalam tempe mempunyai sifat sebagai antioksidan (Hubert dkk., 2008). Senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan antara lain asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat, asma linoleat dan asam linolenat. Di dalam tempe terdapat vitamin larut lemak seperti vitamin E dan  $\beta$ -karoten (provitamin A) yang telah diketahui mempunyai aktivitas antioksidan. Di dalam tempe juga terdapat isoflavon seperti genestein, daidzein, glycitein dan Faktor-2, isoflavon merupakan komponen fenolik yang mempunyai sifat antioksidan. Jumlah asam lemak tidak jenuh, vitamin dan isoflavon pada tempe ini tentu akan berkaitan dengan aktivitas antioksidan dari tempe tersebut (Pawiroharsono, 1997).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan jenis inokulum pada proses pembuatan tempe kedelai hitam terhadap pertumbuhan dari jamur yang digunakan untuk inokulum selama inkubasi, sifat organoleptik dan aktivitas antioksidannya.

## METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini akan dilihat pengaruh jenis inokulum dan lama inkubasi terhadap total jamur, pH, sifat organoleptik dan aktivitas antioksidan pada tempe kedelai hitam. Bahan yang digunakan adalah kedelai hitam varietas mallika dan inokulum tempe. Tiga jenis inokulum tempe yang digunakan berasal dari jamur *Rhizopus oligosporus* FNCC6010, *Rhizopus oryzae* DUCC205 dan *Rhizopus stolonifer* DUCC204. Sedangkan lama inkubasi yang dilakukan pada pembuatan tempe adalah 24, 30, 36 dan 42 jam dengan

suhu 25-27 °C. Analisa yang dilakukan terhadap tempe yang dihasilkan adalah total jamur, sifat organoleptik dan aktivitas antioksidan. Untuk parameter pH dilakukan inkubasi selama 1, 2, 3 dan 4 hari.

### Pembuatan Inokulum

Inokulum tempe dalam bentuk tepung dibuat dengan bahan baku beras dan mikroorganisme yang digunakan adalah *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus stolonifer*. Sebanyak 30 gram beras dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan air destilata 30 ml, lalu disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian diinokulasikan 1 ml cairan jamur dari isolat murni yang telah diketahui jenis mikroorganismenya (dari isolat murni yang diencerkan dengan larutan fisiologis sampai  $10^{-6}$ ), lalu dimasukkan dalam wadah aluminium (ditutup dengan aluminium foil dan diberi lubang ukura diameter 1 mm pada seluruh permukaan wadah, jarak antara lubang 1 cm) dan diperam selama 3 hari pada suhu 25-27 °C. Nasi yang penuh jamur dan sporanya berwarna abu-abu sampai hitam dikeringkan dengan oven 40 °C. Setelah itu digiling atau ditumbuk sehingga menjadi tepung ragi tempe.

### Pembuatan Tempe

Kedelai kering dibersihkan untuk membuang benda-benda asing yang bercampur dengan biji kedelai. Kedelai dicuci dengan air hingga bersih. Kemudian direbus dengan air sampai mendidih selama 30 menit. Selanjutnya kedelai dikuliti lalu direndam selama 36 jam. Setelah itu kedelai ditiriskan hingga tuntas, kemudian dikukus selama 1 jam. Kedelai diinokulasi dengan ragi tempe (inokulum 2 gram/kg kedelai). Pemeraman (inkubasi) pada suhu sekitar 25-27 °C selama 24, 30, 36 dan 42 jam. Sedangkan untuk analisa pH inkubasi yang dilakukan selama 1, 2, 3 dan 4.

### Analisa Total Jamur

Sampel ditimbang sebanyak 0,1 gram tempe dalam bentuk tepung kering dimasukkan kedalam tabung reaksi steril yang berisi 9,9 ml larutan NaCl 0,85 persen steril, kemudian dikocok (pengenceran  $10^{-2}$ ). Larutan sampel, kemudian diencerkan lebih lanjut sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  dan  $10^{-8}$ . Metode yang digunakan pada uji total jamur adalah metode hitung cawan dengan cara tuang (*pourplate*) dengan diambil sebanyak 1 ml larutan sampel dari pengencer  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  dan  $10^{-8}$  ke dalam cawan petri. Cawan petri yang telah terisi dengan larutan sampel, kemudian ditambahkan 15–20 ml larutan media APDA (Acidified Potato Dextrose Agar) dengan suhu 50 °C. Setelah agar memadat cawan petri diinkubasi di dalam inkubator dengan posisi terbalik, inkubasi selama 24 jam pada temperatur kurang lebih 27 °C.

### Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik terhadap tempe dengan menggunakan metode skoring yang dilakukan oleh 15 panelis agak terlatih. Kriteria penilaian meliputi warna, aroma dan penampakan tempe menggunakan formulir uji skoring. Tempe yang akan diuji, disiapkan sesuai perlakuan pengolahan dan diberi kode. Panelis memberikan tanggapan terhadap tempe dengan mengisi formulir yang disediakan dengan memilih angka: 1 = sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = agak suka, 4 = suka dan 5 = sangat suka.

### Pengukuran Aktivitas Antioksidan (metode DPPH (1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (Xu dan Chang (2007))

Tempe yang akan diekstrak antioksidannya dipotong tipis dan dikeringkan dengan alat pengering pada suhu 40-45 °C selama 24 jam. Tempe yang telah kering ditumbuk hingga halus (60 mesh). Dimasukkan 0,5 gram bubuk tempe ke dalam tabung sentrifus yang berisi pelarut etanol/air (70:30, v/v). Campuran tersebut dikocok pada 150 rpm selama 3 jam, kemudian didiamkan selama 12 jam dalam keadaan gelap. Setelah itu disentrifus 3000 rpm selama 10 menit, supernatan yang diperoleh dipindahkan ke dalam tabung baru. Residu diekstrak lagi dengan menambahkan 5 ml pelarut, kedua ekstrak dicampur dan disimpan dalam keadaan gelap pada suhu 4 °C.

Ekstrak antioksidan dari bubuk tempe sebanyak 0,2 ml dimasukkan ke dalam tabung dan ditambahkan 3,8 ml larutan DPPH. Campuran dikocok selama 1 menit dengan vortex, kemudian didiamkan pada suhu kamar dan gelap selama 30 menit. Setelah itu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai kontrol digunakan etanol 70 % dan diperlakukan seperti sampel.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

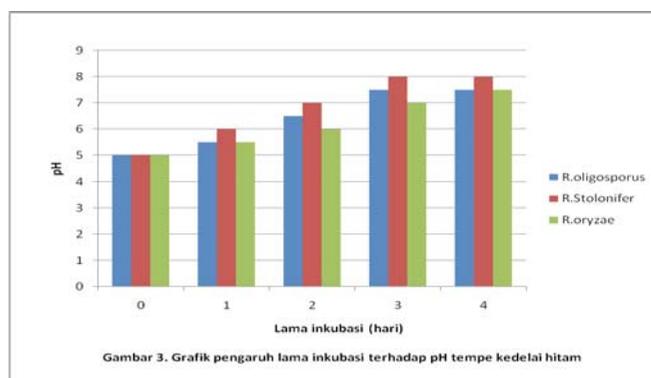
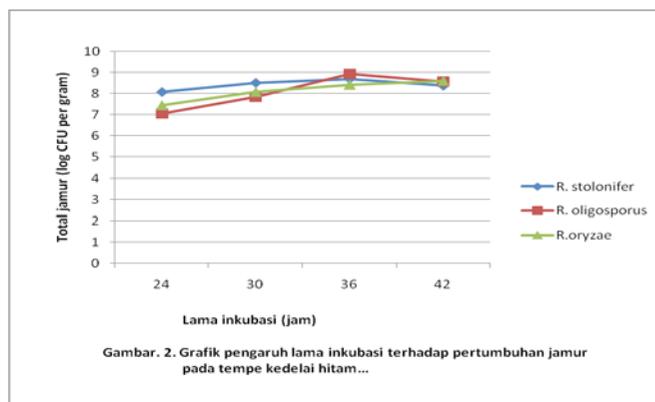
### Total Jamur Tempe

