

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tempe

Tempe merupakan makanan tradisional Indonesia, khususnya Jawa yang dibuat dari fermentasi oleh jamur *Rhizopus sp* pada bahan baku kedelai maupun non kedelai. Tempe juga dapat diartikan sebagai produk makanan yang dihasilkan melalui proses fermentasi dengan menggunakan ragi sebagai bahannya. Tempe banyak diminati oleh masyarakat karena memiliki banyak kandungan gizi seperti lemak, protein, mineral, asam fitat, karbohidrat, oligosakarida, vitamin B12, dan sebagai antioksidan seperti isoflavon¹² sehingga dapat menguntungkan bagi kesehatan manusia. Tempe dihasilkan dari fermentasi kedelai oleh kapang *Rhizopus sp*. Kapang yang tumbuh akan membentuk *hifa*, yaitu benang putih yang menyelimuti permukaan biji kedelai dan membentuk jalinan *misellium* yang mengikat biji kedelai satu sama lain, membentuk struktur yang kompak dan padat.



Gambar 2.1 Tempe

Tabel 2.1. Kandungan Komposisi Zat Gizi Tempe

Zat Gizi	Satuan	Komposisi Zat Gizi 100 Gram BDD	
		Kedelai	Tempe
Energi	Kal	381	201
Protein	Gram	40,4	20,8
Lemak	Gram	16,7	8,8
Hidrat Arang	Gram	24,9	13,5
Serat	Gram	3,2	1,4
Abu	Gram	5,5	1,6
Kalsium	Mg	222	155
Fosfor	Mg	682	326
Besi	Mg	10	4
Karotin	Mkg	31	34
Vitamin B1	Mg	0,52	0,19
Air	Gram	12,7	55,3
BDD*	%	100	100

(Sumber Komposisi Zat Pangan Indonesia Departemen Kesehatan RI Dir. Bin Gizi Masyarakat dan Puslitbang Gizi, 1991)

2.1.1 Proses pembuatan Tempe

Proses Pembuatan tempe adalah sebagai berikut:

1. Pencucian dan Pembersihan

Tahap pencucian dan pembersihan merupakan tahap pertama dalam pengolahan tempe. Tahap ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran dan kontaminan lainnya seperti serangga, tanah, dan bahan asing lainnya. Biji kedelai yang digunakan untuk pengolahan tempe harus bersih, tidak tercampur dengan benda asing seperti kerikil, batu, dan biji lainnya, serta bentuk biji kedelai sebaiknya seragam. Penggunaan air pencuci yang bersih dengan jumlah yang cukup diharapkan dapat menghilangkan semua kotoran yang terdapat padakedelai. Proses pencucian kedelai dapat dilakukan sekali atau berkali-kali bergantung pada kondisi awal kedelai sampai diperoleh kedelai bersih.

2. Pengupasan

Pengupasan merupakan salah satu tahap penting dalam proses pengolahan tempe. Kulit ari yang masih tersisa karena pengulitan yang tidak sempurna akan mengakibatkan inokulum tidak dapat tumbuh dengan baik. Metode pengupasan dapat dilakukan dengan cara kering atau cara basah. Metode pengupasan cara kering dilakukan sebelum proses perendaman kedelai dan dilakukan dengan menggunakan peralatan mekanis. Kedelai dipanaskan menggunakan oven pada suhu 93°C selama 10 menit, selanjutnya kedelai dikupas kulit arinya menggunakan aspirator atau gravitasi aspirator (Steinkraus *et al.* 1983). Metode ini sangat efisien dan hanya memerlukan tenaga kerja sedikit. Sebaliknya, pengupasan basah dilakukan setelah pencucian dan perendaman atau setelah pemasakan. Pengupasan dilakukan secara manual dengan tangan untuk memisahkan kulit ari dari kedelai, sehingga tidak diperlukan peralatan mekanis. Namun karena banyak menggunakan tenaga kerja, maka cara ini tidak cocok untuk produksi tempe skala besar.

3. Perendaman

Pada saat proses perendaman, biji kedelai akan mengalami proses hidrasi sehingga terjadi kenaikan kadar air biji kedelai. Beberapa peneliti menyebutkan kenaikannya dapat mencapai dua kali dari kadar air awal. Proses perendaman dapat dilakukan pada suhu kamar (sekitar 30 °C) selama 12-15 jam, untuk memberikan kondisi asam, beberapa peneliti menambahkan asam laktat (<0.5%)

atau asam asetat (<0.25%). Kondisi asam pada proses ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan memberikan kondisi awal yang baik untuk pertumbuhan kapang tempe.

