

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kedelai

2.1.1 Botani Kedelai

Tanaman kedelai (*Glycine max (L) Merril*) termasuk famili *leguminoceae* subfamili *papilionoideae*. Diduga berasal dari jenis kedelai liar yaitu *Glycine ururiensis* yang tumbuh liar di Cina, Manchuria dan Korea.

Klasifikasi tanaman ini selengkapnya sebagai berikut^[11]:

Divisi	: spermatophyta
Sub divisi	: angiospermae
Kelas	: dycotyledonae
Ordo	: polypetales
Famili	: leguminoceae
Sub famili	: papilionoideae
Genus	: glycine
Spesies	: mac
Nama ilmiah	: <i>Glycine max (L) Merril</i>

Semua varietas kedelai merupakan tanaman semusim, termasuk tanaman basah. Batangnya berdiri tegak dan bercabang banyak. Cabang-cabangnya tumbuh memanjang sehingga hampir sejajar dengan batang dan tingginya dapat menyamai batang. Ada juga cabang-cabang yang pendek sekali sependek cabang yang paling

bawah. Di samping itu ada beberapa varietas yang ujung cabang atau batangnya tumbuh melilit^[12].

Biji kedelai berkeping dua, kulit biji warna kuning, hitam, hijau atau coklat. Bentuk biji kedelai pada umumnya bulat lonjong, ada yang bundar atau bulat pipih.⁽¹²⁾

2.1.2 Kimiawi Kedelai

Kedelai merupakan sumber pangan nabati yang potensial, cukup mengandung protein, lemak nabati dan beberapa mineral esensial. Sebagai sumber protein kedelai dapat menggantikan peranan protein hewani walaupun nilai protein kedelai tidak setinggi nilai protein dari susu sapi atau telur ayam, tetapi secara keseluruhan nilai protein kedelai cukup baik. Kedelai mengandung protein $\pm 40\%$ dan lemak 16-20%. Kandungan asam amino esensial yang terdapat dalam kedelai $\pm 15\%$ dan asam amino non esensial $\pm 26\%$ ^[2].

Lemak dalam biji kedelai terdiri dari trigliserida dengan sedikit fosfolipid termasuk lesitin. Komponen utama asam lemak dari trigliserida kedelai adalah asam-asam lemak tak jenuh antara lain asam linoleat, asam linolenat dan sedikit asam oleat. Sedangkan asam lemak jenuh antara lain asam palmitat dan asam stearat^[1].

Karbohidrat dalam kedelai sekitar 25% meliputi polisakarida, stakhiosa (3,8%), rafinosa (1,1%), sukrosa (5%). Kedelai juga mengandung mineral-mineral yang sangat dibutuhkan tubuh dalam jumlah besar, misalnya Ca, P, Fe, K, Mg dan Zn. Vitamin yang terdapat dalam kedelai adalah vitamin A dan B^[2]. Komposisi gizi kedelai dibandingkan tempe dapat dilihat pada tabel 2.1.

Selain itu kedelai juga mengandung senyawa metabolit sekunder isoflavon yang secara karakteristik terdapat dalam famili leguminoceae. Senyawa isoflavon yang terdapat dalam kedelai sebagian besar ada dalam bentuk glikosida yaitu daidzin, genistin, glisitin^[6] dan turunan daidzin 6''-O-Acetil daidzin^[13] serta turunan genistin 6''-O-Acetil genistin^[14]. Senyawa-senyawa isoflavon tersebut mempunyai aktivitas biologis antara lain: antioksidan, antihemolitik^[10], antifungal^[5] dan antikanker^[15].

Tabel 2.1 Komposisi zat gizi kedelai dan tempe dalam 100 gram bahan yang dapat dimakan (BDD) dan dalam 100 gram berat kering (BK)

Zat gizi	Sat	Kedelai (100 g BDD)	Tempe (100 g BDD)	Kedelai (100 g BK)	Tempe (100 g BK)
Air	g	12,7	55,3	0	0
Protein	g	40,3	20,7	46,2	46,5
Lemak	g	16,7	8,8	19,1	19,7
Karbohidrat	g	24,9	13,5	28,2	30,2
Serat	g	3,2	3,2	3,7	7,2
Kalsium	mg	221,7	155,1	254	347
Fosfor	mg	681,8	323,6	781	724
Besi	mg	9,6	4,0	11	9
Tiamin	mg	0,42	0,12	0,48	0,28
Riboflavin	mg	0,13	0,29	0,15	0,65
Niasin	mg	0,58	1,13	0,67	2,52
Asam amino esential	mg	15493	8428	17743	18852
Asam amino non esential	mg	22114	11341	26473	25369

Sumber: PDII, LIPI

2.2 Tempe

2.2.1 Proses Pembuatan Tempe

Tempe merupakan makanan hasil fermentasi jamur terutama *Rhizopus oligosporus*. Umumnya tempe dibuat dari kedelai, selain itu ada juga tempe yang dibuat dari bahan selain kedelai misalnya dari kara benguk (tempe kara), lamtara (tempe lamtara), dari ampas tahu (tempe gembus).

Ciri-ciri tempe antara lain: warna putih, tekstur kompak dan flavour spesifik. Warna putih disebabkan miselia-miselial jamur yang tumbuh pada permukaan biji kedelai. Tekstur kompak juga disebabkan oleh miselia-miselial jamur yang menghubungkan antara biji-biji kedelai tersebut. Terjadinya degradasi komponen-komponen dalam kedelai menimbulkan flavor spesifik setelah fermentasi^[16].

Pada dasarnya pembuatan tempe dari kedelai melalui tiga tahap^[1]:

1. Hidrasi dan pengasaman biji kedelai dengan perendaman
2. Sterilisasi sebagian dengan perebusan atau pengukusan
3. Fermentasi oleh jamur tempe yang diinokulasikan segera setelah sterilisasi

Kualitas tempe dipengaruhi oleh kualitas stater yang digunakan untuk inokulasinya. Stater tempe adalah bahan yang mengandung biakan jamur tempe, digunakan sebagai agensia pengubah kedelai rebus menjadi tempe. Jamur tumbuh pada kedelai dan melakukan kegiatan fermentasi sehingga kedelai berubah karakteristiknya menjadi tempe^[1].

2.2.2 Fermentasi Tempe

Proses fermentasi tempe meliputi prafermentasi atau fermentasi awal yang dilakukan oleh bakteri-bakteri pembentuk asam, terutama bakteri asam laktat untuk menurunkan pH dalam biji, sehingga sesuai dengan pH pertumbuhan jamur. Proses prafermentasi biasanya dilakukan dengan cara perendaman biji dalam air sehingga terjadi proses fermentasi secara alami. Proses fermentasi yang utama dilakukan oleh jamur *Rhizopus oligosporus*^[16].

Selama perendaman terjadi proses hidrasi, kadar air naik kira-kira 2 kali kadar air semula mencapai 62-65 %. Sedangkan pH dalam biji turun menjadi 4,5-5,3 yang tidak menghambat pertumbuhan jamur tapi dapat menghambat pertumbuhan bakteri-bakteri kontaminan yang bersifat pembusuk^[1].

Proses pemanasan dan perebusan biji setelah perendaman bertujuan untuk membunuh bakteri-bakteri kontaminan dan membantu membebaskan senyawa-senyawa dalam biji yang diperlukan untuk pertumbuhan jamur^[1].

Proses fermentasi tempe dapat dibedakan atas 3 fase yaitu^[1]:

1. Fase pertumbuhan cepat (0-30 jam fermentasi)

Terjadi kenaikan jumlah asam lemak bebas, pertumbuhan jamur cepat, dengan terbentuknya miselia pada permukaan biji yang makin lama makin lebat, sehingga menunjukkan masa lebih kompak.

2. Fase transisi (30-50 jam fermentasi)

Fase optimal fermentasi dan siap dipasarkan. Pada fase ini terjadi penurunan suhu, jumlah asam lemak yang dibebaskan dan pertumbuhan jamur hampir tetap atau bertambah sedikit, flavor spesifik dan tekstur lebih kompak.