Analisa total jamur pada tempe kedelai hitam dilakukan terlebih dahulu tempe dijadikan tepung tempe dengan cara dipotong tipis dan dikeringkan pada suhu 40-45 °C selama 24 jam, kemudian dihancurkan hingga halus (60 mesh). Analisa ini dilakukan untuk mengetahui sejauh mana pertumbuhan ketiga jenis jamur selama inkubasi pada suhu 25-27 °C. Gambar 2 menunjukkan pertumbuhan tiga jenis jamur tempe selama inkubasi 42 jam. *Rhizopus stolonifer* tumbuh lebih cepat pada lama inkubasi 24 dan 30 jam dibanding *R. oligosporus* dan *R. oryzae*. Lama inkubasi 36 jam *R. oligosporus* tumbuh dengan cepat dibandingkan jamur yang lain. Dari grafik tersebut dapat dilihat bahwa ketiga jenis jamur mengalami pertumbuhan

selama proses fermentasi sampai lama inkubasi 36 jam. Pada lama inkubasi 42 jam *R. stolonifer* dan *R. oligosporus* mengalami penurunan pertumbuhan. Sedangkan *R. oryzae* memiliki kecenderungan tumbuh terus sampai lama inkubasi 42 jam, meskipun pertumbuhannya tidak sebesar jamur yang lain.

Hasil analisa statistik ANOVA faktorial ( $p < 0,05$ ) didapatkan bahwa interaksi jenis inokulum dan lama inkubasi berbeda secara signifikan. Ini artinya bahwa perlakuan interaksi jenis inokulum dan lama inkubasi terhadap tempe kedelai hitam berpengaruh nyata terhadap total jamur. Berdasarkan uji Tukey, total jamur pada semua jenis inokulum dari lama inkubasi 24 dan 36 jam naik secara nyata. Pada inokulum *Rhizopus oligosporus* kenaikan total jamur secara nyata pada lama inkubasi 36 jam dibandingkan semua perlakuan. Baik pada *R. stolonifer* dan *R. oligosporus* menurun total jamur secara tajam pada lama inkubasi 42 jam. Sedangkan tempe yang difermentasi dengan inokulum *Rhizopus oryzae*, terlihat juga terjadi kenaikan total jamur secara nyata pada lama inkubasi 36 dan 42 jam. Dan terlihat *R. oryzae* masih ada kecenderungan meningkat terus bila proses inkubasi dilanjutkan.

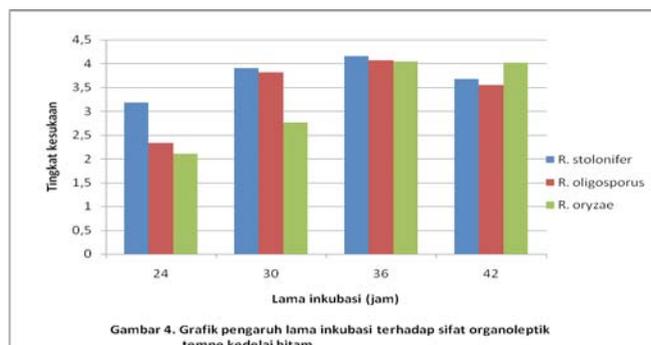
Kurva pertumbuhan jamur pada lama inkubasi 42 jam pada ketiga jenis jamur memberikan gambaran bahwa jamur yang tumbuh cepat mengalami penurunan lebih cepat, sedangkan yang pertumbuhan lambat belum mengalami penurunan pertumbuhan. Hal ini mungkin disebabkan nutrisi pada kedelai mulai berkurang untuk dapat dimanfaatkan oleh pertumbuhan jamur atau terbentuknya berbagai komponen-komponen metabolit hasil fermentasi yang menghambat pertumbuhan jamur. Di mana semakin lama difermentasi pH tempe semakin meningkat, dengan peningkatan pH menghambat pertumbuhan jamur (jamur tumbuh pada pH antara 3,5 sampai 6) (Pangastuti dan Triwibowo, 1996). Dengan pH lebih dari 6 pertumbuhan jamur semakin terhambat. Dari Gambar 2 dan 3 dapat dilihat pertumbuhan *R. stolonifer* dan *R. oligosporus* mulai terhambat pertumbuhannya pada hari ke-2.



Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kiers *dkk.* (1997) ada korelasi antara pertumbuhan jamur dengan peningkatan nilai pH. Peningkatan pH selama fermentasi terjadi karena adanya degradasi protein menjadi asam amino, selama proses fermentasi jumlah asam amino bebas meningkat. Fermentasi lebih lanjut akan terbentuk gas amoniak yang mana tempe berbau busuk. Pada penelitian ini munculnya bau busuk tercium pada pH 7,5. Hari ke-3 tempe kedelai hitam yang jenis inokulumnya *R. stolonifer* dan *R. oligosporus* mulai tercium bau busuk, sedangkan yang *R. oryzae* mulai tercium bau busuk pada hari ke-4.

### Sifat Organoleptik Tempe

Pengujian sifat organoleptik pada tempe kedelai hitam melalui pengujian oleh 15 panelis agak terlatih. Sifat sensorik dari tempe kedelai hitam meliputi warna, aroma dan kekompakan. Gambar 4 merupakan grafik yang memperlihatkan pengaruh lama inkubasi pada tempe kedelai hitam yang difermentasi oleh tiga jenis jamur. Selama inkubasi ada kecenderungan terjadi peningkatan sifat organoleptik. Pada lama inkubasi 24 jam panelis memberikan tanggapan agak suka untuk tempe yang menggunakan jenis inokulum *R. stolonifer*, sedangkan pada *R. oligosporus* dan *R. oryzae* tanggapannya tidak suka. Seiring dengan lamanya fermentasi dan juga pertumbuhan jamur, panelis memberikan tanggapan meningkat, yakni suka. Namun pada lama inkubasi 42 jam, tanggapan panelis mulai turun.



Hasil analisa statistik Kruskal Wallis ( $p < 0,05$ ) didapatkan bahwa interaksi jenis inokulum dan lama inkubasi berbeda secara signifikan. Ini artinya bahwa perlakuan interaksi jenis inokulum dan lama inkubasi terhadap tempe kedelai hitam berpengaruh nyata terhadap sifat organoleptik tempe kedelai hitam. Berdasarkan uji Tukey, sifat organoleptik tempe kedelai hitam yang menggunakan inokulum *R. stolonifer* berbeda dengan *R. oligosporus* dan *R. oryzae* pada lama inkubasi 24 jam. Hal ini berkaitan dengan pertumbuhan *R. stolonifer* yang lebih cepat dibandingkan dengan yang lain, sehingga tempe kompak dan tampak sudah jadi. Sedangkan pada jenis inokulum yang lain belum kompak dan tampak seperti tempe. Pada lama inkubasi 30 jam dan 36 jam sifat organoleptiknya meningkat secara nyata ketiga jenis inokulum tersebut, dan pada lama inkubasi 42 jam sedikit mengalami penurunan secara tidak nyata. Tempe yang menggunakan ketiga inokulum tersebut tidak berbeda nyata pada jam ke-42.

Berdasarkan analisa statistik dengan Korelasi Pearson, sifat organoleptik dari tempe berkorelasi positif dengan pertumbuhan jamur pada tempe yang difermentasi dengan *R. stolonifer* dan *R. oryzae* ( $r = 0,999$  dan  $0,955$ ). Semakin tinggi pertumbuhan jamur semakin tinggi pula sifat organoleptiknya. Sedangkan tempe yang difermentasi dengan *R. oligosporus* korelasinya rendah ( $r = 0,672$ ).

