



KAJIAN KANDUNGAN FENOLAT DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL TEMPE GEMBUS DARI BERBAGAI WAKTU INKUBASI

[Study of Content Phenolic and Antioxidant Activity Extract Ethanol Tempeh Gembus of a Variety of Incubation]

Mohammad Sidiq^{1*)}, Mappiratu¹⁾, Nurhaeni¹⁾

¹⁾Jurusan Kimia FMIPA Universitas Tadulako, Palu
Jl. Soekarno Hatta Km.9, Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Telp. 0451- 422611

Diterima 25 April 2016, Disetujui 7 Juni 2016

ABSTRACT

The research about study of content phenolic and antioxidant activity extract ethanol tempeh gembus of a variety of incubation has been done. This study aims to know the time of incubation and time extraction that produced levels of the total phenolic and the best antioxidant activity. Determination of total phenolic using the method of folin-ciocalteu and antioxidant activity using the method DPPH. The achievement of goals be done through the application of the treatment of the time of incubation and time extraction of level of phenolic and antioxidant activity. The influence of the time of incubation is applied five levels of 0 hours; 12 hours; 24 hours; 36 hours and 48 hours. While the influence of time extraction is 1 hours, 1.5 hours, 2 hours, 2.5 hours, and 3 hours. From the result obtained by the incubation is at the time of incubation 36 hours which resulted in levels of total phenolic of 7.75 % and the value of IC_{50} of 1098.88 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The use of time extraction is 1,5 hours that produces levels of total phenolic of 5.26 % and the value of IC_{50} of 1198.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Keyword: *tempeh gembus, total phenolic, antioxidant activity, time of incubation, time extraction*

ABSTRAK

Penelitian mengenai kajian kandungan fenolat dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol tempe gembus dari berbagai waktu inkubasi telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui waktu inkubasi dan waktu ekstraksi yang menghasilkan kadar fenolat total dan aktivitas antioksidan terbaik. Penentuan kadar fenolat total menggunakan metode folin-ciocalteu sedangkan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Pencapaian tujuan dilakukan melalui penerapan perlakuan pengaruh waktu inkubasi dan waktu ekstraksi terhadap kadar fenolat dan aktivitas antioksidan. Pada pengaruh waktu inkubasi diterapkan lima tingkatan yaitu 0 jam; 12 jam; 24 jam; 36 jam dan 48 jam. Sedangkan pengaruh waktu ekstraksi yaitu 1 jam; 1,5 jam; 2 jam; 2,5 jam dan 3 jam. Dari hasil penelitian diperoleh waktu inkubasi yang baik adalah pada waktu inkubasi 36 jam yang menghasilkan kadar fenolat total sebesar 7,75 % dan nilai IC_{50} sebesar 1098,88 $\mu\text{g}/\text{mL}$. penggunaan waktu ekstraksi yang baik adalah 1,5 jam yang menghasilkan kadar fenolat total sebesar 5,26 % dan nilai IC_{50} sebesar 1198,95 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Kata kunci: *tempe gembus, kadar fenolat total, aktivitas antioksidan, waktu inkubasi, waktu ekstraksi.*

^{*)}Coresponding Author: Mohsidiq65@gmail.com

LATAR BELAKANG

Pemanfaatan bahan sisa proses-proses pengolahan pangan yang banyak sekali terdapat di Indonesia, belum banyak mendapat perhatian. Masih banyak bahan sisa pengolahan bahan pangan yang belum dimanfaatkan dengan baik. Di samping mengatasi pencemaran lingkungan, pemanfaatan bahan sisa juga dapat membantu mengatasi masalah kekurangan gizi, khususnya kekurangan protein. Ampas tahu merupakan salah satu bahan sisa proses pengolahan tahu yang banyak terdapat di Indonesia.

Kacang kedelai yang merupakan sumber bahan baku tahu mengandung senyawa flavonoid golongan isoflavon. Isoflavon yang ditemukan dalam kedelai, yaitu daidzein (7,4'-dihidroksi isoflavon), genistein (5,7,4'-trihidroksiisoflavon), dan glisitein (6-metoksi-7,4'-dihidroksi isoflavon). Di samping itu ditemukan juga bentuk glikosida dari isoflavon tersebut, yaitu daidzin (daidzein 7-*o*-glikosida), genistin (genistein 7-*o*-glikosida), dan glisitin (glisitein 7-*o*-glikosida) (Purwoko dkk, 2001). Senyawa bioaktif isoflavon yang mengandung gugus fenolik mempunyai kemampuan sebagai antioksidan dan mencegah terjadinya kerusakan akibat radikal bebas (Astuti, 2008). Radikal bebas menimbulkan masalah kesehatan berupa penyakit degeneratif seperti kanker, arterosklerosis, penyakit jantung coroner dan diabetes mellitus (Kumalaningsih, 2006). Mengacu pada kandungan senyawa kimia tempe

yang bersifat antioksidan, maka tempe dapat berperan sebagai pangan fungsional, yakni pangan yang dapat mencegah dan menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas.

Tempe gembus merupakan salah satu produk fermentasi, selama proses fermentasi terdapat faktor-faktor yang sangat mempengaruhi proses fermentasi tersebut, antara lain : suhu, kadar ragi dan lamanya proses fermentasi.

Ekstraksi senyawa fenolat dalam suatu bahan dipengaruhi oleh berbagai faktor antara lain suhu ekstraksi, jenis pelarut, waktu ekstraksi dan rasio pelarut terhadap bahan. Untuk ekstraksi senyawa fenolat dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol, faktor yang sangat berpengaruh adalah waktu ekstraksi (Wulandari, 2011; Pelima dkk., 2012).

Penelitian tentang kandungan fenolat dan aktivitas antioksidan pada tempe telah dilakukan oleh beberapa peneliti, akan tetapi kandungan fenolat dan aktivitas antioksidan pada tempe yang diolah dari kedelai belum ditemukan publikasi mengenai pengaruh waktu ekstraksi. Widiyanti (2007) melakukan kajian kandungan fenolat total dan aktivitas antioksidan pada tempe yang diolah dari biji lamtoro gung. Kadar fenolat ditentukan menggunakan metode Follin-Ciocalteu dan aktivitas antioksidan ditentukan menggunakan metode asam tiobarbiturat (TBA). Ningsih (2007) melakukan kajian aktivitas antioksidan tempe yang diolah dari kacang tunggak menggunakan

metode DPPH. Untuk mengetahui peranan tempe kedelai sebagai pencegah berbagai jenis penyakit yang disebabkan radikal bebas, perlu dilakukan kajian kandungan fenolat dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol tempe gembus.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah ampas tahu dari pabrik tahu di kelurahan Bayaoge, kecamatan Palu Barat dan inokulum tempe (RAPRIMA produksi Aneka Fermentasi Industri (AFI)). Bahan lain sebagai pengekstrak dan bahan kimia untuk analisis mencakup etanol 96%, etanol p.a, n-heksan teknis, reagen folin-ciocalteu, asam galat, natrium karbonat p.a, DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil) p.a, asam askorbat, akuades.

Peralatan yang digunakan adalah ayakan 60 mesh, blender, sterilisator, shaker, rotary vakum evaporator, spektrofotometer UV-VIS, neraca analitik, kuvet, alat press, oven, dan alat-alat gelas yang umum digunakan dalam Laboratorium Kimia.

Prosedur Penelitian

Tahap Pembuatan Tempe Gembus (Purwoko dkk, 2003)

Ampas tahu direndam dalam air selama 2 jam dan dihilangkan airnya dengan cara dipres. Selanjutnya ampas tahu disterilisasi dalam sterilisator (121°C, 15 menit). kemudian ampas tahu yang telah steril diinokulasi menggunakan ragi tempe (2,5 Kg ampas tahu diinokulasi

dengan 5 g ragi tempe). Ampas tahu yang telah diinokulasi selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang dengan variasi waktu inkubasi 0 jam (A), 12 jam (B), 24 jam (C), 36 jam (D), dan 48 jam (E).

Tahap Ekstraksi Tepung Tempe Gembus (Purwoko dkk, 2003)

Tempe hasil inkubasi dikeringkan pada suhu 60°C selama 24 jam. Tempe yang telah kering diblender menjadi tepung kemudian diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Selanjutnya tepung tempe sebanyak 30 g diekstrak 2 kali dengan 150 mL etanol 80% dan 30 mL etanol 80% hingga diperoleh filtrat dan ampas. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara pengocokan di atas mesin kocok (shaker) selama 2 jam. Ampas dibuang dan ekstrak dikumpulkan, kemudian filtrat dievaporasi dengan rotary vakum evaporator pada suhu 40-50°C sampai kering. Ekstrak kering ditambahkan 5 mL etanol 50% dan 10 mL n-heksan untuk menghilangkan lemak. Lapisan atas dibuang dan lapisan bawah diambil. Ekstrak yang telah dipisahkan dievaporasi kembali hingga kering dan ditambahkan 5 mL etanol 96% lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C.

Tahap Ekstraksi Tepung Tempe Gembus Untuk Perlakuan Pengaruh Waktu Ekstraksi (Purwoko dkk, 2003)

Tempe hasil inkubasi dikeringkan pada suhu 60°C selama 24 jam. Tempe yang telah kering diblender menjadi tepung kemudian diayak menggunakan ayakan 60 mesh. Selanjutnya tepung tempe sebanyak 30 g diekstrak 2 kali

dengan 150 mL etanol 80% dan 30 mL etanol 80% hingga diperoleh filtrat dan ampas. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara pengocokan di atas mesin kocok (shaker) dengan variasi waktu ekstraksi 1 jam (A); 1,5 jam (B); 2 jam (C); 2,5 jam (D) dan 3 jam (E). Ampas dibuang dan ekstrak dikumpulkan, kemudian filtrat dievaporasi dengan rotary vakum evaporator pada suhu 40-50°C sampai kering. Ekstrak kering ditambahkan 5 mL etanol 50% dan 10 mL n-heksan untuk menghilangkan lemak. Lapisan atas dibuang dan lapisan bawah diambil. Ekstrak yang telah dipisahkan dievaporasi kembali hingga kering dan ditambahkan 5 mL etanol 96% lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C.

Penentuan Kadar Fenolat Ekstrak Etanol Tempe Gembus (Pratiwi dkk, 2010)

a. Pembuatan Kurva Baku

Asam galat sebanyak 0,1 g ditambahkan akuades sampai 100 mL untuk mendapatkan larutan induk 1000 mg/L. Larutan induk selanjutnya diencerkan dengan akuades sehingga dihasilkan konsentrasi 100 mg/L, 200 mg/L, 300 mg/L, 400 mg/L, 500 mg/L, dan 600 mg/L asam galat. Sebanyak 0,2 mL larutan dari berbagai konsentrasi diencerkan dengan 15,8 mL akuades dan direaksikan dengan 1 mL reagen folin-ciocalteu, kemudian larutan dikocok dan didiamkan selama 8 menit. Sebanyak 3 mL larutan Na₂CO₃ 20% ditambahkan ke dalam larutan, kemudian dikocok hingga

larutan homogen dan didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Selanjutnya absorbansi dari larutan standar diukur pada panjang gelombang 765 nm menggunakan spektrofotometer uv-vis. Kurva standar diperoleh dari hubungan antara konsentrasi asam galat (mg/L) dengan absorbansi.

b. Analisis Sampel

Ekstrak tempe gembus yang diperoleh sebelumnya dilarutkan hingga 25 mL dengan etanol 50%. Sebanyak 0,2 mL larutan ekstrak ditambahkan dengan 15,8 mL akuades dan direaksikan dengan 1 mL reagen folin-ciocalteu, kemudian larutan dikocok dan didiamkan selama 8 menit. Sebanyak 3 mL larutan Na₂CO₃ 20% ditambahkan ke dalam larutan, kemudian dikocok hingga larutan homogen dan didiamkan selama 2 jam pada suhu kamar. Selanjutnya absorbansi dari larutan ini diukur pada panjang gelombang 765 nm menggunakan spektrofotometer uv-vis.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tempe Gembus (Pratiwi dkk, 2010)

Larutan ekstrak etanol 1 mg/mL dibuat dengan melarutkan 0,25 mg ekstrak dalam 25 mL etanol. Selanjutnya diencerkan dengan menambahkan etanol hingga diperoleh konsentrasi 10 µg/mL, 30 µg/mL, 50 µg/mL, 70 µg/mL dan 90 µg/mL. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan terhadap berbagai konsentrasi dengan memasukkan 0,2 mL larutan sampel ke dalam vial dan direaksikan dengan 3,8 mL larutan DPPH 50 µM.

Campuran dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai pembanding digunakan asam askorbat dengan konsentrasi 2 µg/mL, 3 µg/mL, 4 µg/mL, 5 µg/mL, 6 µg/mL dengan perlakuan yang sama dengan sampel uji. Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs. sampel}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

Nilai IC_{50} masing-masing konsentrasi sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linear.

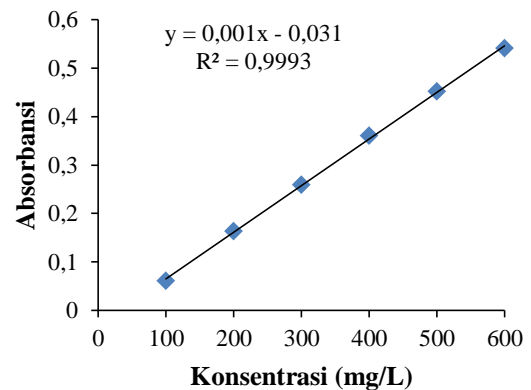
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Tempe Gembus pada Berbagai Waktu Inkubasi

Salah satu makanan hasil olahan kedelai adalah tahu. Proses pembuatan tahu menghasilkan limbah padat yang disebut ampas tahu. Ampas tahu dapat diolah menjadi makanan terfermentasi, yaitu oncom dan tempe gembus. Mikroba dalam pembuatan oncom adalah *Neurospora sitophita* dan *Rhizopus oligosporus*, sedangkan pada pembuatan tempe gembus adalah *R. orizae* dan *R. oligosporus* (Purwoko dkk, 2003).

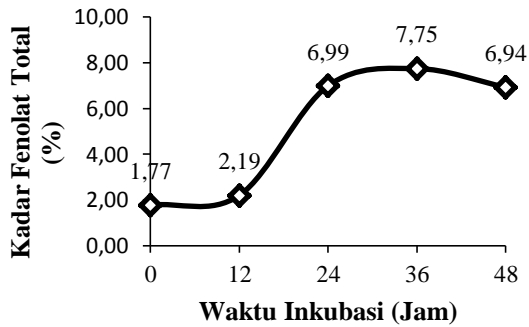
Untuk mengetahui waktu fermentasi tempe gembus yang menghasilkan kadar

fenolat yang tinggi, diterapkan lima tingkatan waktu fermentasi yaitu 0 jam; 12 jam; 24 jam ; 36 jam dan 48 jam. Penentuan kadar senyawa fenolat total dilakukan dengan membuat kurva standar asam galat dengan konsentrasi 100-600 mg/L pada panjang gelombang 765 nm. Penggunaan asam galat sebagai standar dikarenakan senyawa tersebut sangat efektif untuk membentuk senyawa kompleks dengan reagen folin-ciocalteu. Kurva standar dibuat sebagai pembanding ekuivalen senyawa fenolat yang terdapat dalam tempe gembus, dengan demikian kurva tersebut berguna dalam membantu menentukan kadar fenolat total. Penelitian terhadap larutan standar asam galat menghasilkan persamaan regresi $y = 0.0011x - 0,031$ dengan koefisien determinasi (R^2) sebesar 0,9993.



Gambar 1. Kurva standar asam galat

Hasil yang diperoleh (Gambar 2) menunjukkan kadar fenolat total mengalami peningkatan hingga waktu inkubasi 36 jam dan penurunan pada waktu inkubasi 48 jam.



Gambar 2. Kurva hubungan antara kadar fenolat total terhadap waktu inkubasi

Hal ini diduga karena selama inkubasi terjadi aktivitas mikroba yang bervariasi dan pembentukan aglikon sudah berhenti. Tempe terbaik dengan tekstur kompak diselimuti miselia putih tebal terjadi pada inkubasi 36 jam. Namun setelah itu pada waktu inkubasi 48 jam sudah terjadi pembusukkan, diduga karena *Rhizopus* mengalami fase pembusukkan atau fermentasi lanjut yang menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah bakteri dan jumlah asam lemak bebas, pertumbuhan jamur menurun dan pada kadar air tertentu pertumbuhan jamur terhenti, terjadinya perubahan flavor karena degradasi protein sehingga terbentuk amoniak dan mikroba pembusuk mulai tumbuh. Istiani (2010) menemukan bahwa penurunan kandungan isoflavon pada koro pedang utuh dan rajang terjadi setelah fermentasi 1 hari sedangkan pada kedelai penurunan kandungan isoflavon setelah fermentasi 2 hari, namun meningkat pada fermentasi 4 hari.

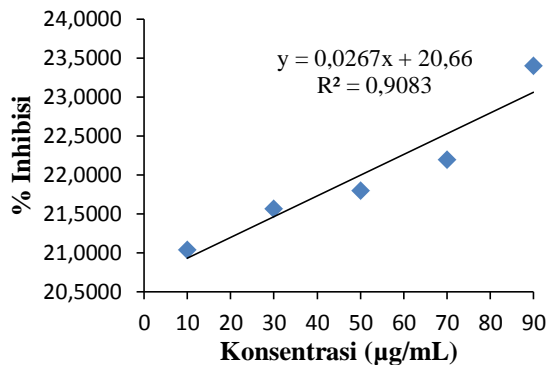
Aktivitas antioksidan ampas tahu terfermentasi tidak terlepas dari kemampuan mikroba dalam menghasilkan

isoflavon aglikon, karena ampas tahu masih mengandung isoflavon glikosidik (Wang dkk, 1998 dalam Purwoko dkk, 2003). Isoflavon aglikon diperoleh dari transformasi isoflavon glikosidik dan diperantarai oleh enzim β -glukosidase dan perendaman dalam suasana asam. Glukosa yang terdapat dalam isoflavon glikosidik diperlukan mikroba untuk pertumbuhannya. Oleh karena itu, mikroba mensintesis enzim β -glukosidase yang dapat memecah isoflavon glikosidik menjadi isoflavon aglikon dan glukosa.

Metode pengujian aktivitas antioksidan yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil). Metode DPPH digunakan secara luas untuk pengujian kemampuan penangkapan radikal bebas dari beberapa komponen alam. Metode DPPH sering digunakan untuk mendeteksi kemampuan antiradikal suatu senyawa karena hasilnya terbukti akurat, relatif cepat dan praktis (Pezzuto dalam Widoyo, 2010).

Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH terhadap ekstrak tempe gembus dengan konsentrasi 10 μ g/mL, 30 μ g/mL, 50 μ g/mL, 70 μ g/mL dan 90 μ g/mL. Pembuatan variasi konsentrasi sampel digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Penghambatan 50% tersebut diperoleh

dari kurva antara % inhibisi terhadap konsentrasi ekstrak etanol tempe gembus dari persamaan regresi $y = 0,0267x + 20,66$ sehingga nilai IC_{50} yang diperoleh sebesar 1098,88 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 3. Kurva hubungan antara % inhibisi terhadap konsentrasi ekstrak etanol tempe gembus

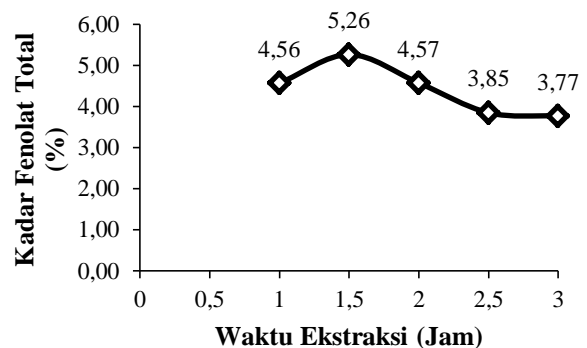
Hasil pengujian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol tempe gembus maka semakin tinggi pula persen inhibisi yang diperoleh. Dengan kata lain konsentrasi ekstrak etanol tempe gembus berbanding lurus dengan persen inhibisi. Hal ini disebabkan pada sampel yang semakin banyak, maka makin tinggi kandungan antioksidannya sehingga berdampak juga pada tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut.

Kandungan Fenolat Total dan Aktivitas Antioksidan Tempe Gembus Pada Berbagai Waktu Ekstraksi

Untuk mengetahui pengaruh waktu ekstraksi tempe gembus terhadap kadar fenolat total yang dihasilkan, diterapkan lima tingkatan waktu ekstraksi masing-masing 1 jam; 1,5 jam; 2 jam; 2,5 jam dan 3 jam. Adapun tempe gembus yang digunakan untuk proses ekstraksi ini yaitu

tempe gembus dengan waktu inkubasi 36 jam yang menghasilkan kadar fenolat terbaik pada perlakuan sebelumnya.

Hasil yang diperoleh menunjukkan kadar fenolat total terbaik pada waktu ekstraksi 1,5 jam yaitu sebesar 5,26 %. Pada waktu ekstraksi 2 jam hingga 3 jam kadar fenolat total mengalami penurunan hingga 3,77 %. Nilai tersebut relatif lebih rendah jika dibandingkan temuan pada perlakuan pengaruh waktu inkubasi.

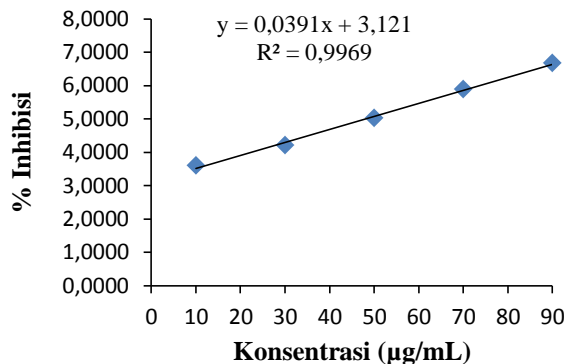


Gambar 4. Kurva hubungan antara kadar fenolat total terhadap waktu ekstraksi

Hasil yang diperoleh (Gambar 4) menunjukkan kadar fenolat total pada selang waktu ekstraksi 1 jam sampai 1,5 jam mengalami peningkatan. Penurunan kadar fenolat total ekstrak etanol tempe gembus pada penggunaan waktu ekstraksi di atas 1,5 jam diduga disebabkan oleh terjadinya kerusakan komponen kimia terekstrak terutama komponen antioksidannya. Wulandari (2011) juga menemukan hal yang sama dimana terjadi penurunan kadar fenolat ekstrak etanol kulit ari biji kakao pada perlakuan pengaruh waktu ekstraksi.

Penghambatan 50% diperoleh dari kurva antara % inhibisi terhadap

konsentrasi ekstrak tempe gembus dari persamaan regresi $y = 0,0391x + 3,121$ sehingga nilai IC_{50} yang diperoleh sebesar 1198,95 $\mu\text{g/mL}$. Kurva regresi menunjukkan hubungan yang erat antara konsentrasi ekstrak etanol tempe gembus terhadap % inhibisi.

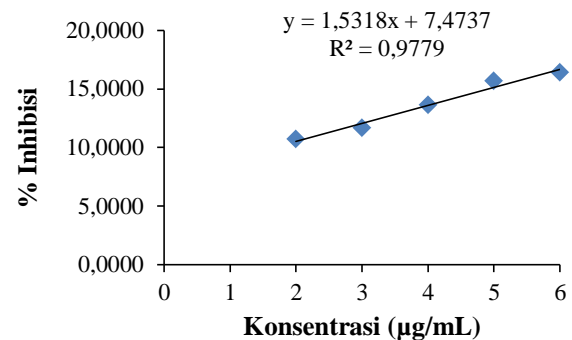


Gambar 5. Kurva hubungan antara % inhibisi terhadap konsentrasi ekstrak etanol tempe gembus

Hasil pengujian (Gambar 5) menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol tempe gembus maka semakin tinggi pula persen inhibisi yang diperoleh. Dengan kata lain konsentrasi sampel berbanding lurus dengan persen inhibisi. Hal ini disebabkan pada sampel yang semakin banyak, maka makin tinggi kandungan antioksidannya sehingga berdampak juga pada tingkat penghambatan radikal bebas yang dilakukan oleh zat antioksidan tersebut.

Dalam penelitian ini digunakan asam askorbat sebagai pembanding sebab asam askorbat merupakan salah satu senyawa yang berperan sebagai pengikat oksigen sehingga tidak mendukung reaksi oksidasi. Aktivitas antioksidan tempe gembus relatif jauh lebih kecil jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan

asam askorbat yaitu sebesar 27,7623 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil yang diperoleh tersebut dapat diketahui bahwa tingkat kekuatan antioksidan tempe gembus tergolong antioksidan lemah ($IC_{50} > 150$ $\mu\text{g/mL}$).



Gambar 6. Kurva hubungan antara % inhibisi terhadap konsentrasi asam askorbat

Penelitian yang dilakukan oleh Purwoko dkk (2003) menemukan aktivitas antioksidan ampas tahu terfermentasi (400 ppm) *N. sitophila*, *R. oligosporus*, *R. oryzae* terhadap oksidasi minyak kedelai masing-masing sebesar 97,7%; 98%; dan 95,3%. Istiani (2010) menemukan bahwa 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%. Sementara itu, Widoyo (2010) menemukan bahwa tempe kedelai hitam dengan perlakuan lama fermentasi 42 jam memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan tempe dari varietas kedelai lainnya yaitu sebesar 67,40%.

KESIMPULAN

Waktu inkubasi terbaik pada fermentasi tempe gembus adalah 36 jam. Pada waktu inkubasi tersebut diperoleh

kadar fenolat total sebesar 7,75 % dengan nilai IC_{50} sebesar 1098,88 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan waktu ekstraksi terbaik pada proses ekstraksi fenolat dari tempe gembus adalah 1,5 jam. Pada waktu ekstraksi tersebut diperoleh kadar fenolat total sebesar 5,26 % dengan nilai IC_{50} sebesar 1198,95 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, S. 2008. Isoflavon Kedelai dan Potensinya sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13 (2): 126-136.
- Istiani, Y. 2010. *Karakterisasi Senyawa Bioaktif Isoflavon dan Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Tempe Berbahan Baku Koro Pedang (Canavalia ensiformis)*. [Tesis]. Surakarta: Program Studi Biosains Universitas Sebelas Maret.
- Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas : Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan*. Surabaya: Trubus Agrisarana.
- Ningsih, W. 2007. *Evaluasi Senyawa Fenolik (Asam Ferulat dan Asam p-Kumarat) pada Biji, Kecambah dan Tempe Kacang Tunggak (Vigna unguiculata)*. [Skripsi]. Bogor: Departemen Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Pelima, J.N., Mappiratu., R.Dg. Rahmatu. 2012. *Kajian Kandungan Fenolat dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ubi Banggai (Dioscorea) dari Berbagai Varietas*. Palu: [Tesis]. Program Pascasarjana. Universitas Tadulako.
- Pratiwi, P., M. Suzery., B. Cahyono. 2010. Total Fenolat dan Flavonoid Dari Ekstrak dan Fraksi Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Jawa Tengah serta Aktivitas Antioksidannya. *Jurnal sains & matematika (JSM)*. 18 (4): 140 – 148.
- Purwoko, T., Pawiroharsono, S., Gandjar, I. 2001. Biotransformasi Isoflavon Oleh *Rhizopus oryzae* UICC 524. *Jurnal BioSMART*. 3 (2): 7 – 12.
- Purwoko, T., Nurkhayati, R. Arumsari. 2003. Aktivitas Antioksidasi Ampas Tahu Terfermentasi Terhadap Oksidasi Minyak Kedelai. *Jurnal BioSMART*. 5 (1): 13 – 16.
- Widiyanti. 2007. *Aktivitas Antioksidan Tempe Lamtoro Gung (Leucaena leucocephala (Lam.) de Wit) Hasil Fermentasi Rhizopus oligosporus*. [Skripsi]. Surakarta: Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Sebelas Maret.
- Widoyo, S. 2010. *Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Serat Kasar dan Aktivitas Antioksidan Tempe Beberapa Varietas Kedelai (Glycine sp)*. Surakarta: [Skripsi]. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret.
- Wulandari, S.A. 2011. *Ekstraksi dan Analisis Kandungan Fenolat Ekstrak Etanol Kulit Ari Biji Kakao (Theobroma cacao, L.)*. [Skripsi]. Palu: Program Studi Kimia. FMIPA. Universitas Tadulako.