

## POTENSI ANTIOKSIDAN DAN KADAR TOTAL FENOL TEMPE KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris L.*), KACANG TANAH (*Arachis hypogaea L.*) DAN KACANG KEDELAI (*Glycine max*)

Shania Annadira, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti\*  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

### ABSTRAK

**Pendahuluan:** Tempe adalah olahan makanan dari fermentasi kacang – kacang khas Indonesia dan mempunyai efek antioksidan. Produk tempe menggunakan bahan dasar kacang kedelai (*Glycine max*) atau bahan lain seperti kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*) dan kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*). Kacang – kacang tersebut memiliki nilai gizi tinggi dan aktivitas antioksidan tinggi. Dengan demikian penelitian untuk mengkaji potensi antioksidan tempe berbahan dasar ketiga kacang sangat penting dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan kadar total fenol dan aktivitas antioksidan tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*.

**Metode:** Penelitian ini menggunakan metode *in vitro* dengan menguji ekstrak etanol tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* terhadap kadar total fenolnya menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Serta menguji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical). Analisis statistik data menggunakan aplikasi SPSS versi 22 pada uji *one way ANOVA*.

**Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan kadar total fenol pada tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* yaitu 107,88±1,55 ; 3,11±1,27; 43,91±1,16 mg GAE/g ( $p \leq 0.05$ ) dan aktivitas antioksidan dilihat dari nilai IC<sub>50</sub> yaitu 312,12 ; 560,23; 623,14 µg/mL ( $p \leq 0.05$ ). Hasil IC<sub>50</sub> pada vitamin C sebagai kontrol pembandingan, hasilnya lebih rendah dari ketiga jenis tempe tersebut (0,62 µg/mL). Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan tertinggi.

**Simpulan:** Tempe berbahan dasar *Phaseolus vulgaris* mempunyai kadar fenol dan aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan tempe *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*.

**Kata Kunci:** Tempe *Phaseolus vulgaris L.*, Tempe *Arachis hypogaea L.*, Tempe *Glycine max*, Antioksidan..

\*Korespondensi Penulis :

Dini Sri Damayanti

Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang

Alamat : Jl. MT Hayono 193, Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

email:dinisridamayanti@unisma.ac.id

## POTENTIAL ANTIOXIDANT ACTIVITY AND PHENOL CONTENT OF TEMPEH WHICH MADE FROM RED BEAN (*Phaseolus vulgaris L.*), PEANUT (*Arachis hypogaea L.*) AND SOYBEAN (*Glycine max*)

Shania Annadira, Yoyon Arif Martino, Dini Sri Damayanti \*  
Faculty of Medicine, University of Islam Malang

### ABSTRACT

**Background:** Tempeh is an Indonesia's unique-processed food made from fermented beans and has antioxidant effects. The products of tempeh which cooked from soybeans (*Glycine max*) or other ingredients such as peanuts (*Arachis hypogaea L.*) and red beans (*Phaseolus vulgaris L.*). These nuts possess valued nutritional content and high antioxidant activity. Thus, it is important to determine the antioxidant activities of these tempeh which prepared from this kinds of nut. The present study aimed to evaluate the total phenol levels and antioxidant activities of tempeh which made from *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* and *Glycine max*.

**Method:** This *in vitro* study measured the phenol content of ethanolic extracts of tempeh which made from *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* and *Glycine max*. The Folin-Ciocalteu method was used to assay the total phenol levels. However, the antioxidant activity was identified using DPPH method (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical). The data was analysed using one way ANOVA test with SPSS application (version 22). It considered significant at  $p$  less than 0.05

**Results:** The results showed that the total phenol levels in tempeh made from *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* and *Glycine max* were 107.88±1.55 ; 3.11±1.27; 43.91±1.16 mg GAE/g ( $p \leq 0.05$ ), respectively. The antioxidant activity (IC<sub>50</sub>) value in tempeh made from *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* and *Glycine max* were 312.12; 560.23; 623.14 g/mL ( $p \leq 0.05$ ), respectively. The IC<sub>50</sub> result for vitamin C (0.62 g/mL) as a control was lower than the tempeh groups. Thus, it had the highest antioxidant activity.

**Conclusion:** Tempe made from *Phaseolus vulgaris* has the highest phenol content and antioxidant activity compared to *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*.

**Keywords:** Tempeh *Phaseolus vulgaris L.*, Tempeh *Arachis hypogaea L.*, Tempeh *Glycine max*, Antioxidant..

\*Corresponding author:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Address : Jl. MT Haryono 193, Malang City, East Java, Indonesian, 65145

email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki makanan tradisional khas yaitu tempe, khususnya di Malang banyak sekali tempat produksi tempe yang salah satunya dijadikan oleh-oleh daerah. Tempe merupakan makanan fermentasi kacang-kacangan yang dicampur dengan ragi berisi jamur *Rhizopus sp*<sup>1</sup>. Proses fermentasi ini dapat meningkatkan nilai gizi dari kacang – kacang yang di gunakan<sup>2</sup>. Peningkatan manfaat nya yaitu dapat mengurangi senyawa anti nutrisi, meningkatkan protein, meningkatkan kapasitas antioksidan dan mengurangi alerginitas<sup>3</sup>. Fermentasi pada tempe juga mengubah senyawa isoflavon glukosida menjadi bentuk aglikon berupa daidzein, genestein, dan glistein sehingga aktivitas antioksidan pada tempe juga lebih tinggi dibandingkan dalam bentuk kacang<sup>4</sup>.

