

## PERUBAHAN KOMPOSISI KIMIA TEMPE KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.) SELAMA PENGOLAHAN

*Changes of Chemical Composition of Red Kidney Bean (Phaseolus vulgaris L.) Tempe during Processing*

Feri Kusnandar\*, Vega Widya Karisma, Antung Sima Firlieyanti, Eko Hari Purnomo

Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian,  
Institut Pertanian Bogor (IPB University). Kampus IPB Dramaga Bogor 16680  
e-mail: fkusnandar@apps.ipb.ac.id

### ABSTRAK

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) mengandung zat gizi namun juga mengandung komponen antinutrisi yang menyebabkan penurunan nilai gizinya. Kacang merah berpotensi untuk diolah menjadi tempe. Perubahan komposisi kimia dan komponen antinutrisi dari kacang merah dapat terjadi selama pengolahan tempe. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi perubahan komposisi kimia dan kandungan antinutrisi dari kacang merah selama proses pengolahan tempe. Kacang merah diberi perlakuan perendaman, perebusan, perendaman asam dan fermentasi kapang (campuran *Rizophus oryzae* dan *Rizophus oligosporus*). Komposisi kimia, kandungan asam amino, aktivitas inhibisi antitripsin, kadar total isoflavon, dan oligosakarida dari kacang merah dievaluasi. Kacang merah mengandung protein dan karbohidrat yang tinggi (23,01% bk dan 71,51%bk). Komposisi protein kacang merah didominasi oleh asam aspartat (2.75 g/100g), asam glutamat (3,71 g/100g), leusin (1,80 g/100g) dan lisin (1,50 g/100g). Kacang merah menunjukkan aktivitas inhibisi antitripsin ( $0,58 \times 10^6$  TUI), mengandung isoflavon (152,76 mg/100g) dan oligosakarida dalam bentuk stakiosa (13,97 mg/g) dan rafinosa (1,88 mg/g). Proses perendaman, perebusan, perendaman asam, dan fermentasi kapang mempengaruhi secara signifikan ( $p < 0,05$ ) komposisi kimia, komposisi asam amino, aktivitas antitripsin, kadar isoflavon dan oligosakarida. Proses pengolahan secara keseluruhan hingga dihasilkan tempe kacang merah menyebabkan peningkatan kadar protein, penurunan kadar karbohidrat, perubahan komposisi asam amino, penurunan kadar total isoflavon, aktivitas inhibisi antitripsin dan kadar oligosakarida

**Kata kunci:** kacang merah, asam amino, antitripsin, isoflavon, oligosakarida

### ABSTRACT

Red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is rich in nutrient content but it also contains antinutrition compound responsible to lower nutrient digestibility. Red kidney bean is potentially processed into tempe. The chemical composition and antinutrition may change during tempe processing. This study aimed at evaluating the changes of chemical composition, and antinutrition content of red kidney bean during tempe processing (soaking, boiling, acid soaking and mold fermentation using the mixture of *Rizophus oryzae* and *Rizophus oligosporus*). The chemical composition, amino acid content, antitrypsin inhibition activity, total isoflavone, and oligosaccharides of red kidney bean were evaluated. Red kidney bean contained high protein and carbohydrates (23.01% db and 71.51% db, respectively). Its protein composition was dominated by aspartic acid (2.75 g/100g), glutamic acid (3.71 g/100g), leucine (1.80 g/100g) and lysine (1.50 g/100g). Red kidney bean showed antitrypsin inhibition activity ( $0.58 \times 10^6$  TUI), contained isoflavone (152.76 mg/100g) and oligosaccharide in form of stachyose (13.97 mg/g) and raffinose (1.88 mg/g). The soaking, boiling, acid soaking, and mold fermentation significantly affected ( $p < 0.05$ ) chemical composition, amino acid composition,

*antitrypsin activity, isoflavone and oligosaccharide concentrations. The overall tempe processing increased protein, decreased carbohydrates, changed amino acid composition as well as decreased in isoflavone, antitrypsin inhibition activity and oligosaccharide concentration.*

**Keywords :** red kidney bean, amino acid, antitrypsin, isoflavone, oligosaccharide

## PENDAHULUAN

Kacang merah atau dikenal juga sebagai kacang jogo (*Phaseolus vulgaris* L.) merupakan jenis kacang yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Produksi kacang merah di Indonesia mencapai 100.316 ton pada tahun 2014 (Kementan, 2015). Kacang merah umumnya dikonsumsi dalam bentuk sop atau campuran sayur, bubur, pengisi es krim, atau selai untuk pengisi kue. Kacang merah mengandung protein (22,7%), karbohidrat (57,7%), lemak (1,0%), serat pangan (18,8%), mineral (3,5%) (Thapa, 2012; Qayyum *et al.*, 2012), dan vitamin (vitamin A, vitamin B1, vitamin B2, dan niasin) (Audu dan Aremu, 2011; Astawan, 2009; Agustina *et al.*, 2013). Kadar indeks glikemik kacang merah juga termasuk rendah yang bermanfaat bagi penderita diabetes (Aulina 2010). Namun demikian, kacang merah juga mengandung senyawa antinutrisi, seperti asam fitat, oligosakarida, hemagglutinin (lektin) dan antitrypsin, yang dapat menyebabkan penurunan nilai gizinya (Ekawati 1999).

Kacang merah dapat diolah menjadi tempe (Jaisan, 2013; Maknun, 2015; Maryam, 2016; Radiati dan Sumarto, 2016). Proses pembuatan tempe kacang merah meliputi tahapan perendaman, perebusan, perendaman dalam asam, dan fermentasi kapang (Maknun, 2015).

Jaisan (2013) melakukan optimasi proses dalam proses pembuatan tempe kacang merah. Maknun (2015) meneliti pengaruh jenis laru dalam pembuatan tempe kacang merah terhadap mutu tempe yang dihasilkan. Maryam (2015) melaporkan perubahan komponen isoflavon dari tempe kacang merah sebagai akibat perlakuan lama proses fermentasi. Radiati dan Sumarto (2016) membandingkan mutu fisik, organoleptik, dan kandungan gizi dari tempe dari kacang bogor, kacang hijau, kacang merah, dan kacang tanah.

Proses perendaman dan perebusan, baik secara individu atau kombinasinya, dapat menurunkan senyawa antinutrisi seperti tanin, asam fitat tripsin inhibitor, asam fitat dan lektin (Huma *et al.*, 2008; Mohamed *et al.*, 2011; Luo and Xie, 2013; Pangastuti *et al.*, 2013). Proses tersebut juga meningkatkan daya cerna protein (Kanetro *et al.*, 2005). Proses perendaman dalam asam dapat menginaktivasi mikroba yang tidak diinginkan dalam pembuatan tempe, dan meningkatkan kadar protein terlarut (Triyono, 2010) dan isoflavon (Susi, 2012). Proses fermentasi juga dapat meningkatkan kandungan protein dan kadar asam amino dalam tempe (Almasyhuri *et al.*, 1999). Beberapa senyawa antinutrisi dan oligosakarida juga mengalami penurunan akibat proses fermentasi (Susi, 2012).

Proses pembuatan tempe secara umum melewati tahapan proses perendaman, perebusan dan fermentasi tersebut. Penelitian terdahulu dalam pengembangan tempe kacang merah belum dilaporkan adanya pengaruh perlakuan selama proses pembuatan tempe terhadap perubahan komposisi kimia dan asam amino, dan kandungan antinutrisi dari kacang merah dan dalam bentuk tempe kacang merah. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi perubahan komposisi kimia, komposisi asam amino, kadar total isoflavon, dan aktivitas antitripsin, dan oligosakarida selama tahapan proses pengolahan tempe kacang merah (perendaman, perebusan, perendaman asam, dan fermentasi).

## METODOLOGI

### Bahan

Kacang merah diperoleh dari pasar lokal di Bogor. Bahan lainnya adalah air bersih, laru tempe yang mengandung *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus*, dan asam asetat 25%. Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis di antaranya adalah heksana, larutan HCl 25%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, HgO, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Larutan 60% NaOH, 5% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>BO<sub>3</sub> jenuh, HCl 0.02 N, NaOH 2 N, hexana, etanol *pro-analysis* 70%, air destilata, indikator metilen red, metilen blue, indikator phenoftalein, standar glukosa, standar stakiosa, standar asam amino, standar isoflavon genistein, standar isoflavon daidzin, standar isoflavon glycitein, standar tripsin inhibitor, standar *Bovine Serum*

*Albumin* (BSA), larutan *N-α-benzoyl-L-arginine-p-nitronalidine* (BAPNA), *Trichloro asetic acid* (TCA), asam asetat, aquabidestilata, acetonitril *pro-analysis*, metanol *pro-analysis*, asam asetat glacial *pro-analysis*, regenerated membran 0.45μm, dietil eter, TCA (*Trichloro asetic acid*), AccQ-Fluor Borate.

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam proses pembuatan tempe dan penepungan antara lain lain panci, kompor, baskom, plastik, alat pelubang, oven, *disc mili* dan *pin disc mill*. Peralatan yang digunakan dalam analisis kimia antara lain desikator, oven, neraca analitik, termometer, tanur, alat ekstraksi Soxhlet (kondensor dan pemanas listrik), pemanas Kjeldahl lengkap, alat destilasi lengkap, buret, pengaduk magnetik, UV-Vis spektrofotometer, sentrifuse, alat penyaring dengan ukuran membran 22 μm, *Amino Acid Analyzer*, *high performance liquid chromatography* (HPLC), kolom C18 *reverse phase*, dan kolom *Zorbax Carbohydrate*.

### Persiapan sampel

Kacang merah diberikan perlakuan perendaman, perebusan, dan fermentasi sesuai tahapan proses pembuatan tempe. Persiapan sampel untuk masing-masing perlakuan adalah sebagai berikut:

**Perendaman.** Kacang merah direndam dalam air selama 7 jam, dikupas kulitnya dan dikeringkan dalam oven (60°C selama 3 jam),

digiling dengan *pin disc mill*, dan diayak dengan ayakan 80 *mesh*. Tahap proses ini menghasilkan tepung kacang merah (T-PKM) dengan perlakuan perendaman.

**Perebusan.** Kacang merah direndam dalam air selama 7 jam, direbus selama 10 menit, didinginkan dan dikupas kulitnya sama. Kacang merah dari proses ini (PR) digiling dan dianalisis.

**Pengasaman.** Kacang merah yang telah melewati tahapan perendaman dan perebusan seperti di atas, direndam dalam larutan asam pH 4,5 selama 7 jam. Setelah proses tersebut, kacang merah dicuci untuk menghilangkan sisa asam, ditiriskan dan dikupas kulitnya. Kacang merah dari proses ini (PRA) digiling dan dianalisis.

**Fermentasi.** Kacang merah yang telah melewati tahapan perendaman, perebusan dan pengasaman seperti di atas, dikukus selama 10 menit, didinginkan dan diinokulasi dengan laru tempe yang mengandung kapang campuran *Rizophus oryzae* dan *Rizophus oligosporus*, dimasukkan ke dalam kantung plastik berlubang (ketebalan kacang 1 cm dengan tingkat aerasi 2.5%), dan diinkubasi selama 36 jam. Keseluruhan proses ini menghasilkan tempe kacang merah (PRAF). Sampel kemudian digiling dan dianalisis.

Sampel (4 perlakuan) dan kontrol (tepung kacang merah utuh atau TKM) dianalisis komposisi kimia (proksimat), komposisi asam amino, kadar total isoflavon, aktivitas antitripsin, dan kadar oligosakarida.

### Analisis proksimat

Metode yang diacu dalam analisis proksimat adalah sebagai berikut: kadar air (SNI 01-2891-1992 (BSN, 1992), kadar abu (SNI 01-2891-1992 (BSN, 1992), protein (AOAC 960.52 yang dimodifikasi) (AOAC, 2001), lemak (SNI 01-2891-1992 (BSN, 1992), dan karbohidrat (*by difference*). Kadar air dinyatakan dalam basis basah (bb), sedangkan komponen lainnya dinyatakan dalam basis kering (bk).

### Analisis komposisi asam amino (Nollet, 1996)

Sebanyak 0,1 g sampel ditambahkan dengan 5 mL HCl 6N, kemudian di-*vortex*. Reaksi hidrolisis dibiarkan berlangsung selama 22 jam pada suhu 110°C. Sampel kemudian didinginkan, dipindahkan ke dalam labu takar 50 mL dan ditera dengan menggunakan aquabidest. Hasil tersebut disaring dengan filter berukuran 0.45 µm. Filtrat dipipet sebanyak 500 µL dan direaksikan dengan 40 µL AABA dan 460 µL aquabidest. Sebanyak 10 µL larutan hasil reaksi tersebut diambil, dan direaksikan dengan menggunakan AccQ-Fluor Borate sebanyak 70 µL, di-*vortex*, lalu ditambahkan dengan 20 µL reagent fluor A, di-*vortex*, dan didiamkan selama 1 menit. Hasilnya diinkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit. Sampel siap diinjeksi ke dalam HPLC (Biorad Aminex HPX-87H, USA).

HPLC yang digunakan dilengkapi dengan peralatan sebagai berikut: (a) Detektor: Fluorescence dengan eksitasi pada panjang gelombang 250 nm dan emisi pada panjang

gelombang 395 nm; (b) Kolom: AccQtag column berukuran 3.9x150 mm, suhu 37°C; (c) Fase gerak: campuran Acetonitril 60% - AccqTag Eluent A dengan sistem gradien komposisi, dan kecepatan aliran 1.0 mL/menit; (d) Standar internal: AABA. Kadar asam amino dinyatakan dalam g/100g (bk).

#### **Analisis kadar total isoflavon (AOAC, 2001)**

Sebanyak 50 g sampel dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan larutan ekstraksi, yaitu metanol dan air dengan perbandingan 80:20. Erlenmeyer kemudian ditutup dan dimasukkan ke dalam *waterbath shaker* bersuhu 65°C selama 2 jam. Setelah didinginkan, sebanyak 3 mL NaOH 2N ditambahkan, dan dikocok selama 10 menit. Asam asetat glasial ditambahkan sebanyak 3 mL, kemudian dikocok kembali dan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 50 mL, tera dengan menggunakan larutan ekstraksi. Hasil tersebut disaring dengan kertas saring Whatman No. 42. Setelah disaring, filtrat dipipet sebanyak 5 mL ke dalam labu ukur 10 mL. Sebanyak 4 mL aquabidest kemudian ditambahkan, ditera dengan metanol dan air dengan perbandingan 1:1, lalu dikocok. Sampel tersebut disentrifusi (7000 rpm, 5 menit) dan supernatan yang dihasilkan dimasukkan ke dalam vial dan siap untuk diinjeksi ke dalam HPLC.

Analisis isoflavon dilakukan dengan menggunakan HPLC yang dilengkapi dengan peralatan sebagai berikut: (a) Detektor:UV

Detector dengan panjang gelombang 260 nm; (b) Kolom:C18 *Reverse Phase* dengan ukuran 200 x 2.1 mm, laju aliran sebesar 0.4 mL/menit dan volume injeksi sebesar 20µl; (c) Fase gerak: FG 1 dengan komposisi air:metanol:asam asetat glasial = 88:10:2 sedangkan FG 2 dengan komposisi metanol:asam asetat glasial = 98:2; (d) Standar: Daidzin, genistin, daidzein, genistein dan glycitein. Perhitungan kadar total isoflavon total dinyatakan dalam mg/100g (bk).

#### **Analisis aktivitas inhibisi antitripsin (Kakade et al., 1974)**

Analisis antitripsin didasarkan pada penghambatan hidrolisis substrat buatan, yaitu N $\alpha$ -benzoyl-L-arginine-p-nitroanilide (BAPNA) oleh enzim tripsin karena adanya antitripsin di dalam bahan. Sebanyak 1,0 g tepung sampel dilarutkan dalam 50 mL NaOH 0,01 N. Sampel diaduk selama 3 jam dengan menggunakan pengaduk magnetik, lalu disentrifusi (5000 rpm, 10 menit, suhu 5°C). Supernatan kemudian diencerkan dengan air destilata. Sejumlah ekstrak (0,0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mL) dipipet ke dalam tabung reaksi. Masing-masing ekstrak ditambahkan dengan air destilata hingga volume mencapai 2 mL. Sebanyak 2 mL larutan tripsin ditambahkan ke dalam masing-masing tabung reaksi, kemudian dipanaskan dalam penangas air bersuhu 37°C selama 5 menit. Setelah dingin, larutan BAPNA bersuhu 37°C ditambahkan sebanyak 5 mL, kemudian di-*vortex*. Ekstrak dipanaskan kembali dengan menggunakan penangas air pada suhu

37°C selama 10 menit. Setelah 10 menit, sebanyak 1 mL asam asetat 30% ditambahkan ke dalam masing-masing tabung, lalu di-vortex. Bila larutan yang dihasilkan berwarna jernih, maka absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Bila sampel yang dihasilkan keruh, maka sampel disaring terlebih dahulu dengan kertas saring. Aktivitas inhibisi tripsin dinyatakan sebagai satuan tripsin yang dihambat *trypsin unit inhibited* (TUI) (dalam berat kering sampel).

#### **Analisis kadar oligosakarida (Wang et al., 2007 yang modifikasi)**

Sebanyak 2,0 g sampel yang telah ditepungkan dihilangkan lemaknya dengan penambahan heksana, kemudian dilakukan pengadukan dengan pengaduk magnetik selama 3 jam. Sampel yang telah diekstrak kemudian disaring dengan kertas Whatman #41. Residu secara kuantitatif dipindahkan ke dalam gelas piala. Oligosakarida diekstrak dengan penambahan etanol pro-analysis 70% sebanyak 20 mL, lalu dipanaskan dalam penangas air (70°C, 1 jam). Ekstrak disaring dan dimasukkan ke dalam labu takar 25 mL, dan ditera dengan etanol pro-analysis 70%. Hasil ekstrak disaring dengan penyaring membran berukuran 0.45 µm, dimasukkan ke dalam vial tertutup, dan ditambahkan natrium azide sebanyak 10% dari volume dalam vial. Sampel kemudian dianalisis dengan HPLC. Instrumen HPLC dilengkapi dengan: (a) *Degasser* (model G1322A Agilent),

pompa *solvent* (model G1310A Agilent), dan detektor *Refractive Index* (model G1362A Agilent); (b) Kolom HPLC untuk karbohidrat (*ZORBAX Carbohydrate Analysis Columns*) berukuran 150 mm x 4.6 mm x 5µm (Agilent) yang dilapisi dengan 3-aminopropilsilan pada partikel silica; (c) Fase gerak: Campuran Acetonitril:air (75:25) dengan kecepatan alir 1.4 mL/menit; (d) Standar pengujian oligosakarida : rafinosa (*Sigma*) dan stakiosa (*Sigma*). Kadar oligosakarida dinyatakan dalam mg/g bk sampel. Analisis lebih lanjut dengan HPLC dilakukan untuk mengetahui adanya pembentukan gula-gula sederhana (glukosa, fruktosa dan maltosa) pada tempe kacang merah.

#### **Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis beda nyata pada taraf signifikansi  $p < 0,05$  dengan menggunakan *software* SPSS 20.0. Data yang ditampilkan disertai dengan standar deviasi atau *error bar*.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Komposisi Kimia**

Tabel 1 menyajikan perubahan komposisi kimia tepung kacang merah (TKM), kacang merah setelah proses perendaman (P-TKM), perendaman dan perebusan (PR), perendaman perebusan, perendaman dalam asam (PRA), dan perendaman, perebusan, perendaman dalam asam dan fermentasi atau dalam bentuk tempe

kacang merah (PRAF). Secara umum, hasil analisis ragam menunjukkan perubahan yang nyata ( $p < 0,05$ ) antar sampel perlakuan terhadap komposisi kimia (air, abu, protein, lemak, dan karbohidrat).

Kadar air tepung kacang merah (TKM) sebesar 16,22%bb, yang hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Hartayanie dan Retnaningsih (2006), yaitu 17.70% (bb). Setelah dilakukan proses perendaman, penepungan dan pembuangan kulit (P-TKM), kadar air menurun menjadi 5,49%bb, yang memenuhi batas maksimum kadar air, yaitu 14.50%bk (SNI 3751-2009 (BSN, 2009)). Setelah proses perebusan (PR) kadar air meningkat menjadi 29,32%bb, dan bila dilanjutkan dengan proses perebusan (PRA)

meningkat secara signifikan ( $p < 0,05$ ) menjadi 56,83%bb. Hal ini disebabkan air masuk ke dalam matriks/jaringan kacang yang melunak dan mudah menyerap air. Kadar air kacang merah juga sedikit meningkat selama proses fermentasi (PRAF) dibandingkan PRA (59,42% bb). Menurut Stainkraus (1996) dan Susi (2012) selama proses fermentasi terjadi pembebasan uap air oleh kapang sebagai hasil penguraian senyawa kompleks yang terhalang oleh plastik kemasan. Kadar abu kacang merah utuh adalah 4.26%bk. Proses perlakuan perendaman hingga fermentasi menyebabkan kadar abu yang secara signifikan ( $p < 0,05$ ) menurun hingga 1,27% bk. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya sebagian mineral yang terlarut ke dalam air rendaman atau air rebusan.

Tabel 1. Komposisi kimia kacang merah dengan berbagai perlakuan

Sampel tepung	Air (% bb)	Abu (% bk)	Protein (% bk)	Lemak (% bk)	Karbohidrat (% bk)
TKM	16,22±0,18 <sup>b</sup>	4,26±0,12 <sup>d</sup>	23,01±2,99 <sup>ab</sup>	1,22±0,17 <sup>a</sup>	71,51±0,15 <sup>c</sup>
P-TKM	5,49±0,09 <sup>a</sup>	3,49±0,00 <sup>c</sup>	25,09±0,53 <sup>b</sup>	1,23±0,17 <sup>a</sup>	70,01±0,10 <sup>b</sup>
PR	29,32±0,42 <sup>c</sup>	2,77±0,18 <sup>b</sup>	21,47±0,60 <sup>a</sup>	1,68±0,82 <sup>a</sup>	74,07±0,40 <sup>d</sup>
PRA	56,83±0,75 <sup>d</sup>	1,34±0,11 <sup>a</sup>	23,36±0,86 <sup>ab</sup>	1,30±0,10 <sup>a</sup>	72,02±0,25 <sup>cd</sup>
PRAF	59,42±1,07 <sup>e</sup>	1,27±0,08 <sup>a</sup>	33,85±0,64 <sup>c</sup>	1,72±0,42 <sup>a</sup>	63,13±0,35 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>TKM (Tepung kacang merah utuh); P-TKM (tepung kacang merah yang diberi perlakuan perendaman); PR (kacang merah dengan perendaman dan perebusan); PRA (kacang merah dengan perendaman, perebusan dan pengasaman); PRAF (kacang merah dengan perendaman, perebusan, pengasaman dan fermentasi atau tempe)

<sup>2</sup>Angka pada kolom yang sama disertai dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

Tepung kacang merah (TKM) mengandung protein yang cukup tinggi (23,0%bk). Tepung kacang merah setelah perendaman (T-TKM) meningkat yang disebabkan oleh bagian kulit yang dibuang sehingga persentase proteinnya sedikit meningkat (25,1%bk). Perlakuan perebusan

menurunkan kadar protein (21,47%bk), dan sedikit meningkat setelah proses perendaman dan fermentasi (33,85%bk). Selama proses fermentasi, kapang menghasilkan massa miselium yang diduga meningkatkan kadar protein tempe. Menurut Susi (2012), selama proses fermentasi,

kapang menghasilkan enzim proteolitik yang mengurai protein menjadi asam amino sehingga nitrogen terlarutnya semakin meningkat. Kadar lemak relatif tidak banyak berubah, baik dalam bentuk tepung kacang merah maupun setelah proses fermentasi (1,22-1,72%bk). Hal yang mirip dilaporkan oleh Astawan (2009) bahwa kacang merