

**FORTIFIKASI ANTIOKSIDAN TEMPE KEDELAI (*Glycine max* (L) *meriil*)
MENGUNAKAN BEKATUL BERAS PUTIH (*Oryza sativa* L.)**

SKRIPSI

Oleh :
RUSTIKA AYU PUTRI RAMADHANA
NIM. 18630081



PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025

**FORTIFIKASI ANTIOKSIDAN TEMPE KEDELAI (*Glycine max* (L) *meriil*)
MENGUNAKAN BEKATUL BERAS PUTIH (*Oryza sativa* L.)**

SKRIPSI

**Oleh:
RUSTIKA AYU PUTRI RAMADHANA
18630081**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2025**

**FORTIFIKASI ANTIOKSIDAN TEMPE KEDELAI (*Glycine max* (L) merill)
MENGUNAKAN BEKATUL BERAS PUTIH (*Oryza sativa* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
RUSTIKA AYU PUTRI RAMADHANA
NIM. 18630081

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 17 Juni 2025

Pembimbing I



Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Pembimbing II



Oky Bagas Prasetyo, M.Pd
NIP. 19890113 20180201 1 224

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia



Rachmawati Mingsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

**FORTIFIKASI ANTIOKSIDAN TEMPE KEDELAI (*Glycine max* (L) merill)
MENGUNAKAN BEKATUL BERAS PUTIH (*Oryza sativa* L.)**

SKRIPSI

Oleh:
RUSTIKA AYU PUTRI RAMADHANA
18630081

**Telah Dipertahankan Di Depan Dewan Penguji Skripsi Dan Dinyatakan Diterima
Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 17 Juni 2025**

Ketua Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

Anggota Penguji I : Fadilah Nor Laili Lutfia, M.Biotech
LB. 63033

Anggota Penguji II : Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009

Anggota Penguji III : Oky Bagas Prasetyo, M.Pd
NIP. 198901 1320180201 1 224

(.....)
(.....)
(.....)
(.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi Kimia



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rustika Ayu Putri Ramadhana

NIM : 18630081

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian: Fortifikasi Antioksidan Tempe Kedelai (*Glycine Max (L) Meriil*)
Menggunakan Bekatul Beras Putih (*Oryza Sativa L.*)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka, Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggung jawabkan sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 27 Juni 2025
Yang membuat pernyataan



Rustika Ayu Putri Ramadhana
NIM. 18630081

MOTTO

"Versi terbaik setiap orang berbeda, jadi jangan pernah biarkan siapa pun membuat kamu merasa tidak cukup."

-Jeno

"Let's walk slowly, enjoying every step of the journey"

-Mark

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan nikmat, hidayah, dan kasih sayangnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Pertama, karya sederhana ini penulis persembahkan dengan penuh rasa cinta dan hormat saya untuk kedua orang tua saya, ayah dirumah yang senantiasa selalu memberikan saya dukungan, semangat, nasehat, dan tak lupa doa tulus yang tak pernah putus yang selalu engkau panjatkan untuk kebaikan anak-anaknya. Untuk ibu yang tak bisa lagi kupeluk raganya terima kasih atas doa yang selalu engkau panjatkan di setiap Shalat hingga saya masih tetap bertahan hingga saat ini.

Kedua, saya persembahkan untuk saudara-saudara saya, Adek Izkar dan Adek Miqdad. Terima kasih untuk kasih sayang, kelucuan, kepedulian kalian. Karena kalianlah saya belajar untuk selalu bertahan, sabar, dan tawakal dalam segala hal.

Ketiga, saya persembahkan untuk anak-anak saya, Deepaw, Xiaobao, dan Yi-rang. Terima kasih kalian sudah selalu menemani Mommy beberapa tahun terakhir ini.

Terima kasih untuk sahabat-sahabat saya, Nidatul Syarifah, Fitri Yulifah, dan Nurhasanah atas segala kasih sayang, saran, kepedulian, serta motivasinya yang membuat saya masih bisa semangat dan bertahan hingga saat ini.

Terima kasih untuk ibu Akyun atas segala kasih sayang, bimbingan dan kepedulian ibu, dan juga terima kasih bapak dan ibu dosen Kimia UIN Malang atas kasih sayang, saran, serta nasihatnya sehingga membentuk saya menjadi pribadi yang lebih baik lagi.

Dan terakhir terima kasih kepada diri saya sendiri, mari kita belajar ikhlas dan lupakan segala kesedihan, trauma, dan ketakutan itu. Masih ada masa depan yang menunggu untuk kau gapai. Terima kasih sudah berjuang dan bertahan, maaf atas luka dan air mata. Prosesnya memang sulit, tapi semoga hasil yang kau dapatkan sepadan. Aku berharap saat kau membaca ini dalam keadaan tersenyum bahagia. Trust, "*Allah always beside you. Let's do positive things better and faster*". Jangan menyerah, kamu lebih hebat dan kuat dari yang kamu pikirkan.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah Swt. yang telah melimpahkan berkah rahmat, taufik, serta hidayahnya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Fortifikasi Antioksidan Tempe Kedelai (*Glycine Max (L) Merii*) Menggunakan Bekatul Beras Putih (*Oryza Sativa L.*)”** ini. Selawat serta salam dihaturkan untuk Nabi Muhammad saw. sebagai suri teladan yang telah membimbing kami menuju jalan yang benar dan di Ridhoi oleh Allah Swt. Skripsi ini dapat disusun atas kontribusi, dukungan, motivasi, dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Hj. Iffi Nur Diana, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Hj. Sri Harini, M.Si selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku ketua Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P selaku dosen pembimbing yang selalu sabar dan peduli untuk meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan, pengarahan, saran, dan motivasi kepada penulis.
5. Bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Pd selaku dosen pembimbing agama yang selalu sabar untuk meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan, pengarahan, saran, dan motivasi kepada penulis.
6. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si dan Ibu Fadilah Nor Laili Lutfia, M. Biotech selaku penguji yang telah memberikan saran, wawasan, dan masukan kepada penulis.
7. Ibu Nur Aini, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan, semangat, saran, nasihat, dan motivasi untuk penulis.
8. Seluruh dosen Program Studi Kimia, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan pengetahuan sebagai dasar dan pedoman bagi penulis.
9. Seluruh Laboran Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Ayah dan Ibu tersayang yang selalu memberikan doa, semangat, dan restu kepada penulis serta, Adik-adik dan seluruh keluarga yang selalu memberikan dukungan dan motivasi kepada penulis dalam menuntut ilmu.
11. Seluruh teman yang selalu memberi semangat, motivasi, dan doa selama penyusunan skripsi penelitian ini.
12. Seluruh pihak yang berkontribusi dalam penulisan skripsi penelitian ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa naskah skripsi ini jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu penulis menerima kritik dan saran serta memohon maaf kepada segala pihak apabila ada kesalahan dalam penulisan skripsi ini. Demikian skripsi ini penulis susun, semoga tulisan ini dapat bermanfaat dan menambah ilmu pengetahuan, Aamiin.

Malang, 7 Juni 2025

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN	iv
MOTTO.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK.....	xiii
ABSTRACT	xiv
مستخلص البحث.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Batasan Masalah.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Bekatul	7
2.2 Tempe Kedelai	9
2.3 Antioksidan.....	10
2.4 Fortifikasi.....	11
2.5 Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (<i>1,1-difenil-2pikrilhidrazil</i>)	11
2.6 Spektrofotometer UV-Vis.....	12
BAB III METODE PENELITIAN.....	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Alat.....	14
3.3 Bahan	14
3.4 Rancangan Penelitian	15
3.5 Tahapan Penelitian	15
3.6 Pelaksanaan Penelitian.....	15
3.6.1 Preparasi Sampel.....	15
3.6.2 Pembuatan Tempe Bekatul Beras Putih	16
3.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (<i>1,1- difenil-2pikrilhidrazil</i>)	16
3.6.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	16
3.6.3.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel.....	17
3.6.4 Analisis Kadar γ -Oryzanol pada Sampel	18
3.6.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	18
3.6.4.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi	18
3.6.5 Uji Organoleptik yang Meliputi: Aroma, Rasa, dan Warna	18
3.6.6 Analisis Data	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Preparasi Sampel.....	20
4.2 Pembuatan Tempe Bekatul Beras Putih.....	21

4.3 Analisis Aktivitas <i>Antioksidan</i> dengan Metode DPPH (<i>1,1-difenil- 2-pikrilhidrazil</i>).....	23
4.4 Analisis Kadar γ -Oryzanol pada Sampel	26
4.5 Uji Organoleptik yang meliputi: Aroma, Rasa, dan Warna	28
BAB V PENUTUP	31
5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA.....	33
LAMPIRAN.....	38

DAFTAR GAMBAR

2.1 Gambar Bagian-bagian Padi	7
2.2 Gambar Bekatul	7
2.3 Gambar Struktur Kimia Senyawa γ -Oryzanol	8
2.4 Gambar Tempe Kedelai	9
2.5 Gambar Struktur Kimia Senyawa Isoflavon	9
4.1 Gambar Tempe Hasil Penelitian.....	23
4.2 Gambar Grafik Aktivitas Antioksidan Tempe Terfortifikasi Bekatul Beras Putih dengan Menggunakan Metode DPPH (<i>1,1-difenil-2-pikril hidrazil</i>).....	25
4.3 Gambar Grafik Kadar γ -Oryzanol pada Tempe Kedelai yang Terfortifikasi Bekatul Beras Putih.....	26
4.4 Gambar Reaksi γ -Oryzanol saat Fermentasi	27
4.5 Gambar Reaksi donor Hidrogen dari Asam Ferulat ke DPPH	28

DAFTAR TABEL

4.1 Tabel Aktivitas Antioksidan Pada Tempe Fortifikasi Bekatul Beras Putih	24
4.2 Tabel Kadar γ -Oryzanol Tempe Fortifikasi Bekatul Beras Putih (mg/100g).....	27
4.3 Tabel rata-rata penilaian uji organoleptik.....	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	38
Lampiran 2 Diagram Alir	39
Lampiran 3 Pembuatan Tempe Terfortifikasi Bekatul Beras Putih dan Pembuatan Larutan DPPH	43
Lampiran 4 Uji % Aktivitas Antioksidan dan Kadar γ -Oryzanol pada Tempe yang Terfortifikasi bekatul Beras Putih	44
Lampiran 5 Uji Organoleptik dengan Parameter: Aroma, Rasa, dan Warna	48
Lampiran 6 Reaksi Kimia pada Tempe yang Terfortifikasi bekatul Beras Putih	54
Lampiran 7 Gambar Hasil Penelitian.....	55

ABSTRAK

Ramadhana. Rustika A. P. 2025. **“Fortifikasi Antioksidan Tempe Kedelai (*Glycine max* (L) *merii*) Menggunakan Bekatul Beras Putih (*Oryza sativa* L.)”** Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P, Pembimbing II: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd

Kata kunci: fortifikasi, bekatul beras putih, tempe, antioksidan

Di Indonesia memiliki banyak sekali makanan khas salah satunya adalah tempe, dengan kandungan nilai gizi tempe yang kaya akan protein sering kali dikonsumsi hampir setiap hari. Proses pengolahan tempe yang melalui fermentasi kedelai menyebabkan terjadinya peningkatan isoflavon total sehingga menjadikan nilai fungsional tempe lebih baik daripada kedelai. Namun, senyawa isoflavon ini sangat rentan terhadap suhu panas pada proses pemasakan, sehingga memunculkan alternatif yang dapat dilakukan yakni dengan memfortifikasi bekatul beras putih dengan tempe, untuk mengganti senyawa yang hilang selama proses pengolahan. Pada bekatul beras putih ada salah satu senyawa antioksidan yang dapat tahan terhadap pemanasan yakni γ -oryzanol yang merupakan senyawa yang sepadan dengan isoflavon. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi dan variasi lama fermentasi terhadap hasil uji organoleptik tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih, dan mengetahui aktivitas antioksidan dan kadar senyawa γ -oryzanol tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih.

Dalam penelitian ini, dilakukan perbedaan variasi konsentrasi penambahan bekatul beras putih yakni 15%, 20%, 25% dengan variasi lama fermentasi yakni selama 1 hari, 2 hari, dan 3 hari, kemudian dilakukan analisis kadar γ -oryzanol dengan menggunakan metode kurva kalibrasi, selanjutnya akan dianalisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, dan uji organoleptik yang meliputi: aroma, rasa, dan warna.

Hasil yang diperoleh yakni adanya perbedaan variasi konsentrasi dan variasi lama fermentasi terhadap hasil uji organoleptik tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih. Semakin banyak penambahan konsentrasi dan lama fermentasi bekatul beras putih, semakin rendah tingkat kesukaan panelis terhadap tempe yang terfortifikasi bekatul beras putih. Didapat rata-rata tertinggi pada uji organoleptik dengan parameter aroma, rasa, dan warna yakni pada variasi penambahan 15% bekatul beras putih dengan lama fermentasi 2 hari yakni dengan rata-rata 4,5. Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan bekatul 25% dengan lama fermentasi 3 hari, yaitu sebesar 75,25%. Kadar γ -oryzanol tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan bekatul 15% dengan lama fermentasi 1 hari yakni sebesar 35,14 mg/100 g.

ABSTRACT

Ramadhana. Rustika A. P. 2025. "**Antioxidant Fortification Of Soy Tempe (*Glycine max (L) meriil*) Using White Rice Bran (*Oryza sativa L.*)**." Thesis. Department of Chemistry, Science and Technology Faculty, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P, Supervisor II: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd

Keywords: fortification, white rice bran, tempeh, antioxidants

Indonesia boasts a wealth of traditional foods, including tempeh. Its rich protein content makes it a popular daily food. The fermentation process of tempeh through soybeans increases the total isoflavone content, making it superior in functional value to soybeans. However, these isoflavones are highly sensitive to heat during cooking, leading to an alternative: fortifying white rice bran with tempeh to replace compounds lost during processing. White rice bran contains a heat-resistant antioxidant called γ -oryzanol, a compound similar to isoflavones. The purpose of this study was to determine the effect of varying concentration and fermentation time on the organoleptic properties of soybean tempeh fortified with white rice bran, and to determine the antioxidant activity and γ -oryzanol content of soybean tempeh fortified with white rice bran.

In this study, variations in white rice bran concentrations were conducted: 15%, 20%, and 25%, with varying fermentation times of 1 day, 2 days, and 3 days. α -oryzanol levels were then analyzed using the calibration curve method. Antioxidant activity was then analyzed using the DPPH method, and organoleptic tests were performed, including aroma, taste, and color.

The results showed differences in concentration and fermentation duration on the organoleptic test results of soybean tempeh fortified with white rice bran. The higher the concentration and fermentation duration of white rice bran, the lower the panelists' preference for the fortified tempeh. The highest average score for the organoleptic test, with aroma, taste, and color parameters, was obtained with the addition of 15% white rice bran and a fermentation time of 2 days, with an average of 4.5. The highest antioxidant activity was obtained with the addition of 25% rice bran and a fermentation time of 3 days, at 75.25%. The highest γ -oryzanol content was obtained in the treatment of adding 15% rice bran with a fermentation period of 1 day, namely 35.14 mg/100 g.

مستخلص البحث

رمضان. روستيكا أ. ف. ٢٠٢٥. "تدعيم تمبيه فول الصويا (جلايسين ماكس (إل) ميريل) بمضادات الأكسدة باستخدام نخالة الأرز الأبيض (أوريذا ساتيفا (إل). أطروحة. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: الدكتور أكيونول جاناه، ماجستير في الفلسفة، المشرف الثاني: أوكي باغاس براسيتيو، ماجستير في الفلسفة.

الكلمات المفتاحية: التحسين، نخالة الأرز الأبيض، التيمبيه، مضادات الأكسدة

تفخر إندونيسيا بوفرة من الأطعمة التقليدية، بما في ذلك التيمبيه. فغنى التيمبيه بالبروتين يجعله غذاءً يوميًا شائعًا. تزيد عملية تخمير التيمبيه عبر فول الصويا من محتواه الكلي من الأيزوفلافون، مما يجعله متفوقًا في قيمته الوظيفية على فول الصويا. ومع ذلك، فإن هذه الأيزوفلافونات حساسة للغاية للحرارة أثناء الطهي، مما يُتيح بديلاً: تدعيم نخالة الأرز الأبيض بالتيمبيه لتعويض المركبات المفقودة أثناء المعالجة. تحتوي نخالة الأرز الأبيض على مضاد أكسدة مقاوم للحرارة يُسمى - γ أوريزانول، وهو مركب مشابه للأيزوفلافون. هدفت هذه الدراسة إلى تحديد تأثير اختلاف التركيز ومدة التخمير على الخصائص الحسية لتيمبيه فول الصويا المدعم بنخالة الأرز الأبيض. في هذه الدراسة، أُجريت اختلافات في تراكيز نخالة الأرز الأبيض: ١٥%، ٢٠%، ٢٥%، مع أوقات تخمير متفاوتة ليوم واحد، يومين، وثلاثة أيام. ثم حُللت مستويات غاما-أوريزانول باستخدام طريقة منحني المعايرة. ثم حُللت النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة DPPH، وأُجريت اختبارات حسية، شملت الرائحة والطعم واللون.

أظهرت النتائج وجود فروق في تركيز ومدة تخمير تيمبيه فول الصويا المدعم بنخالة الأرز الأبيض. كلما ارتفع تركيز ومدة تخمير نخالة الأرز الأبيض، انخفض تفضيل المشاركين للتيمبيه المدعم. تم الحصول على أعلى متوسط في الاختبارات الحسية مع معلمات الرائحة والطعم واللون في تباين إضافة ٢٥% نخالة الأرز الأبيض مع وقت تخمير لمدة يومين، أي بمتوسط ٤.٥. تم الحصول على أعلى نشاط مضاد للأكسدة في معاملة إضافة ٢٥% نخالة الأرز مع وقت تخمير لمدة ٣ أيام، أي ٧٥.٢٥%. تم الحصول على أعلى محتوى γ - أوريزانول في معاملة إضافة ١٥% نخالة الأرز مع وقت تخمير لمدة يوم واحد، أي ٣٥.١٤ مجم / ١٠٠ غرام.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stres oksidatif yang terjadi akibat adanya peningkatan radikal bebas yang disebabkan oleh makanan dan air yang telah terkontaminasi racun, dan sumber radikal bebas berasal dari minuman keras, polusi udara, radiasi sinar UV, sinar-X, pestisida, dan asap rokok. Peningkatan radikal bebas ini dalam tubuh akan memunculkan penyakit kronik dan degeneratif, seperti kardiovaskuler, kanker, degenerasi neural atau bagian dari proses penuaan. Salah satu cara untuk mengatasi salah satu penyakit kronik kardiovaskuler ini dengan cara diet, dan meningkatkan asupan serat dan juga antioksidan dalam tubuh. Antioksidan dapat mencegah terjadinya oksidasi radikal bebas dengan mengoksidasi lemak. Senyawa antioksidan yang berasal dari tanaman sudah banyak yang membuktikan khasiatnya, salah satunya dapat mencegah adanya kerusakan oksidatif dan penyakit akibat radikal bebas. Senyawa-senyawa antioksidan yakni asam kafeat pada biji kopi, *gingerol*, *shogaol* dan *zingeron* pada jahe, kurkumin pada kunyit dan bangle, serta γ -oryzanol pada bekatul padi (Purwanto, dkk, 2014).

Allah SWT telah menciptakan alam semesta beserta isinya sesuai manfaatnya masing-masing. Kekuasaan Allah SWT yang begitu besar bagi makhluk hidup yang ada di bumi merupakan suatu tanda bagi mereka tentang adanya Sang Maha Pencipta. Allah SWT memberikan hikmah atas segala penciptaan alam semesta supaya manusia beribadah kepada Allah SWT dengan mengingat-Nya, memikirkan tentang penciptaan-Nya serta bersyukur kepada-Nya.

Allah SWT berfirman dalam Al Qur'an surat Luqman [31] ayat 10:

خَلَقَ السَّمَوَاتِ بِعَیْرِ عَمَدٍ تَرْوَاهَا وَالْفُیِّ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِي أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuhan yang baik”(Qs. Luqman : 10).

Quraish Shihab (2002) menafsirkan bahwa Allah SWT menciptakan langit tanpa tiang yang dapat kita lihat, gunung-gunung kokoh ditempatkan di permukaan bumi agar tidak menggoyangkan manusia. Semua jenis kehidupan binatang bergerak disebarkan di bumi. Allah juga menurunkan hujan dari langit dan menumbuhkan dari bumi tumbuhan yang baik, indah dan bermanfaat. Begitu pula dengan Az-Zuhaili (1991) menafsirkan bahwa langit yang “tanpa tiang” adalah bukti realitas gravitasi yang menjaga planet-planet tetap stabil tanpa struktur fisik fana. Gunung berperan dalam stabilisasi dan pengaturan distribusi air hujan. Makhluk hidup sangat beragam dan memiliki fungsi ekologis yang penting. Hujan menjadi sarana kehidupan dan mendorong pertumbuhan alami di bumi untuk menumbuhkan tumbuhan indah dan bermanfaat. Tanaman yang memiliki banyak manfaat salah satunya adalah padi yang dapat menghasilkan bekatul.

Bekatul merupakan hasil samping dari proses penggilingan padi yang terkandung senyawa bioaktif seperti tokoferol, tokotrienol, oryzanol, antosianin (Suhery, dkk, 2016) antioksidan fenolik dan β -karoten (Sompong, dkk, 2011). Dalam bekatul terdiri dari beberapa lapisan yakni, lapisan pericarp, testa, dan *aleurone*. Dalam lapisan *aleurone* terkandung komponen mikro, makro, dan senyawa bioaktif (Forster, et al, 2013). Dalam setiap varietas padi kadar total polifenolnya berbeda-beda. Kadar total polifenol terbanyak terdapat pada bekatulnya dari pada tepung berasnya (Suhery, dkk, 2016).

Kandungan antioksidan pada ekstrak bekatul yakni salah satunya γ -oryzanol termasuk antioksidan terkuat yang lebih aktif daripada vitamin-E dalam melawan radikal bebas, sangat efektif dalam penurunan kolesterol dalam darah dan kolesterol liver, dapat menghambat waktu menopause dan mencegah *arteriosclerosis* (Purwanto, dkk, 2014). Kandungan γ -oryzanol dalam ekstrak bekatul sekitar 1,5 – 2,9%. Karena khasiat dari bekatul yang sangat baik untuk kesehatan masyarakat tergerak untuk mengonsumsi bekatul. Sebagian masyarakat mengonsumsi bekatul dengan cara mencampurkannya dengan teh atau bahan pangan yang lain.

Di Indonesia memiliki banyak sekali makanan khas yang sangat digemari oleh warga lokal maupun asing, salah satunya yakni tempe. Tempe merupakan produk olahan yang berasal dari kedelai. Kandungan nilai gizi tempe yang kaya akan protein ini sering kali dikonsumsi hampir setiap hari oleh masyarakat Indonesia, selain harganya yang relatif murah tempe juga sering kali diolah menjadi makanan ringan. Pada proses pembuatan tempe, dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni suhu, kelembaban dan waktu fermentasi. Proses pengolahan tempe yang melalui proses fermentasi kedelai ini menyebabkan terjadinya peningkatan isoflavon total sehingga menjadikan nilai fungsional tempe lebih baik daripada kedelai. Namun, senyawa isoflavon ini sangat rentan terhadap suhu panas pada proses pemasakan menjadi olahan makanan, sehingga memunculkan alternatif yang dapat dilakukan yakni dengan memfortifikasi bekatul beras putih dengan tempe. Proses fortifikasi ini bertujuan untuk mengganti senyawa yang hilang selama proses pengolahan dengan senyawa yang serupa atau sepadan yang ada pada bahan pangan yang lainnya. Pada saat pengukusan tingkat kehilangan isoflavon sebesar 13,3% dan saat dalam proses perebusan kehilangan isoflavon sebesar 18,2% (Utari, dkk, 2010). Dan pada bekatul beras putih ada salah satu senyawa antioksidan yang dapat tahan terhadap pemanasan yakni γ -oryzanol. Stabilitas γ -oryzanol pada temperatur tinggi mengatakan bahwa terjadi degradasi γ -oryzanol dalam bekatul pada pemanasan dengan temperatur 120°C. Hal ini menjelaskan bahwa pada suhu 120°C, γ -oryzanol tersebut masih stabil terhadap pemanasan (Srisaipet & Nuddagul, 2014). Tempe sering dikonsumsi oleh masyarakat setiap harinya, konsumsi tempe rata-rata setiap orang per tahun di Indonesia diduga sekitar 6,45 kg (Astawan, 2004). Oleh karena itu, tempe berpotensi untuk difortifikasi dengan bahan pangan lainnya agar menambah nilai fungsionalnya.

Berdasarkan hasil penelitian Astuti (2003) dalam Erna (2010) menyatakan bahwa komposisi kedelai bervariasi tergantung varietas yang dikembangkan dan juga warna kulit maupun kotiledonya. Berdasarkan hasil penelitian Kusumastuti dan Fitriyono (2013) semakin banyak penambahan bekatul, kandungan gizi dan aktivitas antioksidan sosis tempe cenderung meningkat, yakni pada penambahan bekatul 10% aktivitas antioksidannya sebesar 13,28%. Berdasarkan hasil penelitian Setyowati, Dwi, dan Sri (2008) menunjukkan

bahwa semakin banyak penambahan bekatul, kadar serat pada tempe dengan penambahan bekatul semakin tinggi, sehingga tempe yang dihasilkan kaya akan serat, yakni kadar serat kasar yang tertinggi adalah pada penambahan bekatul 12% yaitu sebesar 7,855%. Berdasarkan hasil penelitian Permatasari, Nanik, dan Akhmad (2020) aktivitas antioksidan tempe bekatul beras merah yang paling besar adalah sebesar 72,03% diperoleh dari perlakuan rasio kedelai dan bekatul beras merah 60:40 dengan lama fermentasi 48jam. Dan menurut Suprpti (2003) apabila pada tempe ditambahkan bekatul lebih dari 20% maka tekstur tempe akan sangat tidak keras (sebagai bahan campuran). Tempe yang lunak umumnya lebih disenangi oleh konsumen berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan Afifah (2022). Oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan penambahan bekatul beras putih lebih dari 10% yakni 15%, 20%, dan 25% untuk mengetahui apakah ada perbedaan aktivitas antioksidan pada tempe kedelai setelah dilakukan penambahan bekatul beras putih.

Kedelai tidak dapat menjadi lunak meskipun direbus atau dikukus selama berjam-jam. Proses pelunakan kedelai terjadi pada saat proses peragian (fermentasi). Jamur *Rhizopus oryzae* termasuk salah satu kapang yang efektif dalam fermentasi bekatul karena dapat meningkatkan kandungan senyawa bioaktif dalam bekatul melalui aktivitas enzim yang dihasilkan kapang (Schmidt et al, 2014; Razak dkk, 2015). Berdasarkan hasil penelitian Permatasari dkk (2020) semakin banyak waktu fermentasi yang digunakan maka semakin tinggi kadar protein pada tempe bekatul, kadar protein tertinggi pada lama fermentasi selama 48 jam sebesar 22,16%. Berdasarkan hasil penelitian Ellent dkk (2022) tempe yang memiliki kualitas terbaik terdapat pada lama fermentasi 1-2 hari dengan indikator kepadatan, warna, dan aroma. Setelah 3 hari, tempe mulai membusuk ditandai dengan perubahan warna dari kapang putih menjadi kuning kecokelatan. Menurut Afifah (2022) Perubahan rasa tempe pada rentang waktu fermentasi 52 jam dipengaruhi oleh masa fermentasi tempe yang telah memasuki fase pembusukan. semakin sedikit pemberian konsentrasi ragi dan semakin cepat fermentasi memberikan nilai kadar protein yang paling tinggi, penggunaan konsentrasi ragi dan lama fermentasi untuk pembuatan tempe segar yang tepat yakni pada konsentrasi 0,4 g untuk 250 g kedelai dengan lama fermentasi selama 44 jam. Menurut Ambarwati (2016) tempe yang berkualitas baik akan menghasilkan tempe yang berbentuk padatan kompak.

Semakin banyak miselium kapang yang tumbuh pada tempe, semakin baik tekstur tempe. Berdasarkan hasil penelitian Setyowati dkk (2008) dan Permatasari dkk (2020) pemakaian ragi sebanyak 0,5% dari bahan dasar biji kedelai yakni sebesar 2,5 g untuk 500 g kedelai. Oleh karena itu pada penelitian ini variasi lama fermentasi yang akan dilakukan yakni selama 1, 2, dan 3 hari untuk mengetahui apakah ada perbedaan aktivitas antioksidan pada tempe kedelai setelah dilakukan variasi lama fermentasi.

Metode yang digunakan dalam mengidentifikasi aktivitas antioksidan salah satunya adalah DPPH (1,1-difenil 2-pikrilhidrazil). DPPH merupakan radikal bebas yang apabila direaksikan dengan ekstrak tanaman yang mengandung antioksidan, maka akan terjadi reaksi penangkapan radikal bebas DPPH yang diubah menjadi 1,1-difenil 2-pikrilhidrazin (kuning) (Kusbandari dan Susanti, 2017). Keuntungan yang didapat saat menggunakan metode DPPH yakni metode yang digunakan merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk *screening* aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa. Pengukuran DPPH diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Aldi, dkk, 2014).

Menurut uraian yang telah dijabarkan tersebut, maka dilakukan penelitian penggantian senyawa antioksidan pada tempe yang hilang selama proses pengolahan dengan suatu senyawa antioksidan yang ada pada bekatul beras putih yakni salah satunya γ -oryzanol yang bisa tahan terhadap pemanasan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana perbedaan variasi konsentrasi penambahan bekatul beras putih dan lama fermentasi terhadap hasil uji organoleptik tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih?
3. Bagaimana kadar senyawa γ -oryzanol pada tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui perbedaan variasi konsentrasi penambahan bekatul beras putih dan lama fermentasi terhadap hasil uji organoleptik tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih,
2. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih,
3. Untuk mengetahui kadar senyawa γ -oryzanol pada tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah kedelai dan bekatul beras putih,
2. Metode eksperimental dengan rancangan acak kelompok (RAK) 2 faktorial,
3. Analisis kadar senyawa γ -oryzanol pada sampel,
4. Analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*),
5. Uji kualitas tempe bekatul dalam Uji organoleptik yang meliputi: aroma, rasa, dan warna.

1.5 Manfaat Penelitian

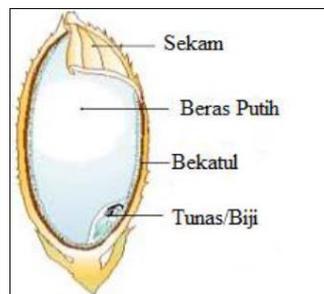
Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi terhadap masyarakat mengenai perbedaan penambahan bekatul beras putih dan lama fermentasi yang optimal terhadap kualitas tempe kedelai. Serta penelitian ini dapat memberikan informasi terhadap masyarakat mengenai aktivitas antioksidan dari bekatul beras putih sehingga masyarakat mampu menggunakannya untuk mencegah oksidasi dan radikal bebas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bekatul

Produk samping dari hasil olahan padi yakni bekatul. Bekatul juga merupakan lapisan paling luar dari beras yang lepas saat terjadi penggilingan gabah atau biasa disebut dengan kulit ari. Warna dari bekatul yakni berwarna putih keruh atau coklat muda (Luthfiyanto, dkk, 2017).



Gambar 2.1 Bagian-bagian Padi (Pemudapost, 2017)

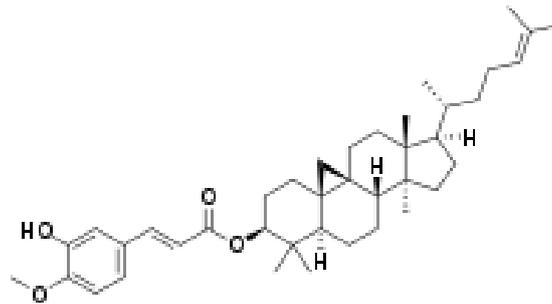
Senyawa biomolekul yang ada dalam bekatul merupakan komponen yang baik bagi tubuh dan berpotensi sebagai alternatif bahan pangan, hal ini bersifat menguntungkan bagi industri pangan untuk pengembangan pangan fungsional. Produk pangan dengan bahan bekatul mengandung senyawa bioaktif multikomponen yang dapat memberikan efek positif terhadap kesehatan.



Gambar 2.2 Bekatul (Hellosehat, 2017)

Pada bekatul mengandung tokoferol, γ -oryzanol dan β -karoten yang mana merupakan golongan antioksidan non polar yang berfungsi menghambat proses peroksidase lemak dan mencegah stres oksidatif (Mumpuni, dkk, 2013). Zat oryzanol yang terkandung dalam bekatul dapat berfungsi sebagai antioksidan, mampu memperbaiki pigmen melanin dan menetralkan

sinar ultraviolet (Juliano *et al*, 2005). γ -oryzanol mempunyai aktivitas yang tinggi sebagai antioksidan, bahkan empat kali lebih efektif menghentikan oksidasi dalam jaringan tubuh dibanding vitamin E (Patel, dkk, 2004). Hal ini disebabkan karena γ -oryzanol mengandung asam ferulat yang merupakan antioksidan asam fenolik. Ketiga komponen utama γ -oryzanol mempunyai aktivitas antioksidan lebih tinggi dibanding empat komponen vitamin E (α - dan γ -tokoferol serta α dan γ -tokotrienol). Berikut ini merupakan struktur senyawa γ -oryzanol.



Gambar 2.3 Struktur Kimia Senyawa γ -Oryzanol (Trinovita, dkk, 2017)

Manfaat bekatul dapat diperoleh dari proses bekatul menjadi minyak yang disebut minyak bekatul *rice bran oil* (RBO). Dengan adanya potensi yang besar baik dari jumlah maupun manfaatnya, bekatul bisa diambil minyaknya untuk dapat digunakan dalam keperluan produk pangan seperti roti, biskuit dan sereal. Pengolahan minyak bekatul juga dapat digunakan sebagai minuman yang berkhasiat bagi tubuh yang dapat memaksimalkan pemanfaatan minyak bekatul terhadap kesehatan. Bekatul mengandung lemak tidak jenuh yang tinggi, sehingga aman dikonsumsi oleh penderita kolesterol dan penyakit jantung. Oleh karena itu, baik bekatul maupun minyak bekatul dapat dimanfaatkan sebagai suplemen pangan untuk meningkatkan kualitas kesehatan manusia (Ovani, 2013). Sebagian besar kandungan dari bekatul yaitu karbohidrat terutama pati. Pati bekatul ini dapat digunakan pada produk pangan berbasis pati dan berbagai produk pangan lainnya (Estiasih, et al, 2021). Begitu juga dengan protein, protein dalam bekatul memiliki kualitas yang setara dengan protein hewani (Han, et al, 2015) sehingga dapat dimanfaatkan dan diolah untuk tambahan bahan pangan dan farmasi.

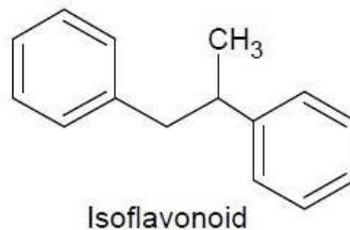
2.2 Tempe Kedelai

Salah satu bentuk olahan kedelai yang telah mengalami proses fermentasi adalah tempe, proses ini memanfaatkan kapang *Rhizopus*. Pembuatan tempe sering menggunakan kapang *Rhizopus microsporus* dan *Rhizopus oryzae* yang memiliki aktivitas enzim β -glukosidase yang berbeda.



Gambar 2.4 Tempe Kedelai (Zulkodri, 2020)

Tempe mengandung serat, antioksidan, 60% asam lemak tidak jenuh (asam linoleat dan asam linolenat) (Sri, 2010). Tempe yang bermutu tinggi pasti mempunyai kandungan gizi yang tinggi seperti protein, lemak, karbohidrat, dan vitamin. Selain itu tempe menjadi lebih larut dalam air dan mudah dicerna dibanding kedelai. Kedelai termasuk dalam golongan *leguminosae* yakni kacang-kacangan yang umumnya golongan ini banyak ditemukan senyawa isoflavon (Zubik & Meydani, 2003; Astuti, 2003). Isoflavon termasuk dalam golongan flavonoid yang merupakan senyawa polifenolik.



Gambar 2.5 Struktur Kimia Senyawa Isoflavon (Hairani, 2019)

Struktur kimia dasar dari isoflavon hampir sama seperti flavon, yaitu terdiri dari 2 cincin benzena (A dan B) dan terikat pada cincin C peran heterosiklik, tetapi orientasi cincin B nya berbeda. Pada flavon, cincin B diikat oleh karbon nomor 2 cincin tengah C, sedangkan isoflavon diikat oleh karbon nomor 3 (Schmidl & Labuza, 2000). Isoflavon pada kedelai dalam bentuk glikosida yaitu genistin, daidzin dan glisitin (Setiawati, dkk, 2014).

Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 3144 (2009) tempe diperoleh dari hasil fermentasi biji kedelai dengan kapang *Rhizopus sp.* Dengan bentuk tempe berupa padatan kompak, berwarna putih sedikit keabu-abuan, dan bau khas tempe. Berdasarkan Badan Standardisasi Nasional (2009) syarat mutu tempe untuk kriteria uji kadar air maksimal sebesar 65%.

2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang memerangi radikal bebas dengan mengintervensi salah satu dari tiga langkah utama dari proses oksidatif yang dimediasi radikal bebas, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi (Cui, et al, 2004). Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat digunakan untuk melindungi bagian dari biologi seperti lipida, protein, vitamin, dan DNA dari kerusakan, munculnya ketengikan, atau berubahnya warna dikarenakan terjadinya oksidasi. Dalam antioksidan terdapat antioksidan sintetik maupun antioksidan alami (Saleh, dkk, 2012). Antioksidan fenolik juga terkandung pada beras putih dengan konsentrasi pada fraksi aleuron bekatul. Aktivitas antioksidan komponen bioaktif terpengaruhi oleh pH dan suhu serta oksidator seperti H_2O_2 . Meningkatnya waktu pemanasan dapat menurunkan total fenol dan juga aktivitas antioksidannya (Settharaksa, et al, 2012). Dan H_2O_2 juga dapat menurunkan aktivitas antioksidan (Keser, et al, 2012).

Pada kedelai terkandung isoflavon yang mana merupakan salah satu senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan dan memiliki efek biologis mirip dengan estrogen. Isoflavon dapat mengurangi risiko *osteoporosis*, *atherosclerosis* dan *neurodegeneration*, menurunkan prevalensi kanker prostat dan kanker payudara, mengurangi aterogenesis dan menurunkan reabsorpsi tulang karena isoflavon dapat mencegah oksidasi *Low Dencity Lipoprotein* (LDL) (Otieno, Ashton, & Shah, 2006). Senyawa antioksidan yang terkandung dalam bekatul salah satunya yakni, γ -oryzanol yang merupakan antioksidan yang kuat, lebih aktif daripada vitamin E dalam melawan radikal bebas (Hadipernata, 2007)

2.4 Fortifikasi

Fortifikasi merupakan proses penambahan suatu senyawa atau fortifikan secara sengaja ke dalam suatu bahan pangan (Kusnandar, dkk, 2020). Fortifikasi adalah proses pengayaan suatu bahan makanan dengan kandungan zat tertentu. Fortifikasi pangan (pangan yang lazim dikonsumsi) dengan zat gizi makro maupun mikro adalah salah satu strategi utama yang dapat digunakan untuk meningkatkan status makro dan mikronutrien pangan (Albiner, 2003).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Permatasari, Nanik, dan Akhmad (2020) yang telah melakukan uji fortifikasi antioksidan dari bekatul beras merah pada tempe kedelai menghasilkan rasio kedelai dan bekatul beras merah terbaik pada rasio 60:40 dengan lama fermentasi selama 48 jam dan dengan aktivitas antioksidan 72,03%. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sarbini, Setyaningrum, dan Pramudya (2009) yang telah melakukan uji fisik, organoleptik, dan kandungan zat gizi biskuit tempe-bekatul dengan fortifikasi Fe dan Zn menghasilkan kandungan protein tertinggi (20.14 g/100 g) dengan warna, tekstur, dan rasa yang paling disukai panelis yakni pada biskuit tempe dan bekatul dengan rasio 7:3.

2.5 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

DPPH adalah senyawa radikal bebas yang sudah stabil dan dapat digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal, penangkapan ini dilakukan dengan cara melarutkan DPPH dan disimpan dalam keadaan kering pada kondisi baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH yakni sekitar 515-520 nm (Tristantini, dkk, 2016).

Metode DPPH merupakan metode yang dapat mengukur aktivitas antioksidan pada pelarut polar dan non polar. Metode lain terbatas pada pengukuran komponen terlarut dalam pelarut yang digunakan dalam analisis. Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat, dan sensitif, serta hanya membutuhkan sampel yang sedikit. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal bebas DPPH melalui mekanisme donasi atom. Radikal DPPH

memberikan penyerapan yang kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna ungu (Hamzah, dkk, 2014).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Permatasari, Nanik, dan Akhmad (2020) yang telah melakukan uji fortifikasi antioksidan dari bekatul beras merah dengan analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling besar yakni 72,03% dan aktivitas antioksidan paling rendah yakni 12,80%. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Seveline, sofi, dan Moh. Taufik (2019) yang telah melakukan uji fortifikasi tepung tempe dengan penambahan rosela dengan penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menghasilkan aktivitas antioksidan yang paling besar yakni 68,80% dan aktivitas antioksidan paling rendah yakni 44,11%.

2.6 Spektrofotometer UV-Vis

Salah satu contoh instrumentasi analisis yang lebih kompleks adalah spektrofotometer UV-Vis. Alat ini banyak bermanfaat untuk penentuan konsentrasi senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet (200 – 400 nm) atau daerah sinar tampak (400 – 800 nm). Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mengukur transmittan atau absorban sampel menggunakan cahaya pada panjang gelombang tertentu yang dilewatkan pada kuarsa atau kuvet yang terisi sampel didalamnya. Sebagian cahaya akan diserap dan sisanya akan dilewatkan. Prinsip kerja spektrofotometer adalah sampel yang dianalisis akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Setiap sampel yang dianalisis memiliki absorbansi pada panjang gelombang yang berbeda. Panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi digunakan untuk menganalisis konsentrasi zat. Absorbansi dari cahaya yang diserap oleh sampel berbanding lurus dengan konsentrasi zat dari sampel di dalam kuvet (Sastrohamidjojo, 2001). Spektrofotometri UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang di analisa, sehingga dapat digunakan untuk analisa kuantitatif maupun kualitatif (Sri Rahayu, dkk, 2009). Tiap sampel akan menyerap cahaya pada panjang gelombang yang berbeda tergantung pada senyawa atau warna yang terbentuk (Cairns, 2009). Untuk memantapkan ketepatan pengukuran, maka

bahan yang hendak diukur konsentrasi zatnya dibandingkan dengan larutan standar yang telah diketahui konsentrasinya (Kemenkes, 2010).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah selesai dilakukan di Laboratorium Biokimia, Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, pipet tetes, neraca analitik, ayakan 60 mesh, batang pengaduk, oven, cawan porselen, spatula, bola hisap, rak tabung reaksi, penjepit kayu, desikator, *aluminium foil*, *hot plate*, vortex, seperangkat alat sentrifugasi dan spektrofotometer UV-Vis.

3.3 Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul beras putih yang diperoleh dari penggilingan padi di Kecamatan Karang Ploso, Kabupaten Malang, ragi tempe merek raprima yang diperoleh dari Pasar Besar Malang, kedelai putih yang diperoleh dari Pasar Besar Malang.

Bahan – bahan analisis yang digunakan dalam penelitian ini adalah DPPH (*1,1-difenil-2-pikril hidrazil*), larutan standar γ -oryzanol, metanol, pelarut n-heksana, etil asetat dan akuades.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF). Faktor pertama yaitu penambahan bekatul beras putih (15%, 20%, dan 25%) sedangkan faktor kedua yaitu lama fermentasi (1, 2, dan 3 Hari). Rancangan tersebut diperoleh 9 kombinasi perlakuan, masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

3.5 Tahapan Penelitian

Adapun penelitian ini telah dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi sampel
2. Pembuatan tempe bekatul beras putih
3. Analisis aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikril hidrazil*)
4. Analisis Kadar γ -oryzanol pada semua sampel
5. Uji organoleptik yang meliputi: Aroma, rasa, dan warna
6. Analisis Data

3.6 Pelaksanaan Penelitian

3.6.1 Preparasi sampel

Penyiapan bahan baku yaitu biji kedelai, bekatul beras putih, serta ragi tempe. Dilakukan penyortiran pada biji kedelai dengan tujuan untuk memisahkan antara kedelai yang baik dan kedelai yang cacat. Proses penyortiran dilakukan dengan cara kedelai direndam dengan air di dalam wadah, kemudian diambil kedelai yang baik yakni yang berada didasar wadah, kedelai yang mengapung merupakan kedelai yang cacat sehingga tidak bisa digunakan untuk pembuatan tempe. Setelah itu, ganti air rendaman dengan air baru kemudian kedelai direndam selama semalam \pm 12 jam.

Disiapkan bekatul dan dibersihkan dari pengotor kasarnya dengan cara diayak menggunakan ayakan 60 mesh kemudian dibungkus dengan *aluminium foil*.

3.6.2 Pembuatan Tempe Bekatul Beras Putih (Setyowati, dkk, 2008)

Pembuatan tempe bekatul beras putih diawali dengan kedelai sebanyak 500 g yang telah direndam ditiriskan kemudian dikukus selama 10 menit bersamaan dengan bekatul beras putih yang telah ditimbang sesuai dengan perlakuan yaitu penambahan bekatul beras putih (15%, 20%, dan 25%). Kedelai dan bekatul beras putih yang sudah dikukus kemudian diangin-anginkan sampai dingin. Setelah dingin, kedelai beserta bekatul beras putih ditambah ragi tempe sebanyak 0,5% dari sampel, dan dicampur sampai rata. Kedelai dan bekatul beras putih dikemas dalam plastik yang telah dilubangi dengan cara ditusuk-tusuk dengan tusuk gigi. Difermentasi sesuai dengan perlakuan yaitu selama 1, 2, dan 3 hari pada suhu kamar.

3.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikr8ilhidrazil*)

3.6.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum (Damanis, 2020)

Dimasukkan metanol 80 % sebanyak 4 mL ke dalam kuvet, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL. Selanjutnya dicari λ maks larutan pada rentangan Panjang gelombang 500-600 nm dan dicatat hasil pengukuran λ maks untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

3.6.3.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel (Ruen-ngam, 2021)

Langkah awal membuat absorbansi kontrol yaitu 1 mL larutan DPPH 0,2 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi, Kemudian ditambahkan 3 mL metanol 80 %,

kemudian tabung reaksi ditutup dengan *aluminium foil*. Setelah itu, diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Kemudian, larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada λ maks yang didapatkan pada tahap sebelumnya.

Sampel diblender hingga halus kemudian diambil sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam 5 mL metanol. Kemudian diambil 1 mL larutan sampel kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan 1 mL DPPH 0,2 mM, selanjutnya ditandabatkan dengan pelarut metanol hingga 5 mL. Setelah itu, diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian, disiapkan pula tempe tanpa bekatul sebagai kontrol kandungan antioksidan. Absorbansi DPPH diukur dengan spektrometer sinar tampak pada panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan pada pengukuran Panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan sebelumnya. Persentase penangkapan radikal bebas dinyatakan dalam persentase penghambatan radikal bebas DPPH (Molyneux, 2004).

Data absorbansi yang diperoleh dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Menurut Yuliani (2011) mengatakan apabila % aktivitas antioksidan sampel sama atau mendekati nilai aktivitas antioksidan pembanding maka dapat dikatakan bahwa sampel berpotensi sebagai salah satu alternatif antioksidan. Nilai tersebut diperoleh dari Persamaan 3.3

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \dots\dots\dots (3.3)$$

Keterangan: A0 = absorbansi kontrol

A1 = absorbansi sampel

3.6.4 Analisis Kadar γ -Oryzanol pada Sampel (Krishna et al 2006)

3.6.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 10 mL larutan standar γ -oryzanol dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan dengan etil asetat. Setelah itu, larutan dihomogenkan kemudian dicari λ maks larutan pada rentangan Panjang gelombang 200-500 nm dan dicatat hasil pengukuran λ maks untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

3.6.4.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan standar γ -oryzanol dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah ditemukan pada tahap sebelumnya. Selanjutnya, ditimbang masing-masing sampel yakni sampel tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih mentah sebanyak 1 g, sebelumnya sampel diblender terlebih dahulu agar mudah saat dilarutkan. Kemudian ditambahkan pelarut n-heksana 10 mL pada tabung sentrifus. Selanjutnya, larutan divortex selama 2 menit, kemudian disentrifusi pada 3000 rpm selama 20 menit. Selanjutnya, diambil sebanyak 1 mL supernatan dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan pelarut n-heksana hingga tanda batas. Setelah itu, sampel diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Dari data hasil absorbansi, selanjutnya dihitung persamaan kurva bakunya dan diperoleh persamaan garis ($y = ax + b$) (Noviyanto dkk, 2014).

3.6.5 Uji Organoleptik yang Meliputi: Aroma, Rasa, dan Warna

Uji organoleptik adalah pengujian tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih yang diukur dengan alat indra untuk aroma, rasa, dan warna yang dilakukan panelis. Panelis yang melakukan uji organoleptik memberikan penilaian dan tanggapan dengan cara mengisi formulir yang telah disediakan. Panelis yang

digunakan panelis terlatih (memiliki kepekaan tinggi), sebanyak 15-20 panelis dengan syarat berusia diatas 20 tahun, tidak dalam keadaan lapar, bersedia menilai dan tidak dalam keadaan sakit.

Daya terima adalah penilaian panelis tentang suka atau tidak suka terhadap tempe bekatul meliputi: aroma, rasa, dan warna. Tingkat kesukaan menggunakan skala numerik dan dikelompokkan menjadi 5 kategori parameter (tidak suka, kurang suka, agak suka, suka dan sangat suka).

3.6.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini adalah peningkatan aktivitas antioksidan tempe kedelai yang telah terfortifikasi bekatul beras putih dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*), kemudian data dianalisis dengan menghitung nilai absorbansi yang didapat apakah ada pengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Data kadar γ -oryzanol dari tempe kedelai yang telah terfortifikasi bekatul beras putih dianalisis berdasarkan hasil perhitungan persamaan kurva kalibrasinya. Data hasil uji organoleptik tempe bekatul dalam Uji organoleptik yang meliputi: aroma, rasa, dan warna, dianalisis dengan mencari hasil rata-rata dari nilai yang diberikan oleh panelis.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel biji kedelai yang diperoleh dari Pasar Besar Malang. Kemudian biji kedelai akan dibilas sampai bersih untuk menghilangkan semua kotoran-kotoran dan zat-zat yang tidak diinginkan yang menempel di kedelai. Setelah itu, kedelai direndam dan disortir biji kedelai berdasarkan biji kedelai yang terbaik. Kedelai yang segar dan sehat memiliki kepadatan yang lebih tinggi dikarenakan isi biji yang utuh dan tidak ada rongga udara di dalamnya. Pemilihan biji kedelai yang terbaik yakni diambil biji kedelai yang berada di dasar air bukan yang mengapung di permukaan air rendaman, dikarenakan biji yang mengapung tersebut memiliki kualitas yang buruk dan merupakan kedelai yang rusak atau busuk sehingga memiliki kecenderungan mengapung di permukaan (Astawan et al, 2015). Setelah disortir kedelai akan direndam selama 3 jam, fungsi dari perendaman ini adalah untuk melembutkan biji kedelai agar air rendaman masuk ke dalam biji kedelai melalui kulitnya, sehingga tekstur dari kedelai akan menjadi lebih lunak dan dapat mempersingkat waktu saat perebusan. Kemudian kedelai yang telah direndam selama 3 jam akan dibilas dengan air bersih untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel saat proses perendaman. Kedelai yang telah dibilas kemudian akan direbus selama 1 jam, tujuan dari perebusan itu sendiri adalah untuk menghilangkan bakteri yang ada pada kedelai. Kedelai yang sudah direndam mengandung banyak mikroba dari air dan udara yang ada. Sehingga perebusan dapat mematikan sebagian besar mikroba tersebut sehingga nantinya hanya akan ada mikroba yang kita inginkan misalnya *Rhizopus*. Perebusan juga berguna untuk memudahkan pengupasan kulit kedelai (Astawan et al, 2015). Setelah dilakukan perebusan kedelai akan kembali direndam selama \pm 12 Jam, fungsi dari perendaman kembali yakni untuk membantu proses pengupasan kulit ari kedelai yang sudah melunak akibat perebusan sebelumnya. Perendaman kembali juga berfungsi untuk menurunkan suhu kedelai untuk membantu mendinginkan secara merata. Kedelai yang telah direndam kemudian akan kembali dibilas dengan air bersih untuk menghilangkan zat-zat yang tidak diinginkan. Setelah

itu, kedelai direbus kembali selama 15- 30 menit fungsi dari perebusan yakni untuk menghilangkan bakteri yang menempel pada kedelai saat dilakukan proses perendaman. Setelah itu, kedelai ditiriskan dan ditunggu hingga dingin agar siap untuk diberi ragi atau kultur mikroba bisa tumbuh dengan optimal tanpa kalah oleh mikroba yang lain.

Penelitian ini juga menggunakan sampel bekatul beras putih yang diperoleh dari tempat penggilingan padi di Kecamatan Karang Ploso, Kabupaten Malang. Bekatul yang diperoleh diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh untuk mendapatkan partikel bekatul yang lebih kecil sehingga lebih mudah saat akan ditambahkan dengan kedelai. Kemudian bekatul beras putih dibungkus dengan aluminium foil untuk menghindari bekatul terkontaminasi dengan zat yang tidak diinginkan.

4.2 Pembuatan Tempe Bekatul Beras Putih

Tempe merupakan produk pangan tradisional Indonesia yang dihasilkan melalui proses fermentasi kedelai (*Glycine max L.*) dengan menggunakan kapang atau mikroba *Rhizopus sp.* Konsumsi tempe memberikan manfaat dalam memenuhi kebutuhan protein nabati dengan harga yang terjangkau, dapat membantu menurunkan kadar kolesterol, menjaga kesehatan pencernaan, serta aman untuk penderita diabetes karena memiliki indeks glikemik rendah. Tempe juga menjadi salah satu sumber pangan fungsional yang mendukung pola makan sehat dan berkelanjutan (Ovani, 2013). Hal ini, sesuai dengan prinsip syariat Islam yang mana kita diwajibkan untuk mengonsumsi makanan halal, baik dan bergizi yang merupakan bagian dari anjuran Al-Qur'an (Muzakki, 2020). Allah berfirman dalam Q.S An-Nahl [16] ayat 114:

فَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا وَاشْكُرُوا نِعْمَتَ اللَّهِ إِنْ كُنْتُمْ تَعْبُدُونِ

Artinya: " Maka makanlah yang halal lagi baik dari rezeki yang telah Allah karuniakan kepadamu, dan syukurilah nikmat Allah, jika kamu hanya kepada-Nya saja menyembah." (Q.S An-Nahl:114)

Quraish Shihab (2002) menafsirkan bahwa ibadah kepada Allah tidak hanya berupa shalat dan puasa, melainkan juga mencakup cara manusia bersikap terhadap makanan dan

rezekinya. Dengan kita memakan makanan yang halal, menjaga kesehatan, serta menghindari yang haram dan berbahaya, merupakan sikap kita dalam mensyukuri nikmat Allah dan menunjukkan apakah ibadah kita benar-benar tulus ditujukan hanya kepada-Nya. Muzakki (2020) menafsirkan bahwa makanan yang baik adalah yang aman, menyehatkan, tidak berbahaya, dan bergizi. Dalam pembuatan tempe yang melalui proses fermentasi yang higienis dan tanpa bahan haram yang terkandung di dalamnya, dengan kedua aspek tersebut tempe dapat memenuhi kriteria halal secara syariah dan baik dari sisi kesehatan.

Dalam pembuatan tempe pada penelitian kali ini bahan utamanya yakni kedelai yang akan ditambahkan dengan bekatul beras putih, yang mana kedua bahan ini merupakan bahan pangan nabati yang disebutkan dalam Al-Qur'an, meskipun tidak secara langsung menyebutkan kedelai dan bekatul secara nama, keduanya termasuk dalam tumbuhan pangan yang Allah ciptakan untuk manusia. Hal ini disebutkan dalam Firman Allah Q.S Abasa [80] ayat 27-32:

فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ۖ وَعِنَبًا وَقَضْبًا ۖ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ۖ وَحَدَاقٍ غَلْبًا ۖ وَفَاكِهَةً وَأَبًّا ۖ مَتَاعًا لَّكُمْ ۖ وَلَا نَعْمًا لِّكُمْ ۖ

Artinya: *"Lalu kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu, dan anggur serta sayur-sayuran, dan zaitun dan pohon kurma, dan kebun-kebun yang rindang, dan buah-buahan serta rerumputan. (semua itu) untuk kesenanganmu dan untuk hewan-hewan ternakmu."* (Q.S Abasa : 27-32)

Quraish Shihab (2002) menafsirkan bahwa Allah menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan biji-bijian (seperti gandum, padi, kedelai, jagung, dan lainnya). Allah juga menumbuhkan anggur, berbagai sayuran, zaitun, dan pohon kurma yang memiliki nilai gizi serta beraneka ragam manfaatnya. Allah menyempurnakan karunia-Nya dengan menghadirkan kebun-kebun rindang yang indah, menyejukkan, dan menjadi sumber rezeki untuk kita bersyukur atas karunia dan nikmat-Nya. Mirna (2017) dapat ditafsirkan bahwa Allah mencurahkan rezeki dalam bentuk tumbuhan bijian, anggur, sayuran, kurma, dan buah-buahan sebagai nikmat bagi manusia dan ternak. Kedelai dan bekatul termasuk dalam kategori bijian yang dimaksud, dan dapat ditegaskan bahwa keduanya merupakan bagian dari rezeki yang layak dikonsumsi dan dihargai.

Proses pembuatan tempe dimulai dengan kedelai hasil preparasi yang telah dilakukan pada proses sebelumnya ditimbang sebanyak 200 g dilakukan sebanyak tiga kali (triplo)

untuk menentukan takaran jumlah kedelai sesuai dengan resep untuk pembuatan tempe. Kemudian kedelai ditambah dengan bekatul beras putih sebanyak 15%, 20% dan 25%. Setelah itu, kedelai yang telah ditambah bekatul beras putih diberi ragi masing-masing sebanyak 2,5 g kemudian dicampur hingga rata untuk menyebarkan spora *Rhizopus* secara merata ke semua biji kedelai yang telah ditambahkan bekatul beras putih. Selanjutnya, kedelai bekatul beras putih yang telah ditambah ragi dikemas dalam plastik bening untuk menentukan bentuk dan ukuran tempe serta memberi wadah yang dapat menjaga kelembapan. selanjutnya ditusuk atau dilubangi dengan tusuk gigi untuk mengatur kelembapan dan sirkulasi udara. Setelah itu, kedelai bekatul beras putih difermentasi dengan variasi lama fermentasi yaitu 1 hari, 2 hari, dan 3 hari bertujuan untuk menumbuhkan *Rhizopus* dan membentuk lapisan putih (Miselium) yang mengikat biji kedelai agar menjadi padat.



Gambar 4.1 Tempe Hasil Penelitian

4.3 Analisis Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2pikril hidrazil)

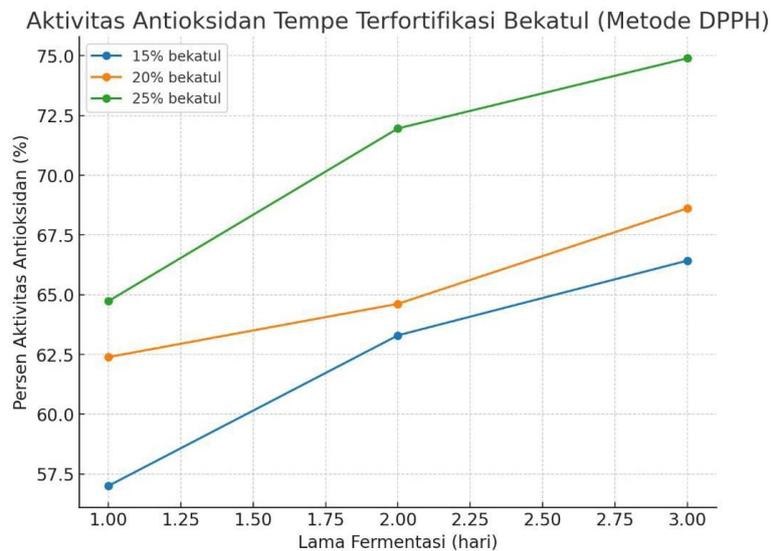
Hasil pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan dengan metode DPPH (1,1-difenil-2pikril hidrazil) menunjukkan bahwa penambahan bekatul beras putih pada tempe memberikan peningkatan terhadap persen inhibisi radikal bebas.

Tabel 4.1 Aktivitas antioksidan pada tempe fortifikasi bekatul beras putih

Penambahan Bekatul (%)	Lama Fermentasi (Hari)	% Aktivitas Antioksidan
15	1	57.47
15	2	60.23
15	3	64.93
20	1	62.36
20	2	66.03
20	3	69.76
25	1	67.61
25	2	71.51
25	3	75.25

% Aktivitas antioksidan terendah diperoleh pada perlakuan penambahan bekatul beras putih sebesar 15% dengan lama fermentasi 1 hari, yaitu 57,47% sedangkan nilai tertinggi ditemukan pada penambahan bekatul beras putih 25% dengan lama fermentasi 3 hari, yaitu 75,25%.

Peningkatan aktivitas antioksidan pada tempe terfortifikasi bekatul beras putih dapat dijelaskan dengan kandungan senyawa bioaktif dalam bekatul, seperti γ -oryzanol, tokoferol, dan senyawa fenolik lainnya, yang memiliki kemampuan menangkap radikal bebas. γ -oryzanol misalnya berperan sebagai *free radical scavenger* dengan mendonorkan atom hidrogen atau elektron kepada radikal bebas DPPH sehingga radikal tersebut menjadi stabil (Chotimah et al., 2020). Selain itu, lama fermentasi juga mempengaruhi aktivitas antioksidan. Proses fermentasi oleh kapang *Rhizopus* memecah senyawa fenolik terikat pada matriks protein dan serat menjadi bentuk bebas yang lebih reaktif terhadap radikal bebas (Astuti et al., 2021). Hal ini terlihat pada data bahwa setiap peningkatan lama fermentasi dari 1 hari ke 3 hari menghasilkan kenaikan persen aktivitas antioksidan, baik pada penambahan bekatul 15%, 20%, maupun 25%.



Gambar 4.2 Grafik aktivitas antioksidan tempe terfortifikasi bekatul beras putih dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikril hidrazil*)

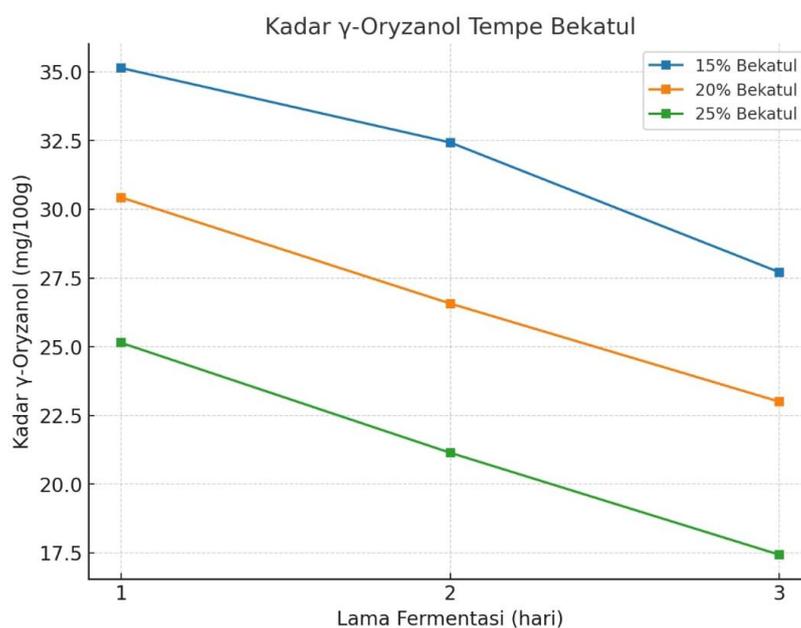
Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Yuliani et al. (2018) yang menyatakan bahwa kombinasi isoflavon dari kedelai dan fenolik dari bekatul dapat menghasilkan efek sinergis terhadap kemampuan antioksidan. Isoflavon bekerja melalui gugus hidroksil aromatik yang mampu menetralkan radikal bebas, sedangkan fenolik dari bekatul berperan melalui donasi hidrogen dan kemampuan mengikat ion logam pro-oksidatif.

Peningkatan konsentrasi bekatul beras putih yang terlalu tinggi dapat menimbulkan efek penurunan efektivitas jika tidak diimbangi dengan pengolahan yang tepat. Hal ini dikarenakan kandungan serat dan lemak dalam bekatul yang tinggi dapat menghambat pelepasan senyawa bioaktif selama ekstraksi (Amalia et al., 2020). Pada penelitian ini, efek tersebut belum terlihat karena kisaran penambahan bekatul beras putih masih berada pada rentang menengah (15-25%).

Secara keseluruhan, hasil analisis ini menunjukkan bahwa penambahan bekatul beras putih dan lama fermentasi berpengaruh positif terhadap peningkatan aktivitas antioksidan tempe. Tempe terfortifikasi bekatul memiliki potensi tinggi sebagai pangan fungsional yang tidak hanya kaya protein tetapi juga mengandung senyawa antioksidan yang bermanfaat bagi kesehatan, khususnya dalam mencegah stres oksidatif dan penyakit degeneratif (Mumpuni, 2013).

4.4 Analisis Kadar γ -Oryzanol pada Sampel

γ -Oryzanol merupakan kelompok senyawa fenolik yang secara alami terdapat dalam bekatul atau padi. Senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, sehingga mampu menangkal radikal bebas dan memberikan efek protektif terhadap kerusakan oksidatif pada membran sel (Xu dan Godber, 2001) pada penelitian kali ini analisis kadar γ -oryzanol dilakukan pada sampel tempe bekatul beras putih dilakukan dengan menggunakan kurva kalibrasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar γ -oryzanol pada tempe bekatul beras putih mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya persentase penambahan bekatul beras putih dan lama fermentasi. Nilai konsentrasi diperoleh melalui perhitungan kurva kalibrasi dengan persamaan linear $y = ax + b$, di mana y merupakan absorbansi yang diukur, sedangkan x adalah konsentrasi γ -oryzanol (mg/L). persamaan ini memiliki nilai koefisien determinasi (R^2) yang tinggi (> 0.99), menunjukkan hubungan linier yang sangat baik antara absorbansi dan konsentrasi.



Gambar 4.3 Grafik kadar γ -oryzanol pada tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih

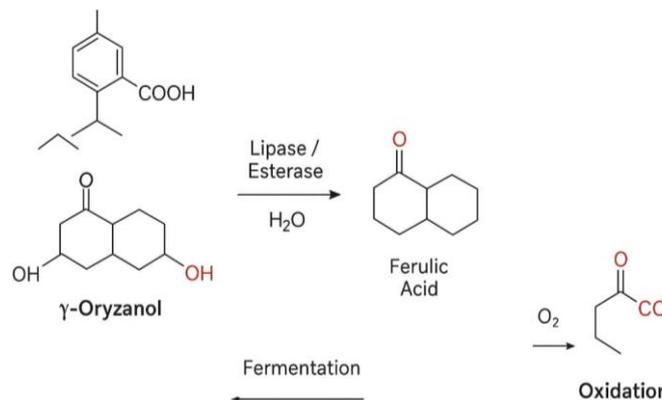
Kadar γ -oryzanol tertinggi terdapat pada fortifikasi 15% dengan lama fermentasi selama 1 hari. γ -oryzanol merupakan senyawa fitokimia yang terdiri dari campuran ester asam ferulat dengan sterol dan *triterpene alcohol*, yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan tinggi dan berperan dalam menurunkan kadar kolesterol (Xu et al., 2001).

Namun, pada fermentasi hari ke-3, kadar γ -oryzanol mengalami penurunan pada tingkat fortifikasi. Penurunan ini diduga disebabkan oleh degradasi parsial senyawa γ -oryzanol akibat aktivitas enzim oksidatif yang dihasilkan oleh kapang *Rhizopus oligosporus* selama fermentasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa meskipun γ -oryzanol relatif stabil pada pemanasan sedang, keberadaan enzim lipase dalam kondisi aerob dapat mengakibatkan oksidasi asam ferulat dan penurunan konsentrasi ester-ester oryzanol (Lestari et al., 2017; sompong et al., 2011).

Tabel 4.2 Kadar γ -oryzanol tempe fortifikasi bekatul beras putih (mg/100g)

Fortifikasi Bekatul	Fermentasi 1 Hari	Fermentasi 2 Hari	Fermentasi 3 Hari
15%	35,14	32,43	27,71
20%	30,43	26,57	23,00
25%	25,14	21,14	17,43

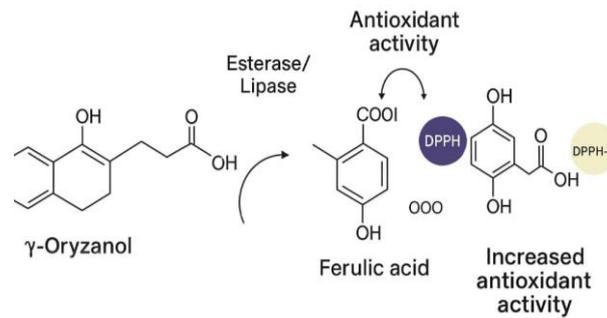
γ -Oryzanol (ester) + H₂O $\xrightarrow{\text{Lipase}}$ Asam Ferulat + Fitosterol (Sompong et al., 2011)



Gambar 4.4 Reaksi γ -oryzanol saat fermentasi

γ -Oryzanol terjadi degradasi selama proses fermentasi. Hal ini, menyebabkan semakin bertambahnya konsentrasi penambahan bekatul beras putih semakin menurun kadar γ -oryzanol akibat hidrolisis (Srisaipet & Nuddagul, 2014). Pada proses penambahan konsentrasi bekatul beras putih mengakibatkan meningkatnya area permukaan sehingga, terjadi peningkatan paparan enzim (lipase & peroksidase) yang ada di bekatul, sehingga mempercepat hidrolisis ester γ -oryzanol menjadi asam ferulat + sterol bebas. Semakin banyak bekatul yang ditambahkan, semakin besar pula total enzim yang terbawa (Thanonkaew et al, 2012). Enzim lipase/esterase dari kapang menguraikan γ -oryzanol menjadi asam ferulat dan senyawa fenolik yang lain, sehingga menyebabkan kadar γ -

oryzanol menurun karena terpecahnya ester-ester γ -oryzanol. Hasil degradasi γ -oryzanol yakni asam ferulat memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi karena gugus fenoliknya (Sompong et al., 2011). Gugus fenolik asam ferulat mendonorkan atom hidrogen ke DPPH sehingga DPPH tereduksi dan terukur sebagai aktivitas antioksidan (Yuliani et al, 2018).



Gambar 4.5 Reaksi donor hidrogen dari asam ferulat ke DPPH

Dapat disimpulkan kenaikan aktivitas antioksidan tempe yang terfortifikasi bekatul beras putih disebabkan adanya kontribusi senyawa antioksidan lain hasil dari degradasi γ -oryzanol yang terjadi saat proses fermentasi berlangsung. Penurunan γ -oryzanol juga bisa disebabkan oleh pergeseran komposisi antioksidan fermentasi bekatul (Xu dan Godber, 2001).

4.5 Uji Organoleptik yang Meliputi: Aroma, Rasa, dan Warna

Uji organoleptik dilakukan untuk mengetahui tingkat penerimaan panelis terhadap tempe terfortifikasi bekatul beras putih pada variasi penambahan bekatul beras putih 15%, 20%, dan 25% dengan lama fermentasi 1,2, dan 3 Hari. Parameter yang diuji yakni aroma, rasa, dan warna kemudian diujikan kepada 10 panelis terlatih. Data yang diperoleh kemudian dianalisis untuk melihat perbedaan penambahan bekatul beras putih dan lama fermentasi terhadap mutu atau kualitas dari tempe.

Tabel 4.3 Rata-rata penilaian uji organoleptik

Penambahan Bekatul (%)	Lama Fermentasi (Hari)	Aroma	Rasa	Warna
15	1	3.8	3.6	4.1
15	2	4.3	4.5	4.5
15	3	3.9	3.7	4.0
20	1	3.9	3.7	4.0
20	2	4.4	4.4	4.4
20	3	3.8	3.6	3.8
25	1	3.5	3.4	3.7
25	2	3.8	3.7	4.0
25	3	3.3	3.1	3.4

Keterangan:

Skala penilaian: 1 = sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = cukup suka, 4 = suka, 5 = sangat suka

a. Aroma

Aroma tempe oleh aktivitas enzim kapang *Rhizopus* selama fermentasi. Penambahan beras putih sebanyak 15% dan 20% masih bias diterima para panelis karena aroma khas tempe masih dominan. Pada penambahan 25%, aroma tempe menjadi lebih terasa aneh dengan sedikit bau dari bekatul beras putih yang disebabkan oleh senyawa lipid bebas hasil dari hidrolisis. Saat fermentasi selama 1 hari menghasilkan aroma yang relatif lemah, sedangkan fermentasi 2 hari dinilai optimal karena aroma tempe terbentuk sempurna. Fermentasi 3 hari menghasilkan aroma yang lebih tajam dan sedikit menyengat akibat pembentukan senyawa volatil dari degradasi protein dan lemak (Aini et al., 2019).

b. Rasa

Rasa tempe dipengaruhi oleh kombinasi bahan baku dan hasil metabolisme kapang. Saat penambahan bekatul beras putih sebanyak 15%, tempe memberikan rasa yang gurih alami tanpa mengganggu cita rasa khas tempe itu sendiri. Pada penambahan bekatul beras putih 20% masih dapat diterima namun, saat penambahan 25% sebagian panelis menilai terdapat rasa asam dan pahit yang berasal dari senyawa fenolik bekatul beras putih. Saat fermentasi 2 hari dinilai memberikan rasa paling disukai karena proses pembentukan senyawa penyedap alami seperti peptida dan asam amino berjalan optimal. Fermentasi 1 hari menghasilkan rasa yang agak hambar, sedangkan fermentasi 3 hari menghasilkan rasa yang sedikit asam dan sedikit pahit akibat akumulasi asam organik.

c. Warna

Penambahan bekatul beras putih memberikan perbedaan terhadap warna tempe yang dihasilkan. Bekatul memiliki pigmen alami seperti oryzanol dan fenolik yang memberikan rona kecokelatan pada produk. Pada penambahan bekatul 15%, warna tempe masih relatif putih dan sedikit kekuningan. Namun, pada konsentrasi 20% *dan* terutama 25%, warna menjadi lebih gelap sehingga penilaian penerimaan panelis menurun. Lama fermentasi juga mempengaruhi warna. Fermentasi 1 hari menghasilkan warna yang lebih cerah, sedangkan fermentasi 3 hari cenderung menyebabkan perubahan warna menjadi coklat keabu-abuan akibat degradasi protein dan oksidasi senyawa fenolik. Hasil ini sesuai dengan penelitian Widianingsih et al. (2017) yang melaporkan bahwa peningkatan bahan tambahan berpigmen dan waktu fermentasi dapat menurunkan kecerahan tempe.

Secara keseluruhan tempe yang terfortifikasi bekatul beras putih sebanyak 15% -20% dan dengan lama fermentasi selama 2 hari mendapatkan penilaian penerimaan tertinggi pada semua parameter uji organoleptik. Penambahan bekatul beras putih hingga 25% dan fermentasi lebih dari 2 hari cenderung menurunkan tingkat penerimaan panelis karena terjadinya perubahan warna menjadi lebih gelap, aroma lebih tajam, tekstur lebih keras atau rapuh, dan rasa yang sedikit asam dan pahit. Hasil ini menunjukkan bahwa variasi penambahan bekatul beras putih dan lama fermentasi perlu dioptimalkan untuk menghasilkan tempe fortifikasi dengan mutu sensori yang tetap disukai konsumen. Penelitian ini sesuai dengan konsep pengembangan pangan fungsional, di mana peningkatan nilai gizi melalui fortifikasi harus tetap mempertahankan karakteristik sensori yang baik (Hidayat & Zulaidah, 2020).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

- Terdapat perbedaan variasi konsentrasi penambahan bekatul beras putih dan lama fermentasi terhadap hasil uji organoleptik tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih. Semakin banyak penambahan konsentrasi dan lama fermentasi bekatul beras putih, semakin rendah tingkat kesukaan panelis terhadap tempe yang terfortifikasi bekatul beras putih. Didapat rata-rata tertinggi yakni dengan rata-rata 4.5 pada uji organoleptik dengan parameter aroma, rasa, dan warna yakni pada variasi penambahan 15% bekatul beras putih dengan lama fermentasi 2 hari. Aroma bekatul yang tercium tidak terlalu berbau tajam dan berwarna putih kecokelatan dengan rasa seperti tempe biasa.
- Aktivitas antioksidan pada tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih mengalami peningkatan. Aktivitas antioksidan tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan bekatul 25% dengan lama fermentasi 3 hari, yaitu sebesar 75,25%.
- Kadar senyawa γ -oryzanol pada tempe kedelai yang terfortifikasi bekatul beras putih mengalami penurunan, semakin tinggi persentase penambahan bekatul beras putih dan lama fermentasi, semakin rendah kadar γ -oryzanolnya. Kadar γ -oryzanol tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan bekatul 15% yakni sebesar 35,14 mg/100 g dengan lama fermentasi 1 hari.

5.2 Saran

Perlu dilakukan validasi dengan menggunakan analisis kuantitatif (HPLC) untuk mengkonfirmasi dan menguantifikasi komponen γ -oryzanol serta fenolik yang spesifik pada tempe yang telah terfortifikasi bekatul beras putih, sehingga dapat menghubungkan senyawa individual dengan aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, N. 2022. Pengaruh Pemberian Konsentrasi Ragi dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Tempe Segar di Rumah Tempe Indonesia. *Skripsi*. Serpong: Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Politeknik Enjiniring Pertanian Indonesia (Pepi).
- Aini, N., Rahayu, S., & Wulandari, N. 2019. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Sifat Fisik, Kimia, Dan Sensori Tempe Kedelai. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 12(2), 87-96.
- Albiner, S. 2003. *Pendekatan Fortifikasi Untuk mengatasi Masalah Kekurangan Zat Gizi Mikro*. Sumatera Utara: Fakultas Kesehatan Masyarakat.
- Aldi, Y., Rasyadi, Y., & Handayani, D. 2014. Aktivitas Imunomodulator dari Ekstrak Etanol Meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) terhadap Ayam Broiler. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*. 1(1). 20-26.
- Amalia, R., Sari, N., & Wulandari, P. 2020. Pengaruh Penambahan Bekatul Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Produk Pangan. *Jurnal Teknologi Pangan*. 12(2). 87-95.
- Ambarwati, E. T., & Suryani, T. 2016. Kadar Protein dan Kualitas Tempe Koro Pedang dengan Penambahan Bekatul dan Konsentrasi Ragi Tempe Yang Berbeda. *Doctoral Dissertation*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Astawan, M. 2004. *Sehat dengan Hidangan Kacang dan Biji-bijian*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Astawan, M., et al. 2015. Karakteristik Fisiokimia dan Sensori Tempe dari beberapa Varietas Kedelai Lokal dan Impor. *Jurnal Pangan*. 24(3). 187-196.
- Astuti, M., Santoso, U., & Andarwulan, N. 2021. Perubahan Senyawa Bioaktif Selama Fermentasi Tempe Dan Implikasinya Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Indonesia Food And Nutrition Progress*, 18(1). 45-54
- Astuti, R. N. P. 2003. Optimasi Produksi Protein Sel Tunggal (PST) Mikro alga Hijau (*Chlorella Vulgaris* Bey) Dengan Menggunakan Substrat Air Rebusan Kedelai. *Doctoral Dissertation*. Prodi Teknologi Pertanian Unika Soegijapranata.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2009. SNI 01-3751-2009. *Tepung Terigu Sebagai Bahan Makanan*. Jakarta (ID): Badan Standar Nasional.
- Cairns, D. 2009. *Intisari Kimia Farmasi Edisi Kedua*. Penerjemah: Puspita Rini.
- Chotimah, K., & Suryani, N. 2020. Pengaruh Praktek Kerja Lapangan, Motivasi Memasuki Dunia Kerja, dan Efikasi Diri Terhadap Kesiapan Kerja. *Economic Education Analysis Journal*, 9(2). 391-404.
- Cui, X., Wang, L., Zuo, P., Han, Z., Fang, Z., Li, W., & Liu, J. 2004. D-Galactose-Caused Life Shortening in *Drosophila Melanogaster* and *Musca Domestica* Is Associated with Oxidative Stress. *Biogerontology*. 5. 317-325.
- Damanis, F. V., Wewengkang, D. S., & Antasionasti, I. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania Momus* Dengan Metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Journal Pharmacon*. 9(3). 464-469.
- Dwinaningsih, E. A. 2010. Karakteristik Kimia Dan Sensori Tempe Dengan Variasi Bahan Baku Kedelai/Beras Dan Penambahan Angkak Serta Variasi Lama Fermentasi. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Pertanian Universitas sebelas Maret.
- Ellent, S.S.C., L. Dewi dan Marisa Chr. Tapilouw. 2022. Karakteristik Mutu Tempe Kedelai (*Glycine max* L.) yang Dikemas dengan Klobot. *Agritekno: Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol. 11, No. 1: 32-40.

- Estiasih, T., Ahmadi, K., & Santoso, V. 2021. Senyawa Bioaktif Dan Potensi Bekatul Beras (*Oryza Sativa*) Sebagai Bahan Pangan Fungsional. *Teknologi Pangan: Media Informasi Dan Komunikasi Ilmiah Teknologi Pertanian*. 12(1). 30-43.
- Forster GM, Raina K, Kumar A, Kumar S., Agarwal R, Chen MH, Bauer JE, McClung AM, Ryan EP. 2013. Rice Varietal Differences in Bioactive Bran Components for Inhibition of Colorectal Cancer Cell Growth. *Food Chem*. 141: 1545-1552.
- Hadipernata, M., 2007, Mengolah Dedak Menjadi Minyak (*Rice Bran Oil*), *J. Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. 29. hal. 8-10
- Hamzah, N., Ismail, I., & Sandi, A. D. A. 2014. Pengaruh Emulgator Terhadap Aktivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn). *Jurnal Kesehatan*. 7(2).
- Hairani, M., Saloko, S., & Handito, D. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Sosis Analog Tempe Dengan Penambahan Tepung Ubi Jalar Ungu Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Mencit Diabetes: Antioxidant Activity Test of Tempeh Analog Sausage by Addition of Purple Sweet Potato Flour on the Decreasing of Blood Glucose Level in Diabetic Mice. *Pro Food*. 4(2). 383-390.
- Han, S.W., Chee, K.M., Cho, S. 2015. Nutritional Quality of Rice Bran Protein in Comparison to Animal and Vegetable Protein. *Food Chemistry*. 172. 766-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.127>
- Hellosehat. 2017. <https://hellosehat.com/nutrisi/fakta-gizi/manfaat-bekatul-untuk-kesehatan/>. Access 25 Mei 2023.
- Hidayat, S., & Zulaidah, A. 2020. Potensi Pangan Fungsional Berbasis Tempe Dan Prospek Pengembangannya. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. 8(1). 45-56.
- Ismoyo, T. A., Hanifah, Z., & Nugrahani, R. A. 2019. Pengaruh Waktu Sentrifugasi Terhadap Kadar γ -Oryzanol Hasil Ekstraksi Rice Bran Dengan Metode Ultrasonic Bath. *Prosiding Semnastek*.
- Juliano, C., Cossu, M., Alamanni, M. C., & Piu, L. 2005. Antioxidant Activity of Gamma-Oryzanol: Mechanism of Action and Its Effect on Oxidative Stability of Pharmaceutical Oils. *International journal of pharmaceutics*. 299(1-2). 146-154.
- Kemenkes RI. *Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Rikesdas) Indonesia*. 2013. Jakarta (ID): Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Keser, S., Celik S., Turkoglu S., Yilmaz O., Turkoglu I. 2012. Hydrogen Peroxide Radical Scavenging and Total Antioxidant Activity of Hawthorn. *Chem J*. (2). 9-12.
- Krishna, A. G., Hemakumar, K. H., & Khatoon, S. 2006. Acidity of Oryzanol and Its Contribution to Free Fatty Acids Value in Vegetable Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 83(12). 999-1005.
- Kusbandari, A., & Susanti, H. 2017. Kandungan Beta Karoten Dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Terhadap DPPH (1, 1-difenil 2-pikrilhidrazil) Ekstrak Buah Blewah (*Cucumis melo* var. *cantalupensis* L) Secara Spektrofotometri UV-Visibel. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*. 14(1). 37-42.
- Kusnandar, F., Budi, F. S., Regiyana, Y., & Budijanto, S. 2020. Pengembangan Butiran Premiks untuk Fortifikasi Zat Besi dalam Beras. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 25(4), 592-598.
- Kusumastuti, K., & Ayustaningwarno, F. 2013. Pengaruh Penambahan Bekatul Beras Merah Terhadap Kandungan Gizi, Aktivitas Antioksidan Dan Kesukaan Sosis Tempe. *Doctoral Dissertation*. Diponegoro University.

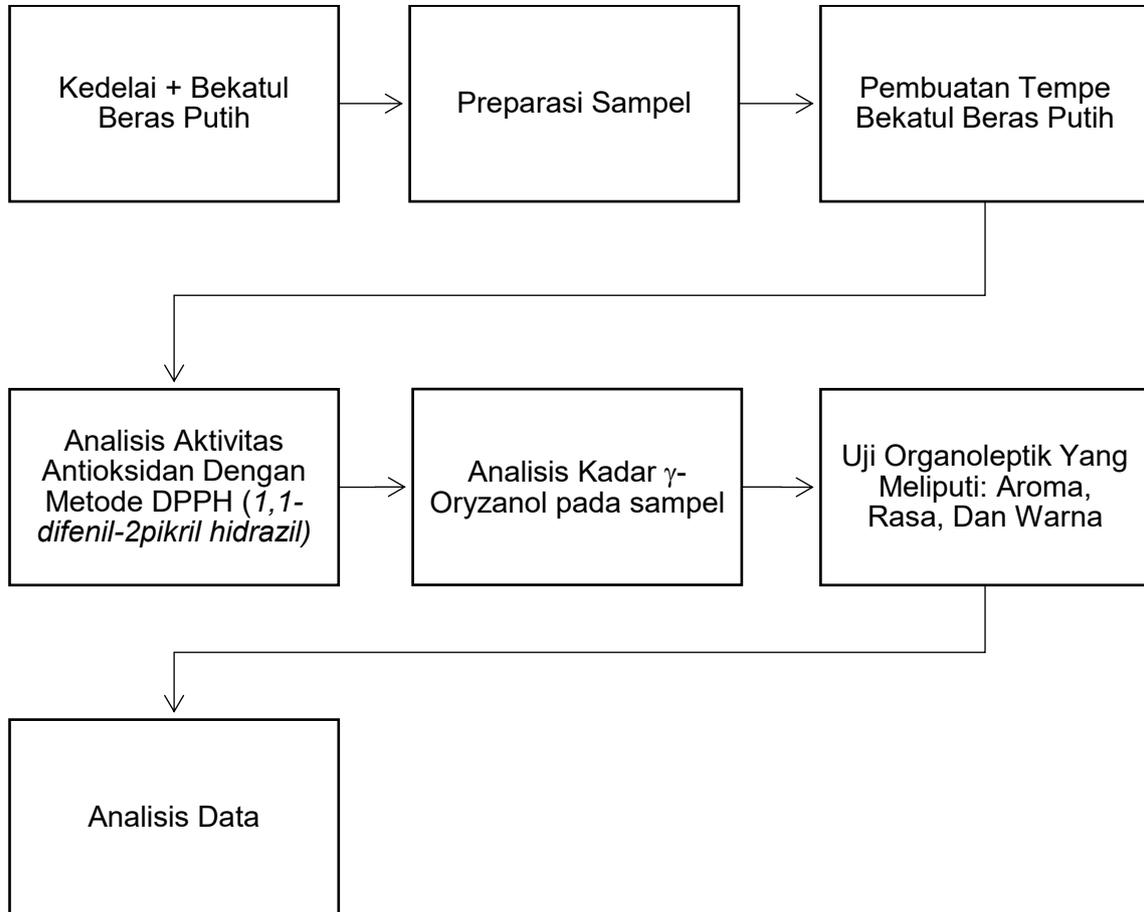
- Lestari, S., Hidayat, T., & Pratiwi, R. 2017. Stabilitas γ -Oryzanol Pada Berbagai Perlakuan Pemanasan. *Jurnal Teknologi Pangan*. 8(2). 102-109.
- Luthfianto, D., Noviyanti, R. D., & Kurniawati, I. 2017. Karakterisasi Kandungan Zat Gizi Bekatul Pada Berbagai Varietas Beras Di Surakarta. *Urecol*. 371-376.
- Mirna Zena Tuarita, D. 2017. Pengembangan Bekatul sebagai Pangan Fungsional: Peluang, Hambatan, dan Tantangan Rice Bran Development as Functional Foods: The Opportunities, Obstacles, and Challenges. *Artikel Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor*.
- Molyneux. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal Science Technology*. Vol.26 (2): 211-219.
- Mumpuni, P. D., & Ayustaningwarno, F. 2013. Analisis Kadar Tokoferol, γ -Oryzanol Dan β -Karoten Serta Aktivitas Antioksidan Minyak Bekatul Kasar. *Doctoral Dissertation*. Diponegoro University.
- Muzakki, Fauzan Ra'if. 2020. Konsep Makanan Halal Dan Thayyib Terhadap Kesehatan Dalam Al-Qur'an (Analisis Kajian Tafsir Tematik). 1. 105-112.
- Otieno, D. O., Ashton, J. F., & Shah, N. P. 2006. Evaluation of Enzymic Potential for Biotransformation of Isoflavone Phytoestrogen in Soymilk by Bifidobacterium Animalis, Lactobacillus Acidophilus and Lactobacillus Casei. *Food Research International*. 39(4). 394-407.
- Ovani, I. 2013. Pengembangan Minuman Emulsi Minyak Bekatul Berflavor Kaya Antioksidan Untuk Pencegahan Penyakit Tidak Menular. *Skripsi*. tidak diterbitkan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Patel, M., & Naik, S. N. Ratnasari, Dian Aprilia. 2004.. Gamma-Oryzanol from Rice Bran Oil – A review. *Journal Of Scientific and Industrial Research*. 63. 569- 578.
- Pemudapost. 2017. <https://pemudapost.blogspot.com/2017/05/antioksidan-alami-bekatul-dalam-krim.html>. Access 25 Mei 2023.
- Permatasari, O. D., Suhartatik, N., & Mustofa, A. 2020. Fortifikasi Antioksidan Dari Bekatul Beras Merah (*Oryza nivara*) pada Tempe Kedelai (*Glycine max* (l) meriil) Dengan Variasi Lama Fermentasi. *JITIPARI (Jurnal Ilmiah Teknologi dan Industri Pangan UNISRI)*. 5(1). 100-110.
- Purwanto, A., Fajriyanti, A. N., & Wahyuningtyas, D. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Rendemen dan Aktivitas Antioksidan dalam Ekstrak Minyak Bekatul Padi (rice bran oil). *Ekuilibrum Journal of Chemical Engineering*. 13(1). 29-34.
- Quraish, Shihab. 2002. Tafsir Al-Mishbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an. *Lentera Hati*.
- Razak, Dang L. A, Nur Yuhasliza A. R., Anisah J., Shaiful A. S., dan Kamariah Long. 2015. Enhancement of Phenolic Acid Content and Antioxidant Activity of Rice Bran Fermented with *Rhizopus oligosporus* and *Monascus purpureus*. *Biotechnology Research Center, Malaysia Agricultural Research and Development*. 14(2): 26–32.
- Ruen-ngam. 2021. *Effect of Subcritical Solvent Extraction Conditions on Amount of γ - Oryzanol and γ -Tocopherol in Dawk Pa-Yom Rice Bran Oil*.
- Rukmini, C., & Raghuram, T. C. 1991. Review Minyak Bekatul & γ -oryzanol. *J. Am. Coll. Nutrition*. 10(6). 593-601.
- Saleh, L. P., Suryanto, E., & Yudistira, A. 2012. Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Pharmakon*. 1(2).

- Sarbini, D., Rahmawaty, S., & Kurnia, P. 2009. Uji Fisik, Organoleptik, dan Kandungan Zat Gizi Biskuit Tempe-Bekatul dengan Fortifikasi Fe dan Zn Untuk Anak Kurang Gizi. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. Vol. 10. No.1. 18-26.
- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Spektrofotometri*. Yogyakarta: Liberty. Universitas Gajah Mada.
- Schmidl, M. K., & Labuza, T. P. 2000. *Essentials of functional foods*. Springer Science & Business Media.
- Schmidt, C. G., Gonçalves, L. M., Prietto, L., Hackbart, H. S., & Furlong, E. B. 2014. Antioxidant Activity and Enzyme Inhibition of Phenolic Acids from Fermented Rice Bran with Fungus *Rizhopus Oryzae*. *Food chemistry*. 146. 371-377.
- Setiawati, A., Yuliani, S. H., Istyastono, E. P., Gani, M. R., Veronica, E. F., Putri, D. C. A., & Kurniawan, A. M. 2014. Analisis Kuantitatif Isoflavon Tempe secara Cepat dan Sederhana Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas (Journal of Pharmaceutical Sciences and Community)*. 11(1).
- Settharaksa, S., Jongjareonrak, A., Hmadhlu, P., Chansuwan, W., & Siripongvutikorn, S. 2012. Flavonoid, Phenolic Contents and Antioxidant Properties of Thai Hot Curry Paste Extract and Its Ingredients as Affected of Ph, Solvent Types and High Temperature. *International Food Research Journal*. 19(4). 1581-1587.
- Setyowati, R., Sarbini, D., & Rejeki, S. 2008. Pengaruh Penambahan Bekatul Terhadap Kadar Serat Kasar, Sifat Organoleptik dan Daya Terima pada Pembuatan Tempe Kedelai (*Glycine max* (L) meriil). *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. Vol. 9. No.1. 52-61.
- Seveline, N. D., & Taufik, M. 2019. Formulasi Cookies dengan Fortifikasi Tepung Tempe dengan Penambahan Rosela (*hibiscus sabdariffa* L.) Formulation of Cookies Fortified with Tempeh Flour and Addition of Rosele (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Jurnal Bioindustri* Vol. 1(02). No. 1. 52-61.
- Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G. dan Berghofer, E. 2011. Physicochemical and Antioxidative Properties of Red and Black Rice Varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chemistry*. 124: 132-140.
- Sri Rahayu, D., Kusriani, D., & Fachriyah, E. 2009. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) dengan Metode 1, 1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH).
- Srisaipet, A., & Nuddagul, M. 2014. Influence of Temperature on Gamma-Oryzanol Stability of Edible Rice Bran Oil During Heating. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 5(4), 303.
- Sri, Winarti. 2010. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Graha Ilmu. P. 137-165.
- Suhery, W.N., Anggraini, N. 2016. Formulation and Evaluation of Peel-off Gel Masks from Red Rice Bran Extract with Various Kind of Bases. *International Journal of PharmTech Research*. 9(12): 574-580.
- Suprpti, I. M. L. 2003. *Teknologi Pengolahan Pangan: Pembuatan Tempe*. Yogyakarta: Kanisius.
- Thanonkaew, A., Wongyai, S., McClements, D. J., & Decker, E. A. 2012. Effect of stabilization of rice bran by domestic heating on lipase activity, lipid oxidation, and antioxidant activity. *Food Chemistry*. 134(1). 29-36
- Trinovita, E., Saputri, F. C., & Mun'im, A. 2017. Enrichment of the Gamma Oryzanol Level from Rice Bran by Addition of Inorganic Salts on Ionic Liquid 1-Butyl-3-Methylimidazolium Hexafluorophosphate ([BMIM] PF6) Extraction. *Journal of Young Pharmacists*. 9(4), 555.

- Trisnantini, D., Ismawati, A., Pradana, B. T., & Jonathan, J. G. 2016. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). In *Seminar Nasional Teknik Kimia Kejuangan*. (p. 1).
- Utari, D. M., Rimbawan, R., Riyadi, H., Muhilal, M., & Purwastyastuti, P. 2010. Pengaruh Pengolahan Kedelai Menjadi Tempe dan Pemasakan Tempe Terhadap Kadar Isoflavon (Effects of Soybean Processing Becoming Tempeh and The Cooking of Tempeh on Isoflavones Level). *Penelitian Gizi dan Makanan (The Journal of Nutrition and Food Research)*. 33(2).
- Wahbah, Az-Zuhaili. 1991. Tafsir Al-Wajiz & Al-Tafsir Al-Munir Fi Al-A'qidah Wa Al-Syari'ah Wa Al-Manhaj. *Damaskus: Dar Al-Fikr*.
- Widianingsih, N. N., Anam, C., & Purnomo, H. 2017. Pengaruh Proporsi Bahan Tambahan Berpigmen Terhadap Kualitas Warna Dan Kesukaan Konsumen Pada Produk Fermentasi Kedelai. *Agrointek*. 11(1). 1-8.
- Xu, Z., Hua, N., & Godber, J. S. 2001. Aktivitas Antioksidan Komponen Minyak Bekatul. *J. Agric. Food Chem.* 49(4). 2077-2081.
- Yuliani, D. 2011. Kajian Aktivitas Antioksidan Fraksi Etanol Jintan Hitam (*Nigella sativa*, L.). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Yuliani, N. N., Hapsari, M., & Widyaningsih, T. D. 2018. Sinergis Isoflavon kedelai dan Fenolik Bekatul Terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Pangan Fungsional*. 8(3). 203-210.
- Zubik, L., & Meydani, M. 2003. Bioavailability of Soybean Isoflavones from Aglycone and Glucoside Forms in American Women. *The American journal of clinical nutrition*. 77(6). 1459-1465.
- Zulkodri, M. 2020. <https://bangka.tribunnews.com/2020/08/27/wow-pabrik-raksasa-tempe-akan-dibangun-di-amerika-sosok-ini-yang-akan-membangun>. Access 27 Mei 2023.

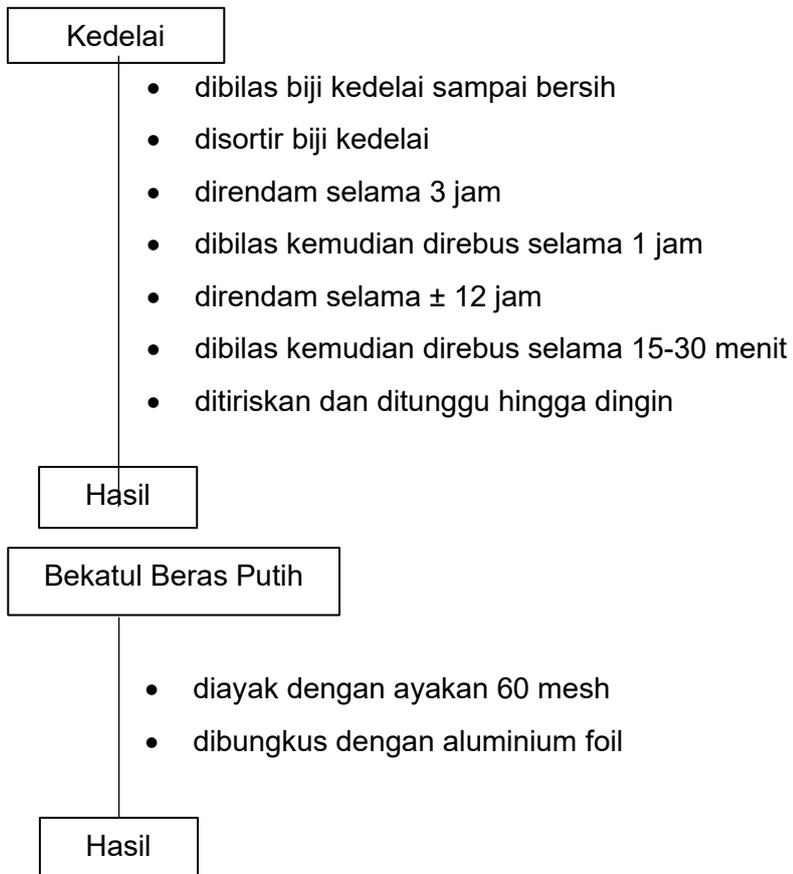
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

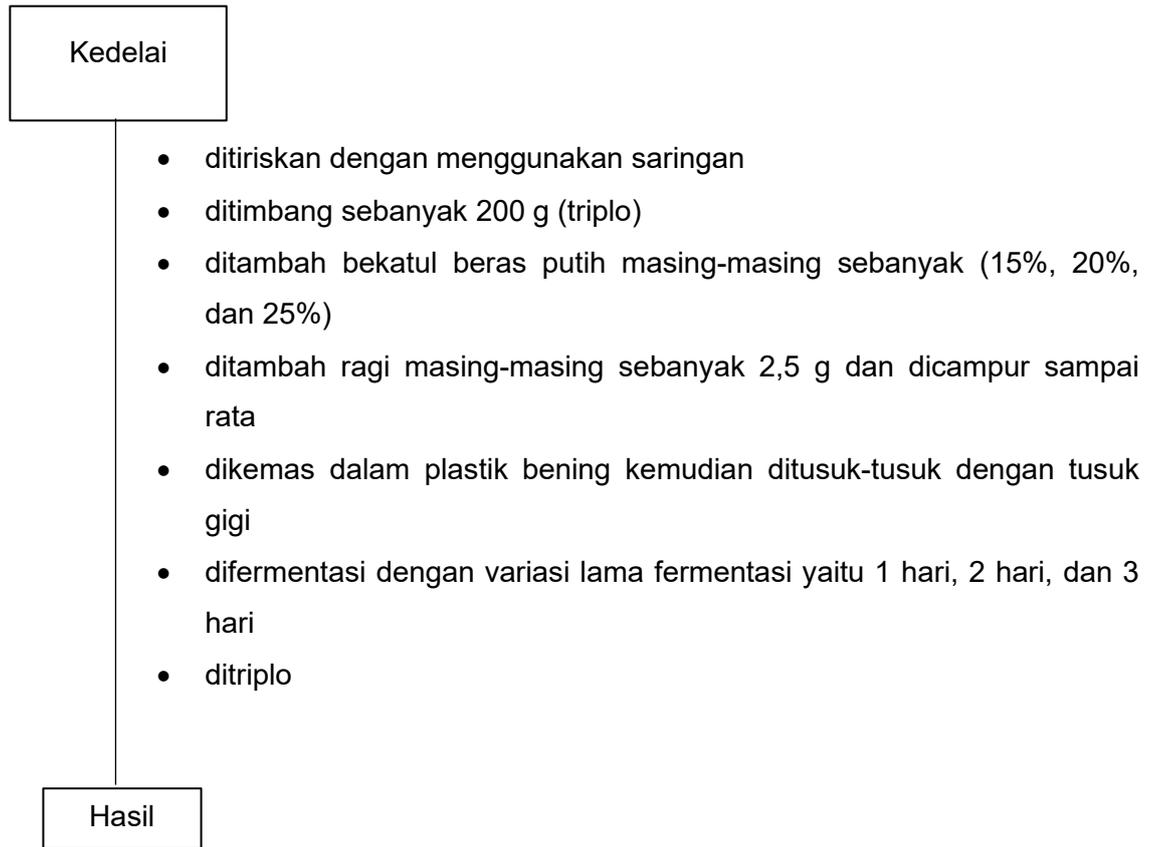


Lampiran 2. Diagram Alir

1. Preparasi Sampel

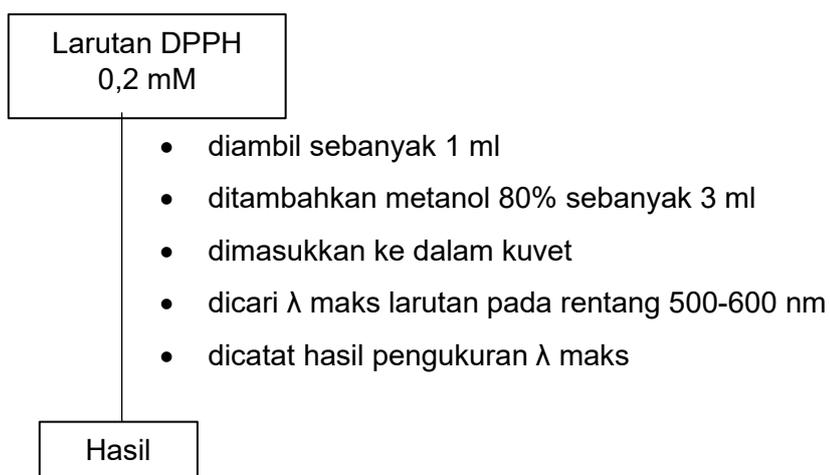


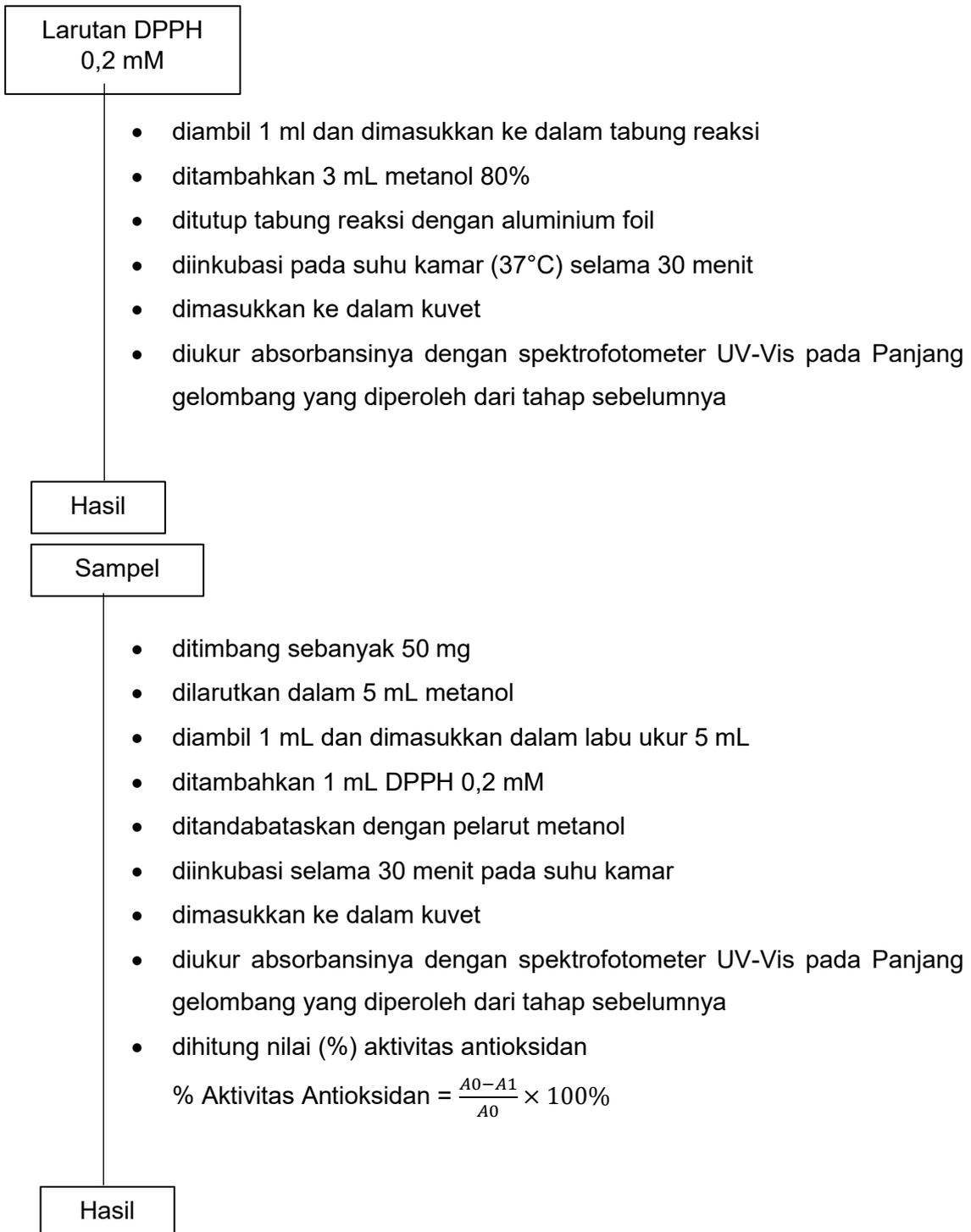
2. Pembuatan Tempe Bekatul Beras Putih



3. Analisis Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikril hidrazil*)

a. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



b. Pengukuran Aktivitas Antioksidan pada Sampel

4. Analisis Kadar γ -Oryzanol pada sampel

a. Penentuan Panjang Gelombang γ -Oryzanol

Larutan Standar
 γ -Oryzanol

- dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL
- ditandabatkan dengan etil asetat
- dihomogenkan
- dicari λ maks pada panjang gelombang 200 – 500 nm
- dicatat hasil pengukuran λ maks

Hasil

b. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan Standar
 γ -Oryzanol

- ditimbang masing-masing sampel yang sudah dihaluskan sebanyak 1 g
- ditambahkan pelarut n-heksana 10 mL pada tabung sentrifus pada 3000 rpm selama 20 menit
- diambil 1 mL supernatant
- dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL
- ditambahkan pelarut n-heksana hingga tanda batas
- diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang yang diperoleh dari tahap sebelumnya
- dihitung persamaan kurva bakunya

Hasil

Lampiran 3. Pembuatan Tempe Terfortifikasi bekatul Beras Putih dan Pembuatan Larutan DPPH

3.1 Pembuatan Tempe Bekatul Beras Putih

$$\begin{aligned}\text{Penambahan bekatul} \quad 15\% &= 500 \text{ g} \times 15\% = 75 \text{ g} \\ &20\% = 500 \text{ g} \times 20\% = 100 \text{ g} \\ &25\% = 500 \text{ g} \times 25\% = 125 \text{ g} \\ \text{Penambahan ragi tempe} \quad 0,5\% &= 500 \text{ g} \times 0,5\% = 2,5 \text{ g}\end{aligned}$$

3.2 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM dalam 10 mL Metanol 80%

$$\begin{aligned}\text{Mr DPPH} &= 394,33 \text{ g/mol} \\ \text{DPPH} &= \frac{10 \text{ mL} \times 0,2 \text{ M}}{1000 \text{ mL}} \\ &= 0,002 \text{ mmol} \\ \text{Mg DPPH} &= 0,002 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH} \\ &= 0,002 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\ &= 0,78866 \text{ mg}\end{aligned}$$

DPPH sebanyak 0,7866 mg dilarutkan ke dalam metanol 80% di dalam labu takar 10 mL dan ditandabatkan, kemudian dihomogenkan.

Lampiran 4. Uji % Aktivitas Antioksidan dan Kadar γ -Oryzanol pada Tempe yang Terfortifikasi bekatul Beras Putih

4.1 % Aktivitas Antioksidan Tempe yang Terfortifikasi Bekatul Beras Putih

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

$$A_0 = 0,696$$

$$1. \ \% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{0,696 - 0,296}{0,696} \times 100\% = 57,47\%$$

$$2. \ \% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{0,696 - 0,277}{0,696} \times 100\% = 60,23\%$$

$$3. \ \% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{0,696 - 0,244}{0,696} \times 100\% = 64,93\%$$

$$4. \ \% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{0,696 - 0,263}{0,696} \times 100\% = 62,36\%$$

$$5. \ \% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{0,696 - 0,236}{0,696} \times 100\% = 66,03\%$$

$$6. \ \% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{0,696 - 0,211}{0,696} \times 100\% = 69,76\%$$

$$7. \ \% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{0,696 - 0,226}{0,696} \times 100\% = 67,61\%$$

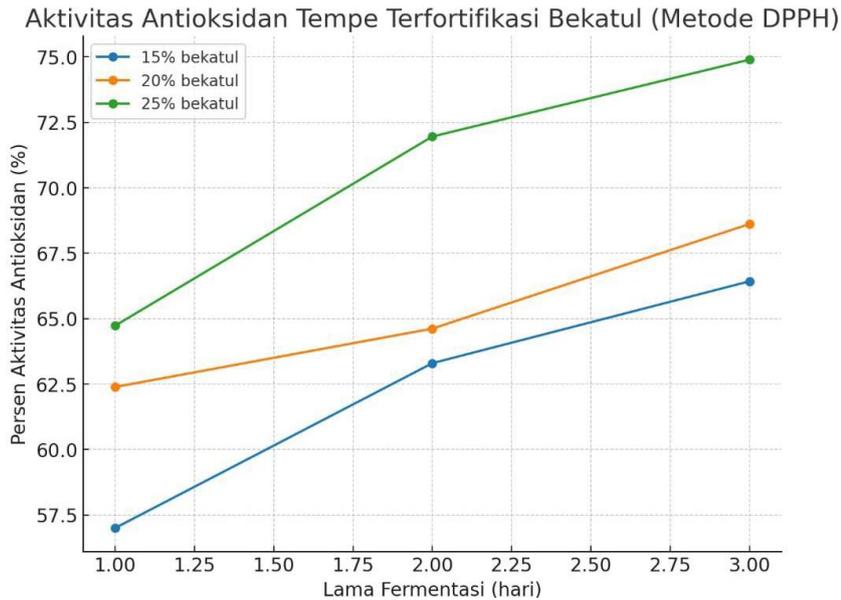
$$8. \ \% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{0,696 - 0,198}{0,696} \times 100\% = 71,51\%$$

$$9. \ \% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{0,696 - 0,172}{0,696} \times 100\% = 75,25\%$$

4.1.1 Tabel Aktivitas Antioksidan Tempe Terfortifikasi Bekatul Beras Putih

Penambahan Bekatul (%)	Lama Fermentasi (Hari)	% Aktivitas Antioksidan
15	1	57.47
15	2	60.23
15	3	64.93
20	1	62.36
20	2	66.03
20	3	69.76
25	1	67.61
25	2	71.51
25	3	75.25

4.1.2 Grafik Aktivitas Antioksidan Tempe Terfortifikasi Bekatul Beras Putih



4.2 Kadar γ -Oryzanol pada Tempe yang Terfortifikasi bekatul Beras Putih

$$y = ax + b \quad | \quad x = \frac{y-b}{2a}$$

Keterangan:

y = absorbansi sampel

x = konsentrasi (mg/100g)

1. $y = 0,296$

$$x = \frac{0,296-0,050}{0,007} = 35,14 \text{ mg/100g}$$

2. $y = 0,277$

$$x = \frac{0,277-0,050}{0,007} = 32,43 \text{ mg/100g}$$

3. $y = 0,244$

$$x = \frac{0,244-0,050}{0,007} = 27,71 \text{ mg/100g}$$

4. $y = 0,263$

$$x = \frac{0,263-0,050}{0,007} = 30,43 \text{ mg/100g}$$

5. $y = 0,236$

$$x = \frac{0,236-0,050}{0,007} = 26,57 \text{ mg/100g}$$

6. $y = 0,211$

$$x = \frac{0,211-0,050}{0,007} = 23,00 \text{ mg}/100g$$

7. $y = 0,226$

$$x = \frac{0,226-0,050}{0,007} = 25,14 \text{ mg}/100g$$

8. $y = 0,198$

$$x = \frac{0,198-0,050}{0,007} = 21,14 \text{ mg}/100g$$

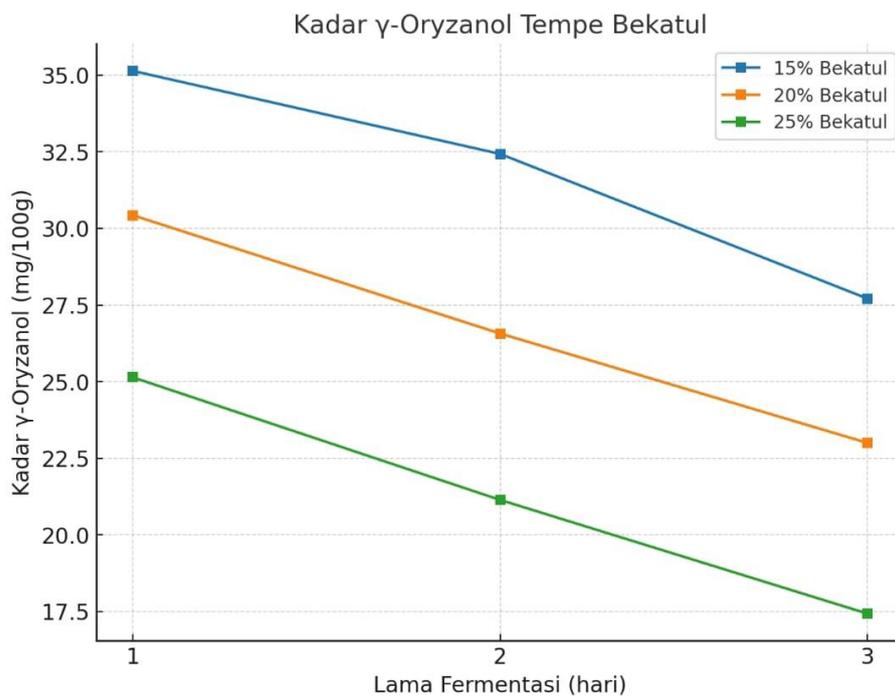
9. $y = 0,172$

$$x = \frac{0,172-0,050}{0,007} = 17,43 \text{ mg}/100g$$

4.2.1 Tabel Kadar γ -Oryzanol pada Tempe yang Terfortifikasi bekatul Beras Putih

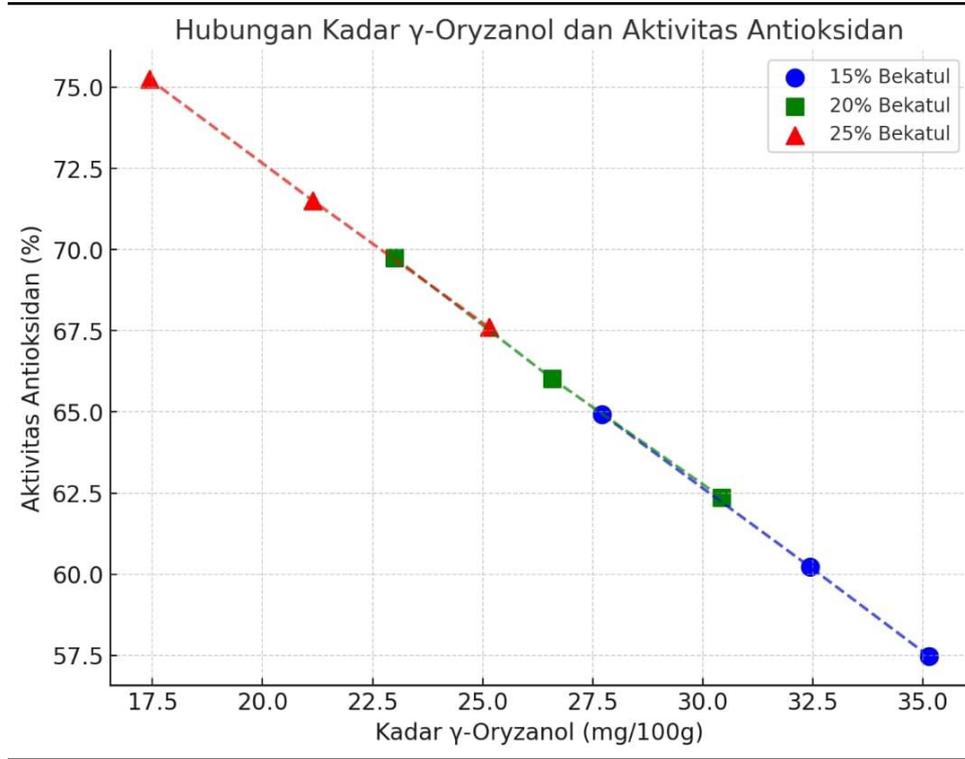
Fortifikasi Bekatul	Fermentasi 1 Hari	Fermentasi 2 Hari	Fermentasi 3 Hari
15%	35,14	32,43	27,71
20%	30,43	26,57	23,00
25%	25,14	21,14	17,43

4.2.2 Grafik Kadar γ -Oryzanol pada Tempe yang Terfortifikasi bekatul Beras Putih



4.3 Hubungan Aktivitas Antioksidan dan Kadar γ -Oryzanol pada Tempe yang Terfortifikasi bekatul Beras Putih

4.3.1 Grafik Hubungan Aktivitas Antioksidan dan Kadar γ -Oryzanol



Lampiran 5. Uji Organoleptik dengan Parameter: Aroma, Rasa, dan Warna

UJI ORGANOLEPTIK

Nama Panelis :

Sampel : Tempe Bekatul Beras Putih

No.	Atribut Mutu	Tingkat Kesukaan					Ket.
		1	2	3	4	5	
1	Aroma						
2	Rasa						
3	Warna						

Keterangan : 1 = tidak suka
 2 = kurang suka
 3 = Netral
 4 = suka
 5 = sangat suka

5.1 Parameter Aroma

No.	Panelis	Bekatul 15% + Fermentasi 1 Hari	Bekatul 15% + Fermentasi 2 Hari	Bekatul 15% + Fermentasi 3 Hari
1.	A	4	5	4
2.	B	3	4	4
3.	C	4	4	5
4.	D	4	5	4
5.	E	4	4	3
6.	F	4	5	4
7.	G	3	4	4
8.	H	4	4	4
9.	I	4	4	4
10.	J	4	4	3
	Jumlah	38	43	39
	Rata-rata	3,8	4,3	3,9

No.	Panelis	Bekatul 20% + Fermentasi 1 Hari	Bekatul 20% + Fermentasi 2 Hari	Bekatul 20% + Fermentasi 3 Hari
1.	A	4	4	4
2.	B	5	4	4
3.	C	5	4	3
4.	D	4	5	5
5.	E	3	5	3
6.	F	3	3	3
7.	G	5	5	5
8.	H	4	4	3
9.	I	3	5	4
10.	J	3	5	4
	Jumlah	39	44	38
	Rata-rata	3,9	4,4	3,8

No.	Panelis	Bekatul 25% + Fermentasi 1 Hari	Bekatul 25% + Fermentasi 2 Hari	Bekatul 25% + Fermentasi 3 Hari
1.	A	4	4	3
2.	B	3	3	3
3.	C	3	4	3
4.	D	4	4	4
5.	E	3	3	2
6.	F	3	4	3
7.	G	4	4	4
8.	H	4	4	4
9.	I	4	4	3
10.	J	3	4	4
	Jumlah	35	38	33
	Rata-rata	3,5	3,8	3,3

5.2 Parameter Rasa

No.	Panelis	Bekatul 15% + Fermentasi 1 Hari	Bekatul 15% + Fermentasi 2 Hari	Bekatul 15% + Fermentasi 3 Hari
1.	A	4	5	4
2.	B	3	5	4
3.	C	4	5	4
4.	D	4	4	3
5.	E	3	4	4
6.	F	4	4	3
7.	G	3	5	4
8.	H	4	4	4
9.	I	3	5	3
10.	J	4	4	4
	Jumlah	36	45	37
	Rata-rata	3,6	4,5	3,7

No.	Panelis	Bekatul 20% + Fermentasi 1 Hari	Bekatul 20% + Fermentasi 2 Hari	Bekatul 20% + Fermentasi 3 Hari
1.	A	3	5	4
2.	B	4	4	4
3.	C	3	5	3
4.	D	3	5	3
5.	E	4	4	4
6.	F	4	4	4
7.	G	4	5	3
8.	H	4	4	3
9.	I	4	4	3
10.	J	4	4	5
	Jumlah	37	44	36
	Rata-rata	3,7	4,4	3,6

No.	Panelis	Bekatul 25% + Fermentasi 1 Hari	Bekatul 25% + Fermentasi 2 Hari	Bekatul 25% + Fermentasi 3 Hari
1.	A	3	4	3
2.	B	4	4	3
3.	C	4	4	4
4.	D	4	4	3
5.	E	4	3	2
6.	F	3	4	3
7.	G	4	4	4
8.	H	1	3	3
9.	I	2	3	3
10.	J	5	4	3
	Jumlah	34	37	31
	Rata-rata	3,4	3,7	3,1

5.3 Parameter Warna

No.	Panelis	Bekatul 15% + Fermentasi 1 Hari	Bekatul 15% + Fermentasi 2 Hari	Bekatul 15% + Fermentasi 3 Hari
1.	A	5	5	5
2.	B	4	5	4
3.	C	5	4	4
4.	D	3	5	4
5.	E	5	5	5
6.	F	4	4	4
7.	G	3	3	3
8.	H	4	5	3
9.	I	5	5	5
10.	J	3	4	3
	Jumlah	41	45	40
	Rata-rata	4,1	4,5	4,0

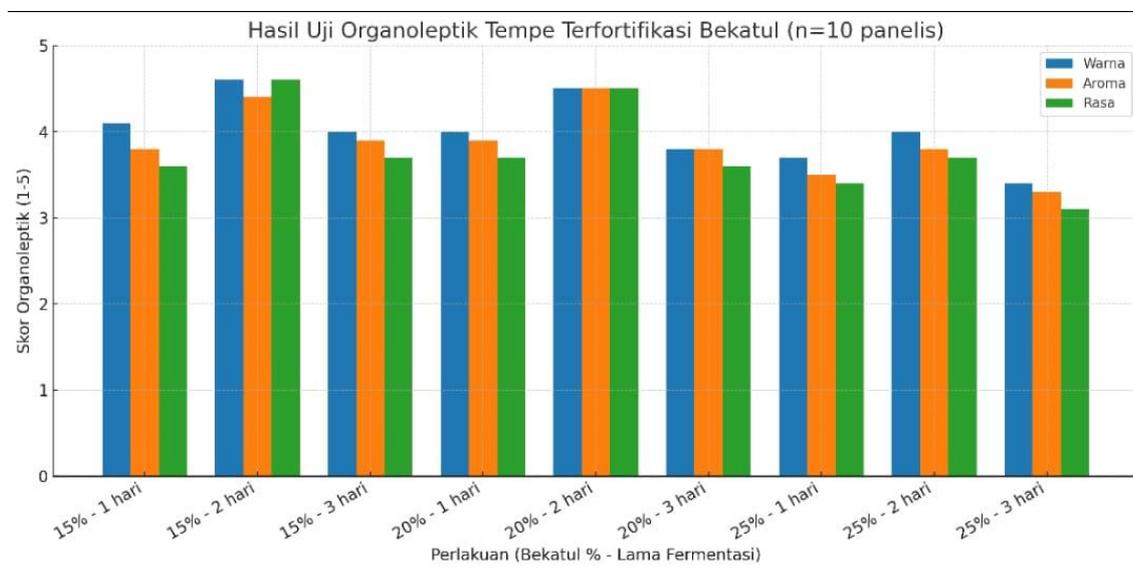
No.	Panelis	Bekatul 20% + Fermentasi 1 Hari	Bekatul 20% + Fermentasi 2 Hari	Bekatul 20% + Fermentasi 3 Hari
1.	A	4	5	3
2.	B	4	4	4
3.	C	4	4	4
4.	D	3	5	5
5.	E	5	4	4
6.	F	3	4	4
7.	G	5	5	3
8.	H	5	4	4
9.	I	4	5	4
10.	J	3	4	3
	Jumlah	40	44	38
	Rata-rata	4,0	4,4	3,8

No.	Panelis	Bekatul 25% + Fermentasi 1 Hari	Bekatul 25% + Fermentasi 2 Hari	Bekatul 25% + Fermentasi 3 Hari
1.	A	3	3	4
2.	B	4	5	4
3.	C	4	4	4
4.	D	5	4	3
5.	E	3	4	2
6.	F	4	3	4
7.	G	3	4	3
8.	H	4	4	4
9.	I	4	5	2
10.	J	3	4	4
	Jumlah	37	40	34
	Rata-rata	3,7	4,0	3,4

5.4 Tabel Hasil Rata-rata Uji Organoleptik

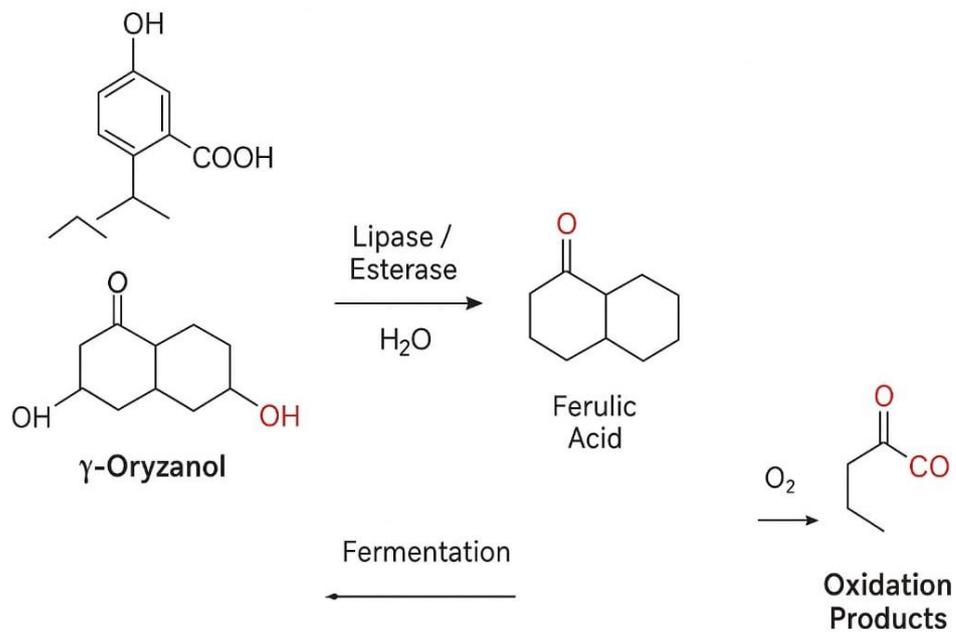
Penambahan Bekatul (%)	Lama Fermentasi (Hari)	Aroma	Rasa	Warna
15	1	3.8	3.6	4.1
15	2	4.3	4.5	4.5
15	3	3.9	3.7	4.0
20	1	3.9	3.7	4.0
20	2	4.4	4.4	4.4
20	3	3.8	3.6	3.8
25	1	3.5	3.4	3.7
25	2	3.8	3.7	4.0
25	3	3.3	3.1	3.4

5.5 Grafik Uji Organoleptik dengan Parameter: Aroma, Rasa, dan Warna

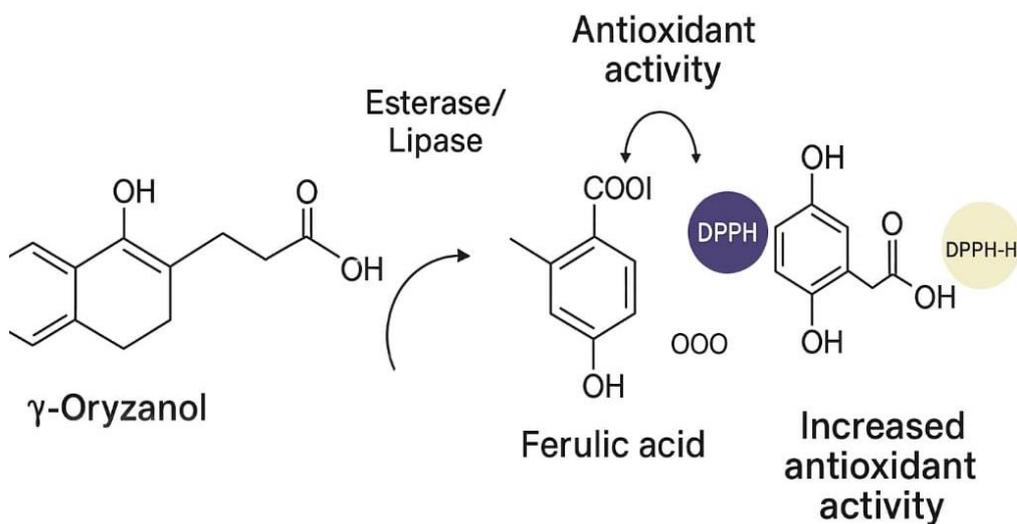


Lampiran 6. Reaksi Kimia pada Tempe yang Terfortifikasi bekatul Beras Putih

6.1 Fermentasi Tempe yang Terfortifikasi bekatul Beras Putih



6.2 Aktivitas Antioksidan Tempe yang Terfortifikasi bekatul Beras Putih



Lampiran 7. Gambar Hasil Penelitian

 <p>Sampel Kedelai</p>	 <p>Sampel Bekatul Beras Putih</p>
 <p>Proses Pencucian Sampel Kedelai</p>	 <p>Proses Penyortiran Sampel Kedelai</p>
 <p>Proses Perendaman Sampel Kedelai</p>	 <p>Proses Penirisan Sampel Kedelai</p>
 <p>Proses Penambahan Bekatul Beras Putih</p>	 <p>Hasil Penambahan Bekatul Beras Putih</p>



Proses Penambahan Ragi



Proses Pengemasan Tempe



Proses Fermentasi Tempe



Proses Pembentukan Menjadi Tempe



Hasil Pembentukan Tempe



Sampel Tempe