4. Perebusan

Perebusan dilakukan setelah perendaman. Tujuan perebusan ini selain melunakkan kedelai adalah untuk memusnahkan mikroorganisme kontaminan, menginaktifkan tripsin-inhibitor, menyebabkan protein terdenaturasi yang akan lebih mudah digunakan oleh kapang, dan membebaskan beberapa nutrisi yang diperlukan untuk fermentasi kapang. Perebusan harus dilakukan dengan jumlah air yang cukup agar kematangan biji kedelai merata. Bergantung pada jumlah kedelai yang direbus, perebusan dapat berlangsung 2 hingga 4 jam.

5. Penirisan, Pendinginan, dan Pengeringan

Tahap penirisan, pendinginan, dan pengeringan bertujuan untuk mengurangi kandungan air, menurunkan suhu, dan mengeringkan permukaan biji kedelai. Secara tradisional setelah proses perebusan biasanya kedelai ditiriskan dan disebarkan pada wadah (nampan) bambu atau plastik. Winarno dan Reddy (1986), menyarankan menggunakan wadah berlubang untuk meniriskan kedelai setelah proses perebusan. Penirisan yang tidak sempurna akan memicu pertumbuhan bakteri sehingga dapat menyebabkan fermentasi gagal. Selanjutnya Winarno dan Reddy (1986), juga menyarankan bahwa kedelai sebaiknya didinginkan sampai mencapai suhu 38°C sebelum dilakukan inokulasi kapang.

6. Inokulasi

Penggunaan inokulum spora kapang (laru tempe) pada saat inokulasi memegang peranan penting pada keberhasilan produksi tempe. Penggunaan jenis dan jumlah laru berperan terhadap tempe yang dihasilkan. Penambahan laru tempe yang berlebihan akan mengakibatkan fermentasi tidak sempurna. Sebaliknya jika penambahan laru tempe kurang dapat mengakibatkan bakteri perusak tumbuh. Kondisi optimal pemberian laru tempe saat inokulasi adalah bila laru yang ditambahkan mengandung spora kapang sebanyak 6 log spora/100 gram kedelai yang telah direbus.

R. oryzae merupakan satu-satunya spesies kapang yang digunakan sebagai laru tempe, tetapi laporan berikutnya (Steinkraus *et al.* 1983) menyebutkan bahwa

R. oligosporus juga merupakan spesies kapang lainnya sebagai laru tempe. Shurtleff dan Aoyagi (1979), melaporkan bahwa *R. oligosporus* adalah spesies kapang utama yang terdapat pada pengolahan tempe di Indonesia dan Amerika Utara. *Rhizopus oligosporus* memiliki aktivitas protease dan lipase yang baik untuk fermentasi tempe. Selain *R. oligosporus*, spesies kapang lain yang berperan dalam pengolahan tempe adalah *R. oryzae*, *R. chinensis*, dan *R. arrhizus*. Steinkraus *et al.* (1983) menyarankan strain *Rhizopus* yang digunakan untuk pengolahan tempe harus memiliki karakteristik sebagai berikut.

- a. Tumbuh cepat pada suhu 33 - 37°C
- b. Memiliki aktivitas proteolitik yang tinggi
- c. Memiliki aktivitas lipolitik
- d. Dapat menghasilkan antioksidan yang tinggi
- e. Berkemampuan untuk menghasilkan tempe dengan flavor, aroma, dan tekstur yang khas