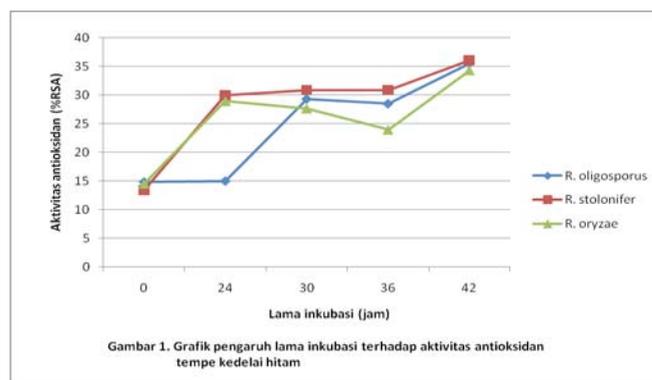
Sifat organoleptik dari tempe berkaitan dengan bahan baku yang digunakan, proses yang dilakukan, pertumbuhan jamur dan lama inkubasi. Proses perendaman kedelai menyebabkan terjadinya fermentasi oleh bakteri menimbulkan rasa dan aroma asam karena terbentuknya asam laktat. Pada fermentasi oleh jamur terdegradasi senyawa organik seperti karbohidrat, lemak dan protein, sehingga terbentuk citarasa khas tempe dan inkubasi semakin lama menghasilkan aroma busuk. Di samping itu, fermentasi jamur terbentuk benang-benang putih yang mengikat kedelai, sehingga terbentuk tekstur padat dan menyatu. Semakin lama inkubasi warna putih pada hifa jamur berubah menjadi hitam karena mulai terbentuk sporangiospora.

### Aktivitas Antioksidan Tempe

Hasil analisa aktivitas antioksidan dengan metode DPPH terhadap kedelai hitam yang ditambah inokulum, tetapi belum mengalami proses fermentasi, rata-rata 14,26 %. Nilai aktivitas antioksidan pada kedelai tersebut yang telah ditambah tiga jenis inokulum tidak berbeda nyata.

Gambar 1 menunjukkan grafik pengaruh lama inkubasi terhadap aktivitas antioksidan pada tempe kedelai hitam yang difermentasi dengan berbagai inokulum. Dari gambar tersebut terlihat bahwa kedelai hitam yang difermentasi mengalami peningkatan aktivitas antioksidan selama inkubasi sampai

42 jam. Hal ini terjadi pada semua inokulum yang digunakan dalam penelitian.



Kenaikkan aktivitas antioksidan tertinggi terjadi pada tempe yang diinokulasi dengan inokulum dari *Rhizopus stolonifer*, kemudian diikuti dengan tempe yang diinokulasi dengan inokulum dari *Rhizopus oryzae*. Sedangkan pada tempe yang diinokulasi dengan inokulum dari *Rhizopus oligosporus* pada inkubasi ke 24 jam peningkatannya tidak signifikan, tetapi pada inkubasi 30 naik dua kali lipat dan seterusnya naik sampai ke 42 jam. Bahkan kenaikannya melebihi tempe yang diinokulasi dengan inokulum *Rhizopus oryzae*.

Hasil analisa statistik ANOVA faktorial ( $p < 0,05$ ) didapatkan bahwa interaksi jenis inokulum dan lama inkubasi berbeda secara signifikan. Ini artinya bahwa perlakuan interaksi jenis inokulum dan lama inkubasi terhadap tempe kedelai hitam berpengaruh nyata terhadap aktivitas antioksidannya. Berdasarkan uji Tukey, aktivitas antioksidan pada semua jenis inokulum dari lama inkubasi 24 dan 42 jam naik secara nyata. Pada inokulum *Rhizopus oligosporus* kenaikkan aktivitas antioksidan secara nyata sudah terjadi pada lama inkubasi 30 jam. Sedangkan tempe yang difermentasi dengan inokulum *Rhizopus oryzae*, terlihat terjadi penurunan aktivitas antioksidan pada lama inkubasi 30 dan 36 jam tetapi secara tidak nyata. Berdasarkan analisa statistik dengan Korelasi Pearson, peningkatan aktivitas antioksidan pada tempe berkorelasi positif lemah dengan pertumbuhan jamur yang difermentasi dengan *R. stolonifer*, *R. oligosporus* dan *R. oryzae* ( $r = 0,639$ ,  $0,611$  dan  $0,175$ ). Akan tetapi secara statistik tidak menunjukkan hubungan antara aktivitas antioksidan dengan pertumbuhan jamur.