3. Fase pembusukan/fermentasi lanjut (50-90 jam fermentasi)

Jumlah bakteri dan asam lemak bebas naik, pertumbuhan jamur menurun dan pada kadar air tertentu pertumbuhan jamur terhenti, terjadi perubahan flavor karena degradasi protein lanjut sehingga terbentuk amonia.

Selama pembuatan tempe, berbagai komponen dalam kedelai mengalami perubahan oleh aktivitas mikroorganisme sehingga meningkatkan mutu gizi kedelai. Perubahan terjadi pada lemak, karbohidrat, protein dan senyawa metabolit sekunder isoflavon.

Perubahan-perubahan selama fermentasi sebagai berikut :

a. Perubahan lemak

Jamur tempe mempunyai aktivitas tinggi sehingga selama 72 jam proses fermentasi pada suhu 37 °C dapat menghidrolisis sepertiga bagian lemak netral dalam biji kedelai^[1]. Asam lemak bebas meningkat menjadi 21 % dalam tempe dari 0,5 % dalam kedelai rebus. Asam linoleat dan asam linolenat bebas meningkat dari 0 % menjadi 2,5 % dan 0,3 %^[2].

b. Perubahan gula

Perendaman dan perebusan menyebabkan pengurangan kadar gula utama kedelai stakhiosa, rafinosa, dan sukrosa berturut menjadi 51 %, 48 % dan 41 % dari kadar awalnya. Stakhiosa akan terus berkurang selama fermentasi oleh jamur tempe menjadi 30 % dari kadar mula-mula setelah 48 jam dan tinggal 7 % setelah 72 jam. Sukrosa berkurang menjadi kira-kira sepertiganya. Dan rafinosa tidak berubah selama fermentasi^[1].

c. Perubahan protein

Aktivitas proteolitik selama fermentasi tempe mencapai maksimum pada waktu 72-96 jam fermentasi pada suhu 32 °C, maka protein kedelai yang bersifat tidak larut (mempunyai BM tinggi) akan diubah menjadi protein dengan BM rendah. Secara keseluruhan jumlah asam-asam amino naik setelah proses fermentasi^[1]. Jumlah asam amino bebas meningkat sehingga protein tempe lebih mudah diserap tubuh daripada protein kedelai^[2].

d. Perubahan isoflavon

Selama proses perendaman terjadi hidrolisis senyawa kompleks isoflavon glikosida menjadi senyawa isoflavon bebas yang disebut aglikon, demikian pula selama proses fermentasi oleh jamur. Jumlah isoflavon yang dibebaskan pada proses fermentasi lebih besar dibandingkan pada proses perendaman dan daidzein merupakan aglikon yang paling dominan^[17]. Hidrolisa glikosida isoflavon disebabkan oleh aktivitas enzim β -glikosidase. Di dalam kedelai, enzim tersebut dapat diaktivasi dengan proses perendaman kedelai dalam air panas. Enzim β -glikosidase tidak hanya terdapat pada kedelai tetapi juga dapat dihasilkan oleh jamur *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae*, sehingga selama fermentasi tempe terjadi 2 kali proses enzimatik yaitu pada proses perendaman dan pada proses fermentasi oleh jamur^[18]. Di samping itu selama fermentasi juga terjadi biosintesa senyawa isoflavon baru yaitu faktor 2 (6,7,4'-trihidroksiisoflavon) oleh aktivitas bakteri *Micrococcus luteus*, *Brevibacterium epidermidis* melalui demetilasi glisitein dan oleh bakteri *Microbacterium arborescens* melalui hidrosilasi daidzein^[19].

Tabel 2.2. Pembebasan isoflavon selama proses perendaman dan selama proses fermentasi^[18]

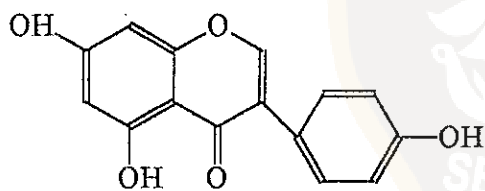
Proses	Faktor 2 (mg/L)	Daidzein (mg/L)	Glisitein (mg/L)	Genistein (mg/L)
Perendaman	0,071	7,690	1,340	1,117
Fermentasi	0.099	11,313	1,468	2,375

Sumber: Prawiroharsono, 1993

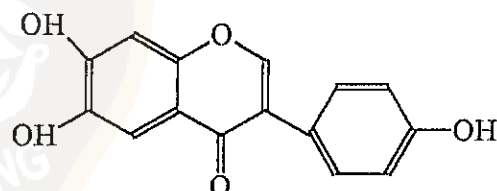
2.2.3 Senyawa-Senyawa Aktif dalam Tempe

Tempe selain bergizi tinggi juga mengandung senyawa-senyawa isoflavon yaitu genistein, daidzein, glisitein dan faktor 2. Senyawa-senyawa tersebut mempunyai aktivitas biologis yang berpotensi untuk pengobatan dan kesehatan antara lain: antioksidan, antihemolitik^[3,4], antifungal^[6], antikanker^[20,21] dan antikolesterol^[8].

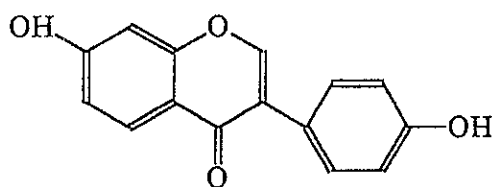
Struktur isoflavon dalam tempe



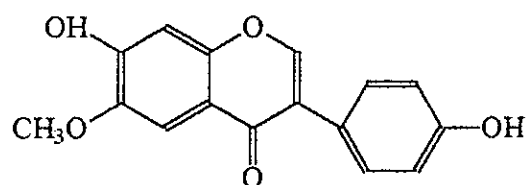
genistein



faktor 2



daidzein



glisitein

Potensi antioksidan tempe pertama kali dilaporkan oleh Gyorgy dkk (1964) sebagai senyawa isoflavon genistein, daidzein, glisitein dan faktor 2. Senyawa isoflavon faktor 2 mempunyai aktivitas paling tinggi dan hanya dijumpai dalam tempe (tidak ditemukan dalam kedelai)^[3]. Faktor 2 larut dalam air dan aktif dalam larutan dengan pH 7,4 tapi tidak efektif dalam menghambat autoksidasi minyak dan tepung kedelai^[4]. Sebagai antioksidan genistin, daidzin dan glisitin serta aglikon-aglikonnya dapat menghambat kerja enzim lipoksigenase. Aktivitasnya dipengaruhi banyaknya gugus hidroksil dalam inti isoflavon, semakin banyak gugus hidroksil semakin besar aktivitasnya. Genistein dengan 3 gugus hidroksil mempunyai aktivitas yang paling besar dibandingkan dengan kedua isoflavon bebas lainnya (daidzein dan glisitein). Glikosilasi akan mengurangi aktivitas antioksidannya. Genistin lebih lemah daripada genistein dan hampir sama dengan daidzein dan glisitein. Demikian pula dengan glikosida daidzin dan glisitin aktivitasnya lebih lemah daripada daidzein dan glisitein^[10]. Antioksidan tempe dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah atau hipokolesteremik juga berpotensi menghambat pembentukan LDL (*low density lipoprotein*) sehingga dapat mengurangi arteriosklerosis pada pembuluh darah^[8].

Daidzein mempunyai aktivitas antihemolitik yang sangat besar pada sel-sel darah merah domba yang diinduksi peroksida. Glikosilasi daidzein juga dapat menurunkan aktivitas antihemolitiknya. Aktivitas daidzein jauh di atas genistein dan glisitein.

Sebagai antifungal senyawa isoflavon dapat menghambat pertumbuhan *Trichoderma lignorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium axysporum*, *Phytium spp*,

Rhizopus spp dan *Sclerotium rolfsii* terutama dengan adanya isoflavon bebas dalam medium pengembang. Aktivitasnya cukup besar bahkan pada konsentrasi 0,005 % isoflavon bebas dan tidak berlebihan sampai konsentrasi 0,1 %^[6].

Senyawa isoflavon pada tempe merupakan senyawa pelindung kanker alami dan dikenal sebagai fitoestrogen. Genistein dapat menghambat sel kanker payudara^[19] dan sel kanker hati^[20].

2.3 Senyawa Antioksidan

Umumnya senyawa antioksidan mempunyai struktur inti yang sama mengandung cincin benzena tak jenuh disertai gugus hidroksil atau amina. Efektivitas antioksidan yang mempunyai gugus OH tergantung pada kemampuannya membentuk radikal bebas yang stabil jika atom H lepas. Antioksidan dengan jumlah fenol yang besar biasanya digunakan pada minyak atau lemak makan^[22].

Ada 2 macam senyawa antioksidan^[23]:

1. Antioksidan primer

adalah suatu zat yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal dengan melepaskan atom H. Antioksidan ini dapat berasal dari alam maupun sintetis. Antioksidan alam misalnya tokoferol, lesitin dan asam askorbat. Antioksidan sintetis antara lain BHA (*Butylated hydroxyanisole*) dan BHT (*Butylated hydroxytoluene*).

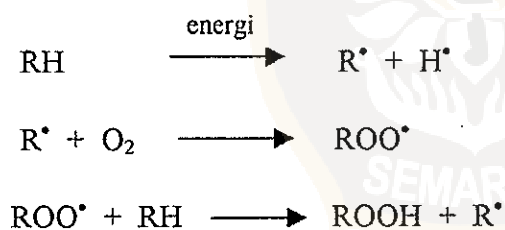
2. Antioksidan sekunder

adalah suatu zat yang dapat mencegah kerja prooksidan. Beberapa asam organik tertentu, biasanya asam di atau trikarboksilat dapat mengikat logam-logam. Misalnya asam sitrat akan mengikat prooksidan Fe seperti pada minyak kedelai.

Lemak dan minyak nabati seringkali mengandung ikatan rangkap sehingga rentan terhadap oksidasi oleh udara, yang disebut autoksidasi. Faktor-faktor yang mempengaruhi autoksidasi^[23] :

1. Radiasi (panas/cahaya)
2. Bahan pengoksidasi (peroksida, ozon, asam nitrat)
3. Katalis logam (garam dari beberapa logam berat)

Autoksidasi dimulai dengan pembentukan hidroperoksida yang merupakan reaksi antara asam lemak tak jenuh dengan oksigen.



dengan RH: lemak tak jenuh

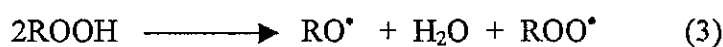
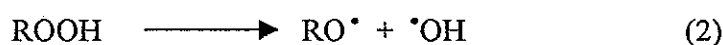
ROO[•]: peroksida aktif

R[•]: asam lemak tak jenuh aktif

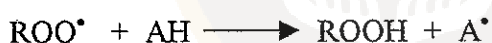
Pembentukan hidroperoksida juga dapat melalui reaksi asam lemak tak jenuh dengan oksigen yang dikatalisa oleh enzim lipoksigenase^[24].

Senyawa hidroperoksida (ROOH) bersifat sangat tidak stabil dan mudah pecah menjadi radikal-radikal bebas yang reaktif, sehingga reaksi oksidasi terus berlanjut menjadi reaksi radikal bebas^[23].

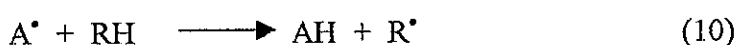
Mekanisme reaksi autoksidasi lemak^[24]



Antioksidan primer dapat mendonorkan atom H pada radikal-radikal bebas tersebut membentuk radikal yang lebih stabil.



Kestabilan A^\bullet mengurangi kecepatan propagasi autoksidasi melalui reaksi



Reaksi (8, 9, 10) jauh lebih lambat daripada reaksi (4, 5) sehingga dapat menghambat kecepatan reaksi^[24].