Proses pembuatan tempe kedelai meliputi pencucian, perendaman, perebusan pengupasan kulit ari bisa dengan manual / mesin pengupas, pencucian, perebusan dalam waktu yang lama pendinginan, penambahan ragi serta pengemasan dan fermentasi. Tahapan yang sangat penting dalam proses pembuatan tempe yaitu perendaman, perebusan dan fermentasi. Pada proses fermentasi pembuatan tempe terjadi sebanyak dua kali, yang pertama pada saat perendaman kedelai di dalam air. Pada perendaman ini terjadi pembentukan asam-asam organik seperti halnya asam laktat, dan juga asam asetat yang disebabkan oleh adanya pertumbuhan bakteri. Hal ini juga menyebabkan kedelai dalam keadaan asam sehingga memungkinkan terjadinya fermentasi oleh jamur *Rhizopus* sp. Fermentasi yang kedua terjadi pada saat setelah pemberian ragi dan pengemasan. Pada proses fermentasi inilah terbentuk hifa yang akan mengikat satu sama lain sehingga menjadikan tekstur tempe menjadi kompak dan lunak serta menjadikan warna tempe menjadi putih. Pada saat fermentasi berlangsung terjadi aktivitas enzim dalam setiap jenis jamur yang berperan dalam pembuatan tempe berbeda berdasarkan waktu fermentasi. Seperti halnya pada saat berlangsungnya aktivitas enzim amilase oleh jamur *Rhizopus oryzae* terjadi pada waktu fermentasi 0-12 jam

dan paling tinggi pada saat 12 jam, sedangkan pada jamur *Rhizopus oligosporus* terjadi pada waktu fermentasi 12-24 jam.

2.1.2. Standar Mutu Tempe

Tabel 2.2 Standar Kualitas Mutu Tempe

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan		
	1.1 Bau	-	Normal,khas
	1.2 Warna	-	Normal
	1.3 Rasa	-	Normal
2.	Kadar Air (b/b)	%	Maks. 65
3.	Kadar Abu (b/b)	%	Maks. 1,5
4.	Kadar Lemak (b/b)	%	Min.10
5.	Kadar Protein (N x 6,25) (b/b)	%	Min.16
6.	Kadar Serat Kasar (b/b)	%	Maks. 2,5
7.	Cemaran Logam		
	7.1. Kadmium (Cd)	mg/kg	Maks. 0,2
	7.2. Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 0,25
	7.3. Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40
	7.4. Merkuri (Hg)	mg/kg	Maks. 0,03
8.	Cemaran Arsen (As)	mg/kg	Maks. 0,25
9.	Cemaran Mikroba		
	9.1 Bakteri Coliform	APM/g	Maks. 10
	9.2 Salmonella sp	-	Negatif/25 g

(Sumber SNI 3144 : 2009)

2.2 Bunga Telang (Buterfly Blue Pea Flower)

2.2.1 Pengertian *Clitoria ternatea*

Clitoria ternatea ialah bunga yang dapat tumbuh sebagai tanaman hias maupun tanaman liar berkelopak tunggal mempunyai warna ungu. Selain itu, sejak zaman dulu *Clitoria ternatea* di dunia tradisional dikenal sebagai alternatif obat terapi mata serta perwarna alami makanan. Belakangan ini *Clitoria ternatea* juga sedang ramai dikonsumsi di seluruh dunia akibat dari tren the bunga yang populer melalui social media di Inggris dengan sebutan Butterfly Pea Tea (Andriani dan Murtisiwi, 2018).



Gambar 2.2 Bunga Telang

2.2.2 Kandungan Fitokimia *Clitoria ternatea*.

Tabel 2.3 Kandungan Senyawa Fitokimia Tanaman *Clitoria ternatea*.

Senyawa	Mmol/mg bunga
Antosianin	5,40 ± 0,23
Flavonoid	20,07 ± 0,55
Flavonol glikosida	14,66 ± 0,33
Kaempferol glikosida	12,71 ± 0,46
Mirisetin glikosida	0,04 ± 0,01
Quersetin glikosida	1,92 ± 0,12

(sumber : Anthika *et al.*, 2015.)

Tanaman *Clitoria ternatea* diketahui mengandung berbagai macam senyawa fitokimia. Fitokimia adalah senyawa kimia alami pada tanaman yang memiliki efek yang baik secara fisiologis terhadap manusia. Beberapa kandungan fitokimia pada tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea*) dimuat dalam Tabel 2.1.

Clitoria ternatea mempunyai warna selain ungu yaitu biru ada juga merah dikarenakan terkandung *anthocyanin* di dalamnya. Kandungan fitokimia *anthocyanin* tersebut mempunyai kadar konstan/kestabilan yang bagus sehingga mampu digunakan untuk pewarna nonsintetik di dunia industri pangan. Senyawa flavonol/flavonoid pada *Clitoria ternatea* (bunga telang) mampu digunakan untuk sumber vitamin C/antioksidan (Makasana *et al.*, 2017).

2.2.3 Manfaat *Clitoria ternatea*

a. Antioksidan

Clitoria ternatea mengandung antioksidan. Aktivitas antioksidan dalam mengelola stres oksidatif pada sistem biologis berlangsung melalui berbagai mekanisme seperti penangkapan radikal bebas, penghambatan enzim oksidatif, sebagai pengkelat ion logam, dan sebagai kofaktor enzim antioksidan (Marpaung, 2020). Dapat dibuktikan dengan warna kelopak bunganya yang terdapat antosianin. Zat tersebut bersifat sebagai antioksidan selain itu juga sebagai pigmen yang berasal dari flavonoid. Berbagai ekstrak solven daun *Clitoria ternatea* digunakan untuk menguji potensi antioksidannya dengan 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH). Semua ekstrak tersebut menunjukkan potensi aktivitas radikal bebas seiring peningkatan konsentrasi ekstrak – yang paling ampuh adalah ekstrak metanol, lalu kloroform kemudian terakhir adalah ekstrak petroleum ether.

b. Antimikroba

Ekstrak bunga telang mampu menekan pertumbuhan kuman *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Aeromonas formicans*, *Aeromonas hydrophila* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan pemeriksaan yang sudah dilakukan, ekstrak dari daun serta akarnya dinilai paling/sangat efektif membunuh berbagai jenis mikroorganisme, dan daun bunga telang ini menunjukkan hasil aktivitas anti-fungi sangat efektif untuk *Aspergillus niger* (Suganda dan Adhi, 2017).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan satu atau beberapa zat yang dapat larut dari suatu kesatuan yang tidak bisa larut dari suatu kesatuan yang tidak bisa larut dengan bantuan bahan pelarut. Adapun macam-macam dari metode ekstraksi adalah sebagai berikut :

1. Ekstraksi Secara Dingin

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan pelarut selama beberapa hari pada suhu kamar. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang

mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan pelarut, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian dengan mengalirkan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Keuntungan metode ini adalah tidak memerlukan langkah tambahan yaitu sampel padat (marc) telah terpisah dari ekstrak. Kerugiannya adalah kontak antara sampel padat tidak merata atau terbatas dibandingkan dengan metode refluks, dan pelarut menjadi dingin selama proses perkolasi sehingga tidak melarutkan komponen secara efisien.

2. Ekstraksi secara panas

a. Refluks

Merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relative konstan dengan adanya pendinginan balik. Ekstraksi refluks digunakan untuk mengekstraksi bahan-bahan yang tahan terhadap pemanasan.

b. Soxhletasi

Soxhletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan metode ini digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung, pelarut yang digunakan lebih sedikit dan pemanasannya dapat diatur.

c. Destilasi Uap

Merupakan metode yang populer untuk ekstraksi minyak-minyak menguap (esensial) dari sampel tanaman. Metode destilasi uap diperuntukkan untuk menyari simplisia yang mengandung minyak menguap atau mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal.

Pada penelitian ini menggunakan ekstraksi metode maserasi. Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan (Susanty & Fairus, 2016). Setelah proses ekstraksi dilakukan, senyawa dipisahkan pelarutnya. Pemisahan ini

dilakukan agar memperoleh ekstrak dengan senyawa kita inginkan. Pemisahan ini menggunakan rotary evaporator. Rotary evaporator merupakan suatu alat yang berfungsi untuk memisahkan suatu larutan dari pelarutnya dengan proses penguapan sehingga menghasilkan ekstrak dengan senyawa yang diinginkan. Kelebihan alat ini yaitu kerjanya cepat dan dapat memperoleh kembali pelarut yang digunakan dari hasil proses penguapannya.

Maserasi merupakan metode ekstraksi tanpa pemanasan dimana hasilnya dipengaruhi oleh jenis pelarut serta waktu maserasi (Wijayanti, LPMK, KW, & NPE, 2016). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi yaitu:

a. Perlakuan pendahuluan

Perlakuan pendahuluan dapat berpengaruh terhadap rendemen dan mutu ekstrak yang dihasilkan. Perlakuan pendahuluan meliputi pengecilan ukuran dan pengeringan bahan.

b. Temperatur

Kelarutan bahan yang diekstraksi dan difusivitas akan meningkat dengan meningkatnya temperatur. Namun temperatur yang terlalu tinggi dapat merusak bahan yang diekstrak, sehingga perlu menentukan temperatur optimum.

c. Faktor pengadukan

Pengadukan dapat mempercepat pelarutan dan meningkatkan laju difusi solute. Pegerakan pelarut di sekitar bahan akibat pengadukan dapat mempercepat kontak bahan dengan pelarut dan memindahkan komponen dari permukaan bahan ke dalam larutan dengan jalan membentuk suspensi serta melarutkan komponen tersebut ke dalam media pelarut.