Kenaikkan aktivitas antioksidan ini dipengaruhi oleh jenis inokulum dan lama inkubasi. Siregar dan Pawiroharsono (1997) menyatakan bahwa jenis inokulum sangat mempengaruhi kandungan isoflavon pada tempe yang dihasilkan. Menurut Pawiroharsono (1997) beberapa senyawa dalam tempe seperti asam lemak tidak jenuh, asam

amino bebas, vitamin E,  $\beta$ -karoten dan isoflavon bersifat antioksidan. Selama proses fermentasi kedelai terjadi peningkatan asam lemak tidak jenuh dan terbentuknya asam amino bebas. Sedangkan menurut Jha dkk. (1997) bahwa selama proses fermentasi terjadi perubahan pada isoflavon menjadi isoflavon aglycon. Isoflavon tersebut diubah menjadi isoflavonon dan isoflavan, kedua jenis flavonoid tersebut mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan isoflavon.

## KESIMPULAN

Jenis inokulum dan lama inkubasi yang dilakukan pada proses pembuatan tempe kedelai hitam mempengaruhi aktivitas antioksidan. Proses fermentasi pada pembuatan tempe kedelai hitam meningkatkan aktivitas antioksidan. Pertumbuhan jamur dan sifat organoleptik pada proses pembuatan tempe dipengaruhi oleh jenis jamur dan lama inkubasi, semakin lama inkubasi total jamur meningkat kemudian menurun. Ada kecenderungan semakin lama inkubasi, meningkat aktivitas antioksidan. *Rhizopus stolonifer* mempunyai karakteristik lebih tinggi pertumbuhan jamur, sifat organoleptik dan aktivitas antioksidan dibandingkan *R. oligosporus* dan *R. oryzae* pada lama inkubasi 30 jam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, M. (1996). Sejarah perkembangan tempe. *Dalam: Sapan dan Soetrisno, N. Bunga Rampai Tempe Indonesia*, hal 21-41. Yayasan Tempe Indonesia, Jakarta.
- Hubert, J., Berger, M., Nepveu, F., Paul, F. dan Dayde, J. (2008). Effects of fermentation on the phytochemical composition and antioxidant properties of soy germ. *Journal of Food Chemistry* **109**: 709-721.
- Jha, H.C., Kiriakidis, S., Hoppe, M. dan Egge, H. (1997). Antioxidative constituents of tempe. *Dalam: Sudarmadji, S., Suparmo dan Raharjo, S. Reiventing the Hidden Miracle of Tempe, Proceeding International Tempe Symposium, Bali*, hal 73-84. Indonesian Tempe Foundation, Jakarta.
- Kiers, J.L., Schreuder, J., Nout, M.J.R. dan Rombousts, F.M. (1997). Tempe fermentation, using different substrates and pure culture starters, and the effects of substrate modification on in vitro digestibility. *Dalam: Sudarmadji, S., Suparmo dan Raharjo, S. Reiventing the Hidden Miracle of Tempe, Proceeding International Tempe Symposium, Bali*, hal 64-72. Indonesian Tempe Foundation, Jakarta.
- Pangastuti, H.P. dan Triwibowo, S. (1996). Proses pembuatan tempe kedelai. *Cermin Dunia Kedokteran* **190**: 54-56.
- Pawiroharsono, S. (1996). Aspek mikrobiologi tempe. *Dalam: Sapan dan Soetrisno, N. Bunga Rampai Tempe Indonesia*, hal 169-204. Yayasan Tempe Indonesia, Jakarta.
- Pawiroharsono, S. (1997). Prospect of Tempe as functional food. *Dalam: Sudarmadji, S., Suparmo dan Raharjo, S. Reiventing the Hidden Miracle of Tempe, Proceeding International Tempe Symposium, Bali*, hal 101-113. Indonesian Tempe Foundation, Jakarta.
- Siregar, E. dan Pawiroharsono, S. (1997). Inocula formulation and its role of biotransformation of isoflavonoid compounds. *Dalam: Sudarmadji, S., Suparmo dan Raharjo, S. Reiventing the Hidden Miracle of Tempe, Proceeding International Tempe Symposium, Bali*, hal 85-98. Indonesian Tempe Foundation, Jakarta.
- Xu, B.J. dan Chang, S.K.S. (2007). A Comparative study on phenolic profiles and antioxidant of legums as affected by extraction solvents. *Journal of Food Science* **72**:159-166