Jenis kacang – kacang yang sering digunakan sebagai bahan baku tempe adalah kacang kedelai, namun kacang non kedelai juga ada dan tidak kalah nilai gizinya. Kacang merah memiliki kadar air, abu dan karbohidrat lebih tinggi juga nilai kalori, protein juga lemak yang paling rendah dibandingkan dengan kacang tanah dan kedelai. Kacang tanah memiliki nilai energi dan kadar lemak yang paling tinggi dibandingkan dengan kacang merah juga kacang kedelai<sup>5</sup>. Kacang-kacangan atau golongan *Leguminoceae* juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena banyak terkandung senyawa isoflavon didalamnya<sup>6,7</sup>. Kacang kedelai memiliki kandungan antioksidan berupa isoflavon, tokoferol, asam askorbat. Kandungan antioksidan pada kacang tanah banyak dijumpai pada kulit biji kacang tanah berupa senyawa fenolik seperti resveratrol, catechin, epicatechin, dan quercetin. Kacang merah mengandung vitamin, mineral, karbohidrat kompleks dan protein yang berkisar 16-33%, serta terkandung metabolit sekunder seperti tanin, antosianin, senyawa fenolik dan serat<sup>8</sup>.

Antioksidan dibutuhkan oleh tubuh sebagai penangkal radikal bebas karena memiliki cara kerja dengan mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga dampak negatif dari oksidan dapat dihambat<sup>9</sup>. Antioksidan didapatkan dari produksi dalam tubuh sendiri dan ada yang bersumber dari luar tubuh, namun antioksidan alami dari tubuh kurang mampu memenuhi kebutuhannya sehingga diperlukan tambahan antioksidan dari luar tubuh<sup>10</sup>. Antioksidan dari luar tubuh dapat berupa makanan seperti tumbuh-tumbuhan yang terkandung polifenol dan flavonoid didalamnya<sup>11</sup>. Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol, aktivitas antioksidan dalam flavonoid salah satunya berbentuk isoflavon<sup>11</sup>. Kandungan isoflavon dalam tumbuhan paling banyak terdapat pada golongan *Leguminoceae* atau kacang-kacangan contohnya seperti kacang kedelai (*Glycine max*), kacang tanah (*Arachis hypogaea l*), kacang merah (*Phaseolus vulgaris l*)<sup>6,7</sup>.

Penelitian sebelumnya oleh Fidrianny 2016 yang membandingkan kadar antioksidan pada *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* sudah dilakukan dan mendapatkan hasil

bahwasannya ketiga jenis kacang memiliki perbedaan aktivitas antioksidan dan termasuk memiliki aktivitas antioksidan yang kuat pada uji DPPH, total fenol dan ABTS<sup>12</sup>. Namun penelitian yang membandingkan kadar total fenol dan aktivitas antioksidan pada olahan kacang berupa tempe masih belum dilakukan. Maka dari itu perlu adanya penelitian yang mengkaji lebih lanjut mengenai perbandingan kadar total fenol dan aktivitas antioksidan terhadap tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*. Keluaran dari hasil penelitian dapat digunakan sebagai landasan ilmiah pengembangan produk tempe sebagai salah satu produk unggulan untuk mencegah penyakit degeneratif.

## METODE PENELITIAN

### Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Jenis penelitian ini termasuk eksperimental dengan metode *in vitro*, dengan menguji total fenol dan aktivitas antioksidan terhadap DPPH. Penelitian dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, pada bulan April hingga Juni tahun 2021.

### Sampel Penelitian

Sampel yang akan diuji adalah tempe kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*), kacang tanah (*Arachis hypogaea L.*), dan kacang kedelai (*Glycine max.*). Kacang yang digunakan telah dideterminasi oleh UPT Laboratorium Herbal Materia Medika Batu dengan nomor surat 074/394/102.7-A/2021.

### Pembuatan Tempe *Phaseolus vulgaris*

Langkah awal yaitu memilah *Phaseolus vulgaris* berkualitas baik (tidak keriput, tidak busuk) lalu mencuci dengan air mengalir hingga bersih. Selanjutnya proses pengasaman dengan merendam *Phaseolus vulgaris* dengan air matang selama 24 jam hingga air rendaman mencapai pH 3,5, proses pengasaman menggunakan baskom hingga permukaan *Phaseolus vulgaris* terendam. *Phaseolus vulgaris* yang telah melewati pengasaman selanjutnya bilas menggunakan air bersih dan persiapan perebusan. Perebusan *Phaseolus vulgaris* selama 30 menit menggunakan panci tertutup hingga setengah matang. Tahap selanjutnya yaitu mencacah *Phaseolus vulgaris* setengah matang menggunakan pisau atau penggiling hingga kacang terbagi menjadi bagian yang kecil ukuran kurang lebih 0,5 cm. Setelah tercacah kasar, dilakukan proses pengukusan tertutup dengan api sedang selama 30 menit hingga matang. Setelah matang selanjutnya meniriskan *Phaseolus vulgaris* pada wadah kering hingga mencapai suhu 25°C. *Phaseolus vulgaris* yang telah dingin masuk ke tahap peragian menggunakan ragi jenis *Rhizopus oligosporus* dengan ragi sebanyak 1gr untuk *Phaseolus vulgaris* 1kg. Proses peragian diawali dengan melarutkan 1 gr ragi dalam 100 ml air, kemudian campurkan larutan ragi ke dalam *Phaseolus vulgaris*.