2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang dapat mencegah atau memperlambat kerusakan sel akibat radikal bebas. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat dibagi menjadi 2 yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan alami merupakan senyawa antioksidan yang terdapat secara alami dalam tubuh sebagai mekanisme pertahanan tubuh normal maupun berasal dari asupan luar tubuh. Sedangkan antioksidan sintetis merupakan senyawa yang disintesis secara kimia. Salah satu sumber senyawa antioksidan adalah tanaman dengan kandungan senyawa polifenol yang tinggi (Ulfa, 2016). Secara umum ada 3 jenis antioksidan yang dapat ditemukan di alam, yaitu:

1. Enzim

Enzim merupakan jenis antioksidan yang tersusun dari protein dan berbagai mineral. Ketika berada dalam tubuh, enzim akan bersintesis. Dan agar enzim dapat berfungsi optimal, maka ia butuh rekan kerja berupa mineral seperti zat besi, tembaga, selenium, magnesium, serta zinc. Hal lain yang tak kalah penting untuk diketahui adalah, kualitas enzim yang diperoleh tubuh juga sangat tergantung dari kualitas makanan sumber protein yang kita konsumsi.

2. Vitamin

Dikarenakan tubuh manusia tidak bisa memproduksi vitamin sendiri, maka kita perlu mendapatkannya dari luar yaitu melalui makanan atau suplemen. Contoh antioksidan vitamin antara lain vitamin A, C, E, asam folat, serta beta karoten, yang masing-masing memiliki kegunaannya sendiri-sendiri.

3. Fitokemikal

Fitokemikal merupakan jenis antioksidan yang digunakan oleh tumbuhan untuk melindungi dirinya dari kerusakan akibat radikal bebas. Untungnya dari hasil pembuktian berbagai riset, kita juga bisa menikmati perlindungan tersebut saat mengonsumsi sumber pangan nabati. Hanya pastikan makanan yang dipilih bukanlah hasil proses, karena makanan yang sudah melewati proses biasanya mengandung fitokemikal sedikit atau bahkan tidak sama sekali. Secara garis besar, fitokemikal terbagi menjadi 4 kategori yaitu karotenoid, flavonoid, polifenol, dan alil sulfida.

Radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas adalah *1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl* (DPPH). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm. (Ulfa, 2016).

Metode peredaman radikal bebas DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan methanol, radikal bebas DPPH yang berwarna oleh penghambatan radikal bebas. Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan bahan pendonor elektron maka DPPH akan tereduksi, menyebabkan warna ungu akan memudar dan digantikan warna kuning yang berasal dari gugus pikril. (Cahyaningsih, 2019).

Aktivitas antioksidan dari ekstrak dinyatakan dalam persen penghambatannya terhadap radikal DPPH. Persentase penghambatan ini didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi DPPH dalam metanol dengan absorbansi sampel yang diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Selanjutnya, persamaan regresi yang diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi sampel dengan persen penghambatan DPPH digunakan untuk mencari nilai IC₅₀. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC₅₀, yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH (Adrianta, 2017).

Menurut Ariyanto (2006), tingkatan kekuatan antioksidan pada metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.4 Tingkatan Aktivitas Antioksidan pada Metode DPPH

Nilai	Tingkatan
IC ₅₀ < 50 µg/mL	Sangat kuat
IC ₅₀ 50-100 µg/mL	Kuat
IC ₅₀ 101-150 µg/mL	Sedang
IC ₅₀ > 150 µg/mL	Lemah

(Ariyanto, 2006)

DPPH memiliki keunggulan dimana metode analisisnya yang bersifat sederhana, cepat, mudah, dapat digunakan dalam sample jumlah kecil, sensitif

terhadap sampel dengan konsentrasi yang kecil dan senyawa radikal DPPH yang digunakan bersifat relatif stabil dibanding metode lainnya. DPPH juga memiliki kekurangan yang mana DPPH hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik sehingga agak sulit untuk menganalisis senyawa yang bersifat hidrofilik (Cahyaningsih, 2019).