

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tempe

Tempe merupakan makanan tradisional yang dihasilkan dari fermentasi biji kedelai atau beberapa bahan lainnya. Fermentasi menggunakan beberapa jenis kapang *Rhizopus*, seperti *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus stolonifer* dan beberapa jenis kapang *Rhizopus* lainnya (PUSIDO,2012). Dimana pada proses fermentasi akan terjadi hidrolisis senyawa – senyawa kompleks menjadi sederhana, sehingga baik untuk dicerna. Tempe merupakan makanan yang kaya akan serat pangan, kalsium, vitamin B dan zat besi (Cahyadi 2007).

Tempe selain sebagai alternatif untuk mencukupi kebutuhan protein, juga memiliki nilai obat seperti antibiotika untuk menyembuhkan infeksi, antioksidan untuk menangkap radikal bebas (Sartika 2009). Ssecara umum tempe berwarna putih, dikarenakan pertumbuhan miselia kapang yang merekatkan biji-biji kedelai sehingga terbentuk tekstur yang memadat. Tempe memiliki aroma yang khas dikarenakan adanya degradasi dari komponen-komponen kedelai itu sendiri (Dewi & Aziz, 2011).

1. Fermentasi Tempe

Tempe adalah produk kedelai fermentasi asli Indonesia yang kaya akan komponen nutrisi. Selama fermentasi, mikroorganisme menghasilkan beberapa komponen bioaktif vital dan menurunkan agen anti- nutrisi. Perubahan biokimia terjadi selama fermentasi kedelai dalam tempe yang meningkatkan kesehatan manusia (Tamam, 2019).

Ada peningkatan protein larut, folat, vitamin B12, oligosakarida, inhibitor trypsin, dan tannin Fermentasi memungkinkan mikroorganisme untuk mengeluarkan enzim proteolitik yang mampu mengubah protein dalam kedelai menjadi peptide (seperti dipeptida, tripeptida, dan oligopeptida) yang memiliki

banyak sifat biofungsional. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa peptide dalam produk kedelai fermentasi seperti doenjang (Korea), douche (Cina), natto (Jepang), thua nao (Thailand), dan tempe (Indonesia) dikaitkan dengan sifat biofungsional seperti penghambatan enzim pengonversi angiotensin I (ACE), antioksidan, antidiabetes, antikanker, antitrombotik, hipokolesterolemik, dan aktivitas imunomodulator (Tamam 2019).

Fermentasi kedelai melibatkan *Rhizopus sp*, jamur dan mikroorganisme lain seperti bakteri asam laktat dan ragi, ada empat langkah penting untuk membuat tempe termasuk merendam, merebus kacang kedelai, inokulasi kapang menggunakan starter yang disebut ragi (mengandung banyak mikroorganisme, terutama *Rhizopus sp*), dan inkubasi pada suhu kamar selama 24-36 jam. Banyak jenis cetakan yang terlibat dalam pembuatan tempe di Indonesia termasuk *Rhizopus oligosporus*, *R.oryzae*, *R. arrhizus*, *R.stolonifer*, *R.microsporus*, *R.rhizopodiformis*, *R. chinensis*, dan *Mucor sp.*. Produksi tempe di Indonesia mungkin berbeda antara daerah dan produsen mengenai proses dan kondisi fermentasi. Tidak ada standar untuk pembuatan tempe di Indonesia. Fermentasi memiliki kemampuan luar biasa untuk mempengaruhi sekuens peptide dan biofungsionalitas tempe, tetapi hubungan antara produk peptide dan detail fermentasi belum banyak dipelajari (Tamam, 2019).

2. Kandungan Gizi Tempe

Di dalam tempe kandungan gizinya lebih baik dibandingkan dengan kedelai dan produk turunan lainnya. Kandungan tersebut diantaranya adalah Vitamin B2, Vitamin B12, Niasin dan juga asam pantotenat, bahkan hasil analisis gizi tempe menunjukkan kandungan niasin sebesar 1,13 mg/100 gram berat tempe yang dimakan. Menurut Dwinaningsih (2010) dalam (Dewi dan Aziz, 2011), kelompok vitamin yang terdapat di dalam tempe terdiri atas dua jenis yaitu yang larut di dalam air (Vitamin B kompleks) dan larut lemak (Vitamin A, D, E dan K).

Tempe memiliki sumber vitamin B yang potensial jenis vitamin tersebut ialah, Vitamin B1 (Tiamin), Vitamin B2 (Riboflavin), asam pantotenat, asam

nikotinat (Niasin), Vitamin B6 (Piridoksin), dan Vitamin B12 (Sianokobalamin), tempe merupakan satu-satunya sumber nabati yang memiliki kandungan B12, dimana kandungan ini hanya dimiliki oleh produk hewani, sehingga tempe memiliki potensial yang lebih baik dibandingkan produk nabati lainnya , selama proses fermentasi dalam pembuatan tempe terjadi peningkatan Vitamin B12 yang sangat mencolok,yaitu 33 kali lebih banyak dibandingkan kedelai (Astawan, 2009).

Riboflavin (Vitamin B6) meningkat 4-14 kali lebih banyak dibanding kedelai, Niasin meningkat 2-5 kali, biotin mengalami peningkatan sebesar 2-3, asam folat 4-5 kali, dan asam pentatonat hanya meningkat 2 kali lipat dibandingkan dari kandungan kedelai sebelum difermentasi. Vitamin ini tidak dihasilkan oleh kapang *Rhizopus*, melainkan dari kontaminasi *Klebsiella pneumoniae*, dan *Citrobacter freundii* (Sarwono, 2010).

Kandungan dari Vitamin B12 di dalam tempe berkisar dari 1,5 sampai 6,3 mikrogram/ 100 gram tempe kering yang dikonsumsi, jumlah ini sudah lebih dari cukup memenuhi kebutuhan Vitamin B12 seseorang per hari. Dengan mengkonsumsi tempe setiap hari, kandungan Vitamin B12 seorang vegetarian tidak perlu untuk dikhawatirkan karena sudah terpenuhi (Hartoyo, 2000)

3. Manfaat Tempe

Tempe memiliki beragam manfaat kesehatan yang menjadikannya salah satu pangan fungsional unggulan. Kandungan protein, asam folat, dan vitamin B12 dalam tempe diketahui berperan penting dalam mencegah kanker dan penuaan dini (Muji, 2011). Selain itu, kandungan zat besi dan senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan turut berkontribusi dalam menurunkan tekanan darah (Amani, 2014). Tempe juga merupakan sumber kalsium yang tinggi, sehingga bermanfaat dalam mencegah terjadinya osteoporosis (Yoo, 2014). Kandungan asam lemak jenuh di dalamnya membantu menurunkan kadar kolesterol tubuh (Hassan, 2014), sementara enzim superoksida dismutase (SOD) yang terkandung di dalam tempe berfungsi mengendalikan radikal bebas dan baik bagi penderita kelainan jantung (D'Adamo, 2015). Tidak hanya itu, tempe juga mampu memenuhi kebutuhan gizi

seimbang harian, menjadikannya pilihan pangan yang bernilai gizi tinggi dan mendukung pola hidup sehat (Liputo *et al.*, 2013).

4. Syarat Mutu Tempe Kedelai

Persyaratan mutu tempe kedelai yang dicakup dalam SNI 3144:2015 meliputi komposisi kimia (kadar air, abu, lemak, protein dan serat kasar), cemaran logam (cadmium, timbal, timah, merkuri, arsen), cemaran arsen, dan cemaran mikroba (bakteri *coliform* dan *salmonella sp*) yang dapat dilihat pada Tabel 1 (Wulan, 2010).

Tabel 1. Syarat Mutu Tempe

No	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Tekstur	-	kompak, jika diiris tetap utuh (tidak mudah rontok)
1.2	Warna	-	putih merata pada seluruh permukaan
1.3	Bau	-	bau khas tempe tanpa adanya bau khas amoniak
2	Kadar air	Fraksi massa %	maks. 65
3	Kadar Lemak	Fraksi massa %	min. 7
4	Kadar protein (N x 5,71)	Fraksi massa %	min. 15
5	Kadar serat kasar	Fraksi massa %	maks. 2,5
6	Cemaran logam		
6.1	Kadmium (Cd)	mg/kg	maks. 0,2
6.2	Timbal (Pb)	mg/kg	maks. 0,25
6.3	Timah (Sn)	mg/kg	maks. 40
6.4	Merkuri (Hg)	mg/kg	maks. 0,03
7	Cemaran Arsen (AS)	mg/kg	maks. 0,25
8	Cemaran Mikroba		
8.1	<i>Coliform</i>	AP/Mg	maks. 10
8.2	<i>Salmonella sp</i>	-	negatif/25 g

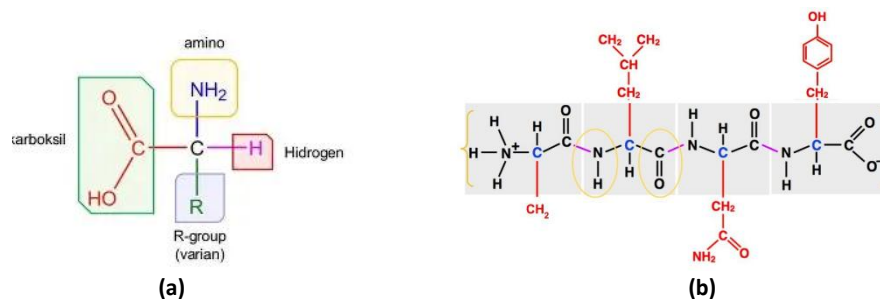
Menurut Kasmidjo (1990) tempe yang baik harus memenuhi syarat mutu secara fisik dan kimiawi. Tempe dikatakan memiliki mutu fisik jika tempe itu sudah memenuhi ciri-ciri tertentu, warna putih ini disebabkan adanya miselia kapang yang

tumbuh pada permukaan biji kedelai, Tekstur Tempe Kompak Kekompakan tekstur tempe juga disebabkan oleh miselia - miselia kapang yang menghubungkan antara biji-biji kedelai.

Kompak tidaknya tekstur tempe dapat diketahui dengan melihat lebat tidaknya miselia yang tumbuh pada permukaan tempe. Apabila miselia tampak lebat, hal ini menunjukkan bahwa tekstur tempe telah membentuk masa yang kompak, begitu juga sebaliknya, Aroma dan rasa khas tempe Terbentuk aroma dan rasa yang khas pada tempe disebabkan terjadinya degradasi komponen-komponen dalam tempe selama berlangsungnya proses fermentasi. Tempe dengan kualitas baik mempunyai ciri-ciri berwarna putih bersih yang merata pada permukaannya, memiliki stuktur yang homogen dan kompak, serta berasa, berbau dan beraroma khas tempe. Tempe dengan kualitas buruk ditandai dengan permukaannya yang basah, struktur tidak kompak, adanya bercak bercak hitam, adanya bau amoniak dan alkohol, serta beracun (Astawan, 2004)

B. Protein

Protein adalah makromolekul biologis berupa polimer asam amino yang sangat melimpah dan beragam fungsinya dalam organisme. Setiap protein tersusun dari 20 jenis asam amino yang saling terikat oleh ikatan peptida membentuk struktur primer, sekunder, tersier, dan kadang kuarterner. Variasi urutan asam amino menentukan fungsi spesifik protein, misalnya sebagai enzim, hormon, atau bagian struktural sel. Struktur protein dan asam amino dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Strutur Asam Amino (a) dan Protein (b) (sumber: Urugu, 2025)

Protein umumnya memiliki bentuk tiga dimensi khas; perubahan kondisi seperti suhu atau pH dapat menyebabkan denaturasi (perubahan konformasi) sehingga fungsi protein menurun (Nelson & Cox, 2017).

1. Sifat Fisikokimia Protein

1.1. Komposisi dan struktur: Protein terdiri atas rangkaian panjang asam amino yang saling terikat membentuk polipeptida. Ikatan hidrogen dan interaksi antar rantai samping menyusun struktur sekunder dan tersier yang sensitif terhadap suhu dan pH. Peningkatan suhu atau perubahan pH dapat merusak struktur tersier (denaturasi), sehingga membuka struktur protein dan memudahkan enzim pencernaan mengaksesnya (Madigan *et al.*, 2018).

1.2. Antinutrien pada bahan nabati: Protein dari bahan nabati umumnya mengandung antinutrien, seperti inhibitor enzim protease (trypsin inhibitor) dan senyawa fenolik seperti tanin dan fitat. Senyawa ini dapat menghambat kerja enzim pencernaan seperti pepsin dan trypsin, sehingga menurunkan pencernaan protein. Misalnya, inhibitor protease pada kedelai dan kacang polong dapat menghambat enzim pepsin/trypsin sehingga mengurangi hidrolisis protein (Liener, 1994).

1.3. Sifat amfoter dan kelarutan: Protein bersifat amfoter karena memiliki gugus asam dan basa. Oleh karena itu, kelarutannya sangat bergantung pada pH media. Pada pH isoelektrik (pH di mana muatan bersih protein = 0), kelarutan protein menjadi minimal. Sifat ini penting dalam proses fermentasi dan degradasi protein, karena protease bekerja lebih efektif saat protein telah terdenaturasi (Widianarko & Wedhaswary, 2021).

2. Sumber Protein

2.1. Kedelai (soybean): Kedelai merupakan sumber utama pembuatan tempe, dengan kandungan protein sebesar 36–38% berat kering. Setelah difermentasi menjadi tempe, kadar protein meningkat hingga sekitar 44% berat kering, atau 30–31% pada berat basah (Astawan, 2009).

2.2. Legum lain (kacang-kacangan): Tempe kedelai–kacang arab mengandung sekitar 31,1% protein, sedangkan tempe kedelai–kacang merah sekitar 30,4% (Widianarko & Wedhaswary, 2021). Selain itu, berbagai bahan nabati lain seperti kacang hijau, lentil, kedelai hitam, hingga lupin juga dapat difermentasi menjadi tempe, menghasilkan variasi profil asam amino yang tetap kaya protein (Widianarko & Wedhaswary, 2021).

2.3. Fermentasi kedelai lain & fermentasi nabati lain: Selain tempe, produk fermentasi kedelai lain seperti nato (fermentasi *Bacillus*) dan miso (pasta kedelai fermentasi *Aspergillus*) juga kaya protein dan menghasilkan peptida bioaktif. Selain itu, berbagai bahan baku nabati lain telah diuji untuk fermentasi menyerupai tempe: bungkil rapeseed (nabati), jagung, barley, soba, bahkan singkong difermentasi membentuk produk mirip tempe. Produk fermentasi seperti tempe jagung atau barley ini mendukung diversifikasi sumber protein nabati (Taman, 2019).

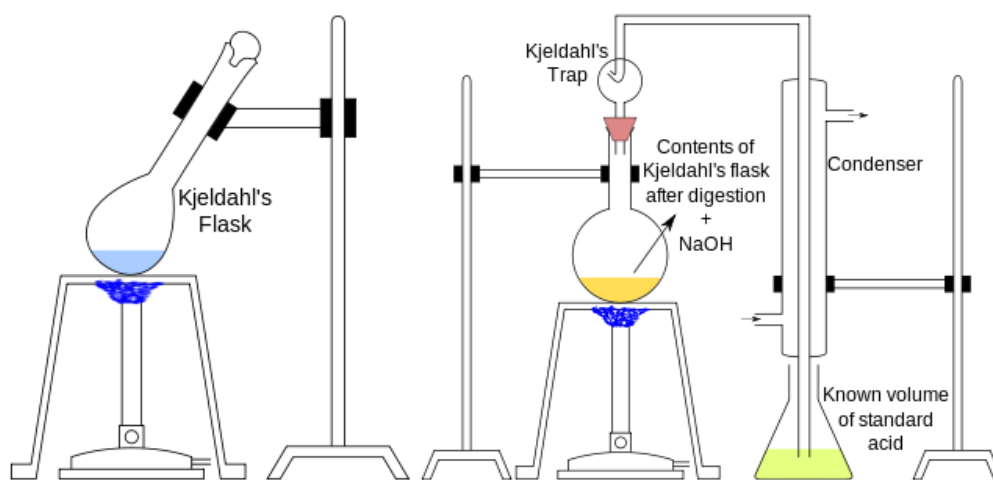
C. Metode Kjeldahl

Metode Kjeldahl merupakan teknik klasik untuk mengukur total nitrogen organik dalam sampel makanan, yang kemudian dikonversi menjadi kandungan protein. Prinsip dasar metode ini adalah bahwa sebagian besar protein mengandung nitrogen secara relatif konstan (~16% berat). Dengan demikian, kadar protein dapat ditaksir dari pengukuran total nitrogen. Sampel pangan dicerna dengan asam sulfat pekat (ditambah katalis seperti CuSO_4 atau Se dan garam K_2SO_4 untuk menaikkan titik didih), sehingga nitrogen organik dalam protein diubah menjadi ammonium sulfat. Setelah itu larutan dikeraskan dengan basa (misalnya NaOH) sehingga amonium terdeprotonasi menjadi gas amonia (NH_3) yang kemudian didestilasi dan ditangkap dalam larutan penangkap (umumnya asam borat). Akhirnya, amonia yang terperangkap tersebut dititrasi dengan larutan asam standar (HCl) untuk menentukan jumlah nitrogen total dalam sampel. Kadar protein (%) dihitung dengan mengalikan persentase nitrogen yang diperoleh dengan faktor konversi

protein (umumnya 6,25), karena secara konvensional diasumsikan 100 g protein mengandung sekitar 16 g nitrogen. Berdasarkan SNI 3144: 2015 faktor konversi untuk kedelai adalah 5,71.

Analisa protein cara Kjeldahl pada dasarnya dapat dibagi menjadi tiga tahapan yaitu proses destruksi, proses destilasi, dan tahap titrasi (Sudarmadji, *et al.* 1989).

Rangkaian alat metode Kjeldahl manual dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 2. Rangkaian Alat Kjeldahl Manual

1. Tahap Destruksi

Prinsip cara analisis Kjeldahl adalah sebagai berikut: mula-mula bahan didestruksi dengan asam sulfat pekat menggunakan katalis selenium oksiklorida atau butiran Zn (Budianto, 2009). Pada tahapan ini sampel dipanaskan dalam asam sulfat pekat sehingga terjadi destruksi menjadi unsur-unsurnya. Elemen Karbon, Hidrogen teroksidasi menjadi CO, CO₂ dan H₂O. Sedangkan Nitrogennya (N) akan berubah menjadi (NH₄)₂SO₄. Untuk mendestruksi 1 gram protein diperlukan 9 gram asam sulfat. Sampel yang dianalisa sebanyak 0,4 - 3,5 gram atau mengandung nitrogen sebanyak 0,02 – 0,04 gram. Untuk cara mikro Kjeldahl bahan tersebut lebih sedikit lagi, yaitu 1- 30 mg. Analisa protein cara Kjeldahl pada dasarnya dapat

dibagi menjadi tiga tahapan yaitu proses destruksi, proses destilasi, dan tahap titrasi (Sudarmadji,*et al.* 1989).

Untuk mempercepat proses destruksi sering ditambahkan katalisator berupa campuran Na_2SO_4 dan HgO (20:1). Gunning menganjurkan menggunakan K_2SO_4 atau CuSO_4 (Sudarmadji,*et al.* 1989). Dengan penambahan katalisator tersebut dapat menaikkan titik didih asam sulfat sehingga destruksi berjalan lebih cepat. Suhu destruksi berkisar antara 370-410°C.

2. Distilasi

Pada tahap destilasi, amonium sulfat dipecah menjadi amonia (NH_3) dengan penambahan NaOH sampai alkalis dan dipanaskan. Untuk menghindari *superheating* ataupun pemercikan cairan atau timbulnya gelembung gas yang besar selama proses destilasi maka dapat ditambahkan logam zink (Zn). Amonia yang dibebaskan kemudian akan ditangkap oleh larutan asam standar dalam jumlah yang berlebihan. Agar lontak antara asam dan amonia lebih baik maka ujung tabung destilasi diusahakan tercelup sedalam mungkin dalam asam. Desrilasi diakhiri ketika semua amonia terdestilasi sempurna dengan ditandai destilat tidak bereaksi basis (larutan mencapai 100 mL) (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

3. Titrasi

Larutan penampung destilat yang berisi asam klorida selanjutnya kelebihan asam klorida yang tidak bereaksi dengan amonia ditirasi dengan NaOH standar (0,1 N). Akhir titrasi ditandai dengan tepat perubahan warna larutan dari merah muda menjadi jingga dan tidak hilang selama 30 detik dengan menggunakan indikator MR. Selisih jumlah tritrasi blanko dan sampel merupakan jumlah ekuivalen nitrogen.

$$\% N = \frac{\text{mL NaOH (blanko - sampel)}}{\text{Berat sampel (mg)}} \times N \text{ NaOH} \times 14,007 \times 100\% \dots \text{Persamaan (1)}$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Nitrogen} \times \text{faktor konversi} \dots \dots \dots \text{Persamaan (2)}$$

D. Landasan Teori

Tempe merupakan hasil fermentasi kedelai yang dilakukan oleh kapang *Rhizopus oligosporus*, dan dikenal sebagai salah satu sumber protein nabati yang tinggi. Selama proses fermentasi, kapang tersebut menghasilkan enzim-enzim proteolitik yang memecah protein kompleks kedelai menjadi peptida dan asam amino sederhana, sehingga meningkatkan nilai gizi serta pencernaan protein tempe (Astuti *et al.*, 2016). Setelah fermentasi selesai, tempe dapat mengalami berbagai perlakuan pengolahan lanjutan, salah satunya adalah perendaman dalam larutan garam sebelum dikonsumsi atau diolah lebih lanjut.

Perendaman dalam larutan garam dapat mempengaruhi kandungan nutrisi tempe, termasuk kadar protein. Garam bersifat osmotik, sehingga dapat menyebabkan keluarnya air dari sel melalui proses osmosis. Ketika tempe direndam dalam larutan garam, perbedaan konsentrasi antara cairan di luar dan dalam jaringan tempe dapat memicu difusi senyawa-senyawa larut air, termasuk asam amino dan protein terlarut, ke dalam media perendaman. Proses ini berpotensi menurunkan kadar protein total dalam tempe, terutama jika perendaman dilakukan dalam waktu yang cukup lama atau dengan konsentrasi garam yang tinggi (Setyaningsih & Rahayu, 2020).

Selain itu, perendaman dengan garam juga dapat menyebabkan perubahan struktur protein melalui mekanisme denaturasi akibat lingkungan ionik yang berubah. Denaturasi ini bisa menyebabkan protein menjadi tidak larut, tergumpal, atau bahkan terlepas dari matriks tempe, tergantung pada kondisi lingkungan seperti pH dan kekuatan ion (Winarno, 2004). Protein dalam tempe merupakan salah satu protein sederhana yang diperoleh dari kedelai dan disebut dengan Globulin. Globulin memiliki sifat yang larut dalam garam netral dan hampir tidak larut dalam air (Deman, J.M., 1997). Dalam buku yang ditulis oleh Sudarmadji *et al.* (1989) juga menyebutkan bahwa Globulin merupakan protein yang tidak larut dalam air, tetapi larut dalam larutan garam encer.

Dalam hal ini, perendaman tempe dalam berbagai konsentrasi garam menjadi relevan untuk dianalisis secara kuantitatif guna mengetahui sejauh mana perubahan kadar protein yang terjadi. Kadar protein tempe dapat diukur secara kuantitatif dengan metode Kjeldahl, yaitu dengan mengukur kandungan nitrogen total dalam sampel, yang kemudian dikonversi ke kadar protein menggunakan faktor konversi tertentu. Metode ini umum digunakan dalam analisis bahan pangan karena akurat untuk menentukan protein total, meskipun tidak membedakan jenis protein atau asam amino terlarut (AOAC, 2016).

Dengan mempertimbangkan pengaruh sifat osmotik larutan garam serta potensi perubahan struktur protein, maka penting untuk meneliti bagaimana perendaman tempe pasca-fermentasi dalam berbagai konsentrasi garam dapat memengaruhi kadar protein yang tersisa dalam tempe.

E. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada, dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini adalah:

1. Terdapat pengaruh proses perendaman garam konsentrasi 1%, 3%, dan 5% terhadap kadar protein tempe kedelai
2. Larutan garam pada konsentrasi tertentu dapat menurunkan kadar protein tempe kedelai secara signifikan.