Pencampuran *Phaseolus vulgaris* dengan ragi menggunakan baskom hingga semua kacang terbaluri ragi. Tahapan terakhir yaitu membungkus *Phaseolus vulgaris* berragi ke dalam plastik mika ukuran sedang yang sudah terlubangi bagian tutup dan dasar mika menggunakan jarum. Proses fermentasi memerlukan waktu 24-48 jam dalam ruangan bersuhu 27°C hingga *Phaseolus vulgaris* berubah menjadi tempe *Phaseolus vulgaris*<sup>13</sup>.

### Pembuatan Tempe *Arachis hypogaea*

*Arachis hypogaea* yang digunakan merupakan kacang tanah berbentuk bungkil (*peanut press cake*) atau hasil sisa pengekstraksian minyak *Arachis hypogaea*. Tahap awal yaitu mempersiapkan bungkil *Arachis hypogaea* sebanyak 1 kg lalu melakukan proses pengasaman dengan merendam bungkil *Arachis hypogaea* dengan air matang selama 24 jam hingga air rendaman mencapai pH 3,5, proses pengasaman menggunakan baskom hingga permukaan *Arachis hypogaea* terendam. *Arachis hypogaea* yang telah melewati proses pengasaman dilakukan proses pengukusan tertutup dengan api sedang selama 30 menit hingga matang. Setelah matang selanjutnya meniriskan *Arachis hypogaea* pada wadah kering hingga mencapai suhu 25°C. Bungkil *Arachis hypogaea* yang telah dingin masuk ke tahap peragian menggunakan ragi jenis *Rhizopus oligosporus* dengan ragi sebanyak 1gr untuk *Phaseolus vulgaris* 1kg. Proses peragian diawali dengan melarutkan 1 gr ragi dalam 100 ml air, kemudian campurkan larutan ragi ke dalam bungkil *Arachis hypogaea*. Pencampuran bungkil *Arachis hypogaea* dengan ragi menggunakan baskom hingga semua kacang terbaluri ragi. Tahapan terakhir yaitu membungkus bungkil *Arachis hypogaea* berragi ke dalam plastik mika ukuran sedang yang sudah terlubangi bagian tutup dan dasar mika menggunakan jarum. Proses fermentasi memerlukan waktu 24-48 jam dalam ruangan bersuhu 27°C hingga bungkil *Arachis hypogaea* berubah menjadi tempe bungkil *Arachis hypogaea*<sup>13</sup>.

### Pembuatan Tempe *Glycine max*

Langkah awal yaitu memilah *Glycine max* berkualitas baik (tidak keriput, tidak busuk) lalu mencuci hingga bersih. *Glycine max* mentah yang telah bersih selanjutnya masuk tahap perebusan. Perebusan *Glycine max* selama 60 menit menggunakan panci tertutup hingga *Glycine max* berubah warna putih atau setengah matang. *Glycine max* kemudian masuk tahap proses pengasaman dengan merendam *Glycine max* selama 24 jam hingga air mencapai pH 3,5 proses pengasaman menggunakan baskom hingga permukaan *Glycine max* terendam. *Glycine max* yang telah melewati tahap pengasaman selanjutnya melakukan perebusan kedua selama 30 menit menggunakan panci yang tertutup hingga matang. Setelah matang selanjutnya meniriskan *Glycine max* pada wadah kering hingga

mencapai suhu 25°C. *Glycine max* yang telah dingin masuk ke tahap peragian menggunakan ragi jenis *Rhizopus oryzae* dengan ragi sebanyak 1gr untuk *Glycine max* 1kg. Proses peragian diawali dengan melarutkan 1 gr ragi dalam 100 ml air, kemudian campurkan larutan ragi ke dalam *Glycine max*. Pencampuran *Glycine max* dengan ragi menggunakan baskom hingga semua kacang terbaluri ragi. Tahapan terakhir yaitu membungkus *Glycine max* berragi ke dalam plastik mika ukuran sedang yang sudah terlubangi bagian tutup dan dasar mika menggunakan jarum. Proses fermentasi memerlukan waktu 24-48 jam dalam ruangan bersuhu 27°C hingga *Glycine max* berubah menjadi tempe *Glycine max*<sup>13</sup>.

### Pembuatan Simplisia Tempe

Tempe yang akan digunakan untuk proses ekstraksi yaitu dalam bentuk serbuk. Pembuatan serbuk tempe dibuat dengan proses pengeringan menggunakan oven. Tahap pertama memotong tempe menjadi bagian kecil kira kira berukuran 1cm agar lebih memudahkan proses pengeringan, lalu di oven selama 72 jam dengan suhu 50°C hingga kering. Selanjutnya, menghaluskan tempe yang telah kering menggunakan penggiling halus hingga menjadi serbuk tempe<sup>14</sup>.

### Tahap Ekstraksi Tempe

Proses ekstraksi diawali dengan mencampurkan 100 gr serbuk tempe dan pelarut etanol 70% sebanyak 1L, tempat maserasi menggunakan beaker glass kapasitas 2L dan ditutup menggunakan aluminium foil. Tahap maserasi terjadi selama 72 jam, selanjutnya menyaring rendaman menggunakan kertas saring, proses penyaringan diulang dua kali agar mendapat larutan yang jernih. Langkah selanjutnya yaitu menguapkan larutan maserat menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C dan putaran 120 rpm. Setelah etanol tidak menetes, ambil ekstrak dan dilanjutkan proses penguapan menggunakan oven pada suhu hingga didapatkan ekstrak kental.

### Penentuan Kadar Total Fenol Ekstrak Tempe Pembuatan Larutan Induk Asam Galat

Larutan asam galat dibuat dengan mencampur 10 mg asam galat dalam etanol 200 ml sehingga didapatkan konsentrasi 50ppm. Konsentrasi tersebut diencerkan kembali sehingga didapatkan variasi konsentrasi 50 ppm; 40 ppm; 30 ppm; 20 ppm; 10 ppm<sup>18</sup>.

### Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

Larutan asam galat dengan berbagai konsentrasi diambil 100µL dalam botol vial dan ditambahkan 0,75 ml 7% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> lalu diinkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang. Setelah menginkubasi larutan tambahkan reagen *Folin-Ciocalteu* 0,75 ml lalu diinkubasi kembali selama 15 menit dalam suhu 45° C. Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Epoch Biotek-USA) dengan panjang gelombang 735 nm dan didapatkan kurva kalibrasi asam galat serta persamaan

garis linier  $y = ax + b$  menggunakan *microsoft excel*<sup>15</sup>.

### Penentuan Kadar Total Fenol Sampel

Sebanyak 10 mg ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* dilarutkan dalam etanol 10 ml. Setiap larutan diambil 100 $\mu$ L dalam botol vial dan ditambahkan 0,75 ml 7%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  lalu diinkubasi selama 5 menit dalam suhu ruang. Setelah inkubasi ditambahkan reagen *Folin-Ciocalteu* 0,75 ml lalu diinkubasi selama 15 menit dalam suhu 45 $^\circ$  C. Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 735 nm. Pengujian sampel dilakukan pengulangan 2 kali. Kadar total fenol ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* didapatkan dengan mensubstitusikan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan regresi linier asam galat lalu didapatkan kadar total fenolnya yang disajikan dalam satuan mg ekuivalen asam galat / gram sampel (mg/GAE/g)<sup>15</sup>.

### Pengukuran Aktivitas Antioksidan

#### Penetapan Panjang Gelombang Larutan Blanko

Larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 40 ppm yaitu 2 mg DPPH di larutkan dalam etanol 50 ml lalu diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap dan suhu ruang. Setelah diinkubasi, mencari panjang gelombang maksimal larutan DPPH menggunakan spektrofotometri UV-Vis UV-Vis (Epoch Biotek-USA) dan akan didapatkan nilai absorbansinya<sup>15</sup>.

#### Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tempe

Sejumlah 10 g ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* dilarutkan dengan etanol 10 ml sehingga didapatkan konsentrasi 1000 ppm dan diencerkan hingga mendapat variasi konsentrasi 1000ppm; 500ppm; 250ppm; 125ppm; 62,5ppm; dan 31,25ppm. Larutan uji di inkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap dan suhu ruang. Setelah proses inkubasi, setiap konsentrasi larutan sampel dipipet 0,5 ml untuk ditambahkan pada 0,5 ml larutan DPPH dengan perbandingan 1:1. Campuran ekstrak sampel dan DPPH kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan pada uji larutan blanko.

Nilai absorbansi digunakan untuk menghitung %Inhibisi dengan rumus:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Abs.Blanko} - \text{Abs.Sampel}}{\text{Abs.Blanko}} \times 100\% \dots \dots (1)$$

Setelah didapatkan nilai persen inhibisi, dibuat kurva regresi linier dengan persamaan  $y = ax + b$  menggunakan *microsoft excel*. Substitusikan nilai y 50 sehingga didapatkan nilai x sebagai nilai  $\text{IC}_{50}$ <sup>15</sup>.

### Analisis data

Data yang diperoleh dikonversi menggunakan SPSS (*Software Statistical Product and Service Solution*). Pengujian pertama yaitu uji normalita menggunakan Shapiro-Wilk untuk mengetahui distribusi data normal, jika normal dilanjutkan uji

homogenitas menggunakan levene test dan uji parametrik menggunakan uji statistik ANOVA (*One Way Analysis Of Varians*). Data dinyatakan signifikan jika  $p < 0,05$ .

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

### Perbedaan Kadar Total Fenol Tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* *Glycine max*

#### Hasil Penentuan Kurva Kalibrasi Larutan Induk Asam Galat

Larutan asam galat yang dibuat variasi konsentrasi dan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis akan didapatkan nilai absorbansinya lalu dibuat kurva kalibrasi asam galat sehingga mendapatkan persamaan regresi liniernya. Kurva kalibrasi dibuat untuk mengetahui hubungan nilai absorbansi atau serapan dengan konsentrasi sampel. Persamaan regresi linier ini selanjutnya digunakan menetapkan kadar fenol total pada ekstrak tempe.

#### Hasil Pengukuran Kadar Total Fenol

Penghitungan kadar fenolik total tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* menggunakan persamaan regresi linier yang hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Kadar total fenol didapatkan dengan mensubstitusikan nilai y adalah absorbansi dari ekstrak tempe, sehingga akan diperoleh nilai X sebagai nilai total fenol dengan satuan (mg GAE/ g ). Hasil pengukuran kadar total fenol dari ketiga jenis tempe yaitu ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* dapat dilihat pada (**Tabel 1**).

Berdasarkan hasil perhitungan, kandungan total fenol dari dalam tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* secara berurutan yaitu 107,88 $\pm$ 1,55 mg GAE/g ; 3,11  $\pm$ 1,27 mg GAE/g; 43,91  $\pm$  1,16 mg GAE/g. Kadar total fenol tertinggi terdapat pada ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris* dengan nilai *Arachis hypogaea* tanah dan tempe *Glycine max*. Nilai tersebut memiliki arti dalam setiap gram ekstrak setara dengan 107,88 mg asam galat. Nilai total fenol terendah didapati pada *Arachis hypogaea* dengan nilai 3,11 mg GAE/g, artinya dalam setiap gram ekstrak setara dengan 3,11 mg asam galat.

Analisa data statistik penelitian menunjukkan hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* dari uji kadar total fenol pada ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* memiliki nilai  $p > 0,05$  yang bermakna bahwasannya data tersebut terdistribusi normal. Dilanjutkan dengan uji homogenitas dan didapatkan nilai  $p > 0,05$  yang memiliki makna data tersebut memiliki varian yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Hasil uji Anova didapatkan nilai  $p < 0,05$  yang menunjukkan bahwasannya ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* memiliki perbedaan kadar total fenol bermakna.

**Tabel 1. Hasil Pengukuran Kadar Fenolik Total Ekstrak Tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max***

Sampel	Replikasi	Kadar Total Fenol (mg GAE/g)	$\bar{X} \pm SD$ (mg GAE/g)
Tempe <i>Phaseolus vulgaris</i>	1	106,25	107,88 ± 1,55*
	2	108,08	
	3	109,33	
Tempe <i>Arachis hypogaea</i>	1	4,5	3,11 ± 1,27*
	2	2,83	
	3	2	
Tempe <i>Glycine max</i>	1	42,75	43,91 ± 1,16*
	2	43,91	
	3	45,08	

**Keterangan :** Hasil pengukuran kadar fenolik total ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* didapatkan dengan mengukur absorbansi setiap ekstrak tempe lalu nilai absorbansi disubstitusi pada persamaan regresi linier sehingga didapatkan hasil kadar total fenol. Analisa statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan hasil signifikansi  $p \leq 0.05$ . Tanda (\*) menandakan adanya perbedaan yang signifikan antar ketiga tempe.

**Tabel 2. Aktivitas antioksidan Ekstrak Tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max***

Sampel	Konsentrasi Sampel (ppm)	$\bar{X}$ %Inhibisi	$\bar{X}$ IC <sub>50</sub> (µg/mL)
Tempe <i>Phaseolus vulgaris</i>	31,25	43,7877	312,12*
	62,5	43,8961	
	125	45,6185	
	250	49,3483	
	500	55,463	
	1000	63,9183	
Tempe <i>Arachis hypogaea</i>	31,25	42,3986	560,23*
	62,5	44,2856	
	125	43,4987	
	250	46,9675	
	500	50,8057	
	1000	54,644	
Tempe <i>Glycine max</i>	31,25	35,493	623,14*
	62,5	38,998	
	125	41,0416	
	250	46,0321	
	500	48,2924	
	1000	56,1335	
Vitamin C	0,195	44,8244	0,62*
	0,4	48,7249	
	0,8	52,4258	
	1,565	53,781	
	3,125	67,7746	
	6,25	76,6698	

**Keterangan:** Hasil pengukuran aktivitas antioksidan yang berupa nilai IC<sub>50</sub> pada ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* didapatkan rata-rata nilai terendah pada control positif vitamin C yaitu 0,624, sedangkan pada ketiga tempe nilai terendah didapati oleh tempe *Phaseolus vulgaris* bernilai 312,12. Analisa statistik menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan hasil dengan signifikansi  $p \leq 0.05$ . Tanda (\*) menandakan adanya perbedaan yang signifikan antar ketiga jenis tempe.

## Perbedaan Aktivitas Antioksidan Tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*

### Hasil Pengukuran Larutan Blanko

Larutan blanko atau larutan DPPH yang dibuat dengan konsentrasi 40 ppm ini didapatkan gelombang maksimumnya pada 515 nm dan nilai absorbansi 0,830246. Pengukuran didapatkan dari hasil spektrofotometri UV-Vis.

### Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tempe

Ekstrak tempe dengan variasi konsentrasi yang dicampurkan dengan larutan DPPH juga kontrol pembanding vitamin C diukur absorbansinya. Nilai absorpsi yang didapatkan akan menghasilkan persamaan regresi linier pada setiap ekstrak tempe dan vitamin C. Persamaan regresi linier ini digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$  dari masing - masing ekstrak tempe dan vitamin C dengan mencari nilai x. Nilai y diganti dengan 50 karena untuk mencari 50% hambatan pada radikal bebas. Hasil perhitungan dari tempe kacang merah, kacang tanah, kacang kedelai dan vitamin C akan mendapatkan nilai  $IC_{50}$  yang dapat dilihat pada (Tabel 2).

Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai rata - rata  $IC_{50}$  yang didapati pada ekstrak *Phaseolus vulgaris* sebesar 312,12 ppm memiliki nilai yang lebih kecil secara signifikan dibandingkan dengan ekstrak tempe *Arachis hypogaea* 560,23 ppm dan *Glycine max* 623,14 ppm. Standart vitamin C yang digunakan sebagai pembanding memiliki nilai rata - rata  $IC_{50}$  sangat rendah dibandingkan tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* yaitu 0,62 ppm. Nilai  $IC_{50}$  pada tempe *Phaseolus vulgaris* ini bermakna bahwa dibutuhkan konsentrasi 312,12 ppm untuk dapat menghambat 50% radikal bebas (DPPH).

Analisa data statistik penelitian menunjukkan hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* dari uji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH pada ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* memiliki nilai  $p > 0,05$  yang bermakna bahwasannya data tersebut terdistribusi normal. Dilanjutkan dengan uji homogenitas dandapatkan nilai  $p > 0,05$  yang memiliki makna data tersebut memiliki varian yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Hasil uji *Anova* didapatkan nilai  $p < 0,05$  yang menunjukkan bahwasannya ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* memiliki perbedaan aktivitas antioksidan yang bermakna.

## PEMBAHASAN

### Perbedaan Kadar Total Fenol Tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*

Kadar fenol tertinggi dari ketiga tempe yaitu *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine*

*max*. Metode *Folin-Ciocalteu* yang digunakan dalam uji total fenol memiliki prinsip kerja dengan adanya proses reduksi reagen *Folin-Ciocalteu* yang mengandung asam heteropoli (fosfomolibdat - fosfungstat) oleh gugus hidroksi fenolik menjadi kompleks molibdenum - tungsten<sup>16</sup>. Pada proses pengujian ditambahkan  $Na_2CO_3$  untuk menciptakan keadaan larutan yang basa, dikarenakan senyawa fenolik hanya dapat bereaksi dengan reagen Folin dalam suasana basa. Pengujian secara kualitatif dapat terlihat larutan yang sudah direaksikan akan muncul warna biru akibat adanya proses reaksi reduksi, semakin pekat warna biru maka ion fenolik yang mereduksi asam heteropoli semakin banyak<sup>17</sup>.

*Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* yang termasuk golongan *leguminoceae* yang diketahui banyak mengandung senyawa fenolik<sup>8</sup>. Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder, secara struktural senyawa fenolik memiliki gugus hidroksil satu atau lebih dan dari molekul hingga senyawa kompleks. terdapat subkelompok yang terdapat pada senyawa fenolik yaitu asam fenolat, flavonoid, tanin, stilbenes, kumarin dan tanin<sup>18</sup>. Diketahui senyawa- senyawa meabolit sekunder ini paling banyak terkandung dalam kulit biji dibandingkan yang terkandung dalam kotiledonnya<sup>19</sup>. Pada penelitian lain oleh Fidrianny 2016 menjelaskan bahwasannya pada *Phaseolus vulgaris* penyumbang utama aktivitas antioksidannya yaitu senyawa fenol dan pada uji total flavonoid juga total kumarin diketahui *Phaseolus vulgaris* memiliki kadar yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*<sup>12</sup>. Hal tersebut sebanding dengan hasil penelitian ini dimana kadar total fenol pada tempe *Phaseolus vulgaris* lebih tinggi dibandingkan dengan tempe *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*.

Proses fermentasi pada kacang - kacangan menjadi tempe juga mempengaruhi kandungan antioksidan dalam kacang jadi lebih meningkat. Meningkatnya antioksidan ini salahsatunya ada proses perubahan isoflavon glikosida menjadi senyawa aglikon, dimana senyawa bentuk aglikon memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan isoflavon glukosida<sup>4</sup>. Kandungan polifenol ini memiliki fungsi untuk mengatur enzim - enzim dalam tubuh dengan memberi sinyal dan mempengaruhi reaksi oksidasi-reduksi metabolik sel, juga dapat menurunkan *reactive oxygen species* (ROS) dalam sel<sup>20</sup>.

### Perbedaan Aktivitas Antioksidan Tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*

Tempe merupakan makanan yang berbahan dasar dari kacang - kacangan atau golongan *Fabaceae* atau *Leguminosae*. Kacang - kacangan ini mengandung campuran cadangan energi, mineral, dan berbagai fitokimia yang kesemuanya disimpan dalam biji untuk memberikan nutrisi untuk

perkembangan<sup>7</sup>. Fitokimia ini sebagian besar merupakan metabolit sekunder yang terus-menerus disintesis oleh tanaman untuk tujuan defensif, salah satunya antioksidan. Salah satu kelas utama antioksidan alami yang ditemukan pada tanaman yang menghilangkan radikal bebas tersebut adalah polifenol. Polifenol mampu menetralkan radikal bebas, mengais oksigen singlet dan triplet, serta memecah peroksida<sup>21</sup>. Senyawa golongan polifenol salah satunya flavonoid dan memiliki turunannya yaitu isoflavon<sup>11</sup>. Kandungan isoflavon pada golongan *Leguminoceae* atau kacang-kacangan seperti kacang kedelai (*Glycine max*), kacang tanah (*Arachis hypogaea l.*), kacang merah (*Phaseolus vulgaris l.*) paling banyak berupa isoflavon daidzin, glycitin, genistin yang merupakan senyawa bentuk glikosida<sup>6,7</sup>. Kacang – kacang yang diberikan perlakuan fermentasi seperti dalam pembuatan tempe, maka akan meningkatkan kadar antioksidan didalamnya<sup>22</sup>. Peningkatan kadar antioksidan dalam tempe ini dikarenakan adanya proses pembebasan senyawa gula dari senyawa glikosida yang merubah bentuk isoflavon glukosida menjadi isoflavon aglikon yang lebih tinggi aktivitas antioksidannya<sup>4,23</sup>. Pengujian aktivitas antioksidan salah satunya menggunakan metode DPPH seperti yang dilakukan pada penelitian ini.

Pengujian DPPH dipilih karena merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat dan pereaksi yang dibutuhkan sedikit namun sensitif<sup>24</sup>. Pengujian DPPH didasarkan pada adanya transfer elektron (SET) dan dapat pula karena adanya reaksi transfer atom hidrogen (HAT), sehingga senyawa DPPH (*2,2-diphenyl- 1-picrylhydrazyl radical*) dapat mereduksi atom hidrogen pada sampel<sup>25</sup>. Perubahan yang terjadi pada senyawa DPPH yaitu dari radikal dipheylpicrylhydrazyl menjadi senyawa yang non radikal yaitu diphenylpicrylhydrazine, pada skrining kualitatif terlihat perubahan warna ungu menjadi kuning akibat adanya proses reduksi<sup>26</sup>. Semakin tinggi aktivitas antioksidan maka semakin banyak pula kandungan hidrogen yang dimiliki oleh sampel tersebut.

Aktivitas antioksidan dilihat berdasarkan nilai *Inhibition Concentration* (IC<sub>50</sub>) yaitu konsentrasi sampel yang dapat mereduksi 50% aktivitas radikal bebas dari DPPH. Semakin rendah nilai IC<sub>50</sub> maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidan pada sampel<sup>27,28</sup>. Kadar aktivitas antioksidan tempe *Phaseolus vulgaris* jauh lebih lemah dibandingkan dengan vitamin C murni dikarenakan ekstrak tempe merupakan ekstrak kasar yang bukan senyawa murni, sedangkan vitamin C merupakan senyawa isolat yang murni<sup>29</sup>. Terdapat hubungan antara kadar total fenol dengan aktivitas antioksidan yaitu semakin tinggi kadar total fenol maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidan<sup>30</sup>.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Hal tersebut berbanding lurus dengan hasil pada tempe *Phaseolus vulgaris*, dimana kadar total fenol dan aktivitas antioksidannya tertinggi.

Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder, secara struktural senyawa fenolik memiliki gugus hidroksil satu atau lebih dan dari molekul hingga senyawa kompleks. terdapat subkelompok yang terdapat pada senyawa fenolik yaitu asam fenolat, flavonoid, tanin, stilbenes, kumarin dan tanin<sup>18</sup>. Mekanisme reaksi senyawa fenolik dengan senyawa radikal yaitu melibatkan transfer kation hidrogen dari fenol ke radikal, membentuk keadaan transisi ikatan H-O dengan satu elektron<sup>31</sup>. Senyawa flavonoid yang paling banyak terkandung pada kacang-kacangan yaitu golongan isoflavon. Pada penelitian fidrianny,2016 menyatakan *Phaseolus vulgaris* pada uji kadar total flavonoid memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*, dan pada penelitian oleh Primiany,2018 pada uji HPLC komponen isoflavon pada *Phaseolus vulgaris* kadarnya lebih tinggi dibandingkan dengan *Arachis hypogaea*<sup>12,32</sup>. Hasil penelitian oleh Damayanti, 2020 menunjukkan bahwa pada *Phaseolus vulgaris* yang diuji menggunakan LCMS didapatkan senyawa aktif genestein (0,5%), daidzein (14,9%), biochanin A (45,5%), glycitein (25,8%) dan Formononetin (13%)<sup>33</sup>. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa potensi antioksidan yang tinggi pada *Phaseolus vulgaris* diduga disebabkan oleh aktivitas isoflavon sebagai komponen senyawa polifenol tertinggi dalam tanaman kacang – kacang.

## KESIMPULAN

Jenis tempe *Phaseolus vulgaris* memiliki kadar total fenol dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari pada tempe berbahan dasar *Arachis hypogaea* dan *Glycine max*. *Phaseolus vulgaris* dapat dikembangkan dan dijadikan diversifikasi tempe.

## SARAN

1. Penelitian bisa dilanjutkan dengan metode *in vivo* untuk melihat bagaimana aktivitas antioksidan secara langsung pada organ sel.
2. Proses ekstraksi yang digunakan harus sesuai pelarut yang dipilih, sehingga suhu dan kecepatan tepat dan tidak mempengaruhi kandungan senyawa yang didapatkan.
3. Melakukan skrining fitokimia terlebih dahulu pada ekstrak tempe *Phaseolus vulgaris*, *Arachis hypogaea* dan *Glycine max* sehingga dapat diketahui senyawa apa saja yang terkandung didalamnya.

yang telah mendanai penelitian ini serta tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini.



## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kustyawati ME. Kajian Peran Yeast dalam Pembuatan Tempe. **Agritech J Fak Teknol Pertan UGM**. 2012;29(2).
- [2] Maryam S. Kadar Antioksidan dan IC<sub>50</sub> Tempe Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris* L) yang Difermentasi dengan Lama Fermentasi Berbeda. **Prosiding Seminar Nasional FMIPA UNDHIKSHA V Tahun 2016**. 2015;0(0):347–52.
- [3] Amarowicz R. Legume seeds as an important component of human diet. **Foods**. 2020;9(12):9–12.
- [4] Widoyo S, Handajani S, Nandariyah. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Serat Kasar dan Aktivitas Antioksidan Tempe Beberapa Varietas Kedelai. **Biofarmasi**. 2015;13(2):59–65.
- [5] Radiati A, Sumarto. Analisis Sifat Fisik, Sifat Organoleptik, dan Kandungan Gizi pada Produk Tempe dari Kacang Non-Kedelai. **J Apl Teknol Pangan**. 2016;5(1):16–22.
- [6] Irianti, T. T., Sugiyanto, Nuranto S., Kuswandi, 2017. *Antioksidant*. Edisi I. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta. 2017.
- [7] Allen LH. *Legumes*. **Encyclopedia of Human Nutrition**. 2012;3–4:74–9.
- [8] López-Cortez M del S, Rosales-Martínez P, Arellano-Cárdenas S, Cornejo-Mazón M. Antioxidants Properties and Effect of Processing Methods on Bioactive Compounds of Legumes. **Grain Legum**. 2016;
- [9] Sayuti, K., Yenrina, R., *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Edisi I. **Andalas University Press : Padang**. 2015
- [10] Werdhasari, A., 2014. *Peran Antioksidan Bagi Kesehatan*. **Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia**, 2014;3(2), 59–68.
- [11] Parwata MOA. Bahan Ajar Antioksidan. Kimia Terapan Program Pascasarjana Univ Udayana. 2016;(April):1–54.
- [12] Fidrianny I, Elviana D, Ruslan K. In vitro antioxidant activities in various beans extracts of five legumes from west of java-indonesia using DPPH and ABTS methods. **International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research**. 2016;8(3):470–6.
- [13] Suknia SL, Rahmani TPD. Proses Pembuatan Tempe Home Industry Berbahan Dasar Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr) dan Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Di Candiwesi, Salatiga. **Southeast Asian Journal of Islamic Education**. 2020;03(01):59–76.
- [14] Eny R. Aktivitas Antioksidan Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Yang Difermentasi Oleh Ragi Tempe. 2017. 19 p. Depkes RI, Farmakope Herbal Indonesia, Edisi II, Departemen Kesehatan RI: Jakarta. 2017;213–8.
- [16] Ford L, Theodoridou K, Sheldrake GN, Walsh PJ. A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. **Phytochem Anal**. 2019;30(6):587–99.
- [17] Martono Y, Novitasari F, Rianto N. Combination of Stevia rebaudiana, Curcuma zanthorrhiza and Honey Determination of Shelf Life of Herbal Products from the (Stekurmin MD) through the Accelerated Shelf Life Test (ASLT) Method. **Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi**. 2020;23:325–32.
- [18] Nayak B, Liu RH, Tang J. Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains—A Review. **Crit Rev Food Sci Nutr**. 2015;55(7):887–918.
- [19] Diniyah N, Lee SH. Komposisi Senyawa Fenol dan Potensi Antioksidan dari Kacang-Kacangan: Review Phenolic Composition and Antioxidant Potential of Legumes – A Review. **J Agroteknologi**. 2020;14(01):91–102.
- [20] Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. **Pharmacol Res**. 2013;68(1):125–31.
- [21] Chew YL, Ling Chan EW, Tan PL, Lim YY, Stanslas J, Goh JK. Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. **BMC Complement Altern Med**. 2011;11.
- [22] Maryam S. ( *Phaseolus Vulgaris* L ) Pada Berbagai Lama Fermentasi. 2016;363–8.
- [23] Istiani Y. Ekstrak etanol tempe berbahan baku koro pedang (*Canavalia ensiformis*). **J Pasca Sarj Univ Sebel Maret Surakarta**. 2010;90.
- [24] Mambang DEP, Suryanto D. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri *Bacillus Subtilis* Dan *Staphylococcus aureus* [ Antibacterial Activity of Tempe Extracts on *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* ]. 2014;
- [25] Liang N, Kitts DD. Antioxidant property of coffee components: Assessment of methods that define mechanism of action. **Molecules**. 2014;19(11):19180–208.
- [26] Setiawan F, Yunita O, Kurniawan A. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang dan FRAP. **Media Pharm Indones**. 2018;2(2):82–9.
- [27] Indra I, Nurmalasari N, Kusmiati M. Fenolik Total, Kandungan Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Mareme (*Glochidion arborescense* Blume.). **Jurnal**



- Sains Farmasi & Klinis*. 2019;6(3):206.
- [28] Marinova G, Batchvarov V. methods DPPH. **Bulg J Agric Sci**. 2011;17(1):11–24.
- [29] Amin A, Wunas J, Anin Y.M., Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Klika Faloak (*Sterculia Quadrifida* R.Br) Dengan Metode Dpph (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl). **Fitofarmaka**. 2013;2(2):111–4.
- [30] Lushaini S, Wibowo MA, Ardiningsih P. Kandungan Total Fenol , Aktivitas Aantioksidan dan Sitotoksik Daun Kedadai ( *Ficus variegata* Blume ). **J Kim Khatulistiwa**. 2015;4(2):1–5.
- [31] Francenia Santos-Sánchez N, Salas-Coronado R, Villanueva-Cañongo C, Hernández-Carlos B. Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. *Antioxidants*. 2019;1–28.
- [32] Primiani CN, Widiyanto J, Rahmawati W, Chandrakirana G. Profil Isoflavon Sebagai Fitoestrogen pada Berbagai Leguminosae Lokal Isoflavones Profile as Phytoestrogens in Various Local Leguminosae. **Proceeding Biol Educ Conf**. 2018;15(1):704–8.
- [33] Damayanti DS. Potency of *Vigna angularis* against ER $\alpha$  through in silico studies **Jurnal Kesehatan Islam**. 2020;9(2):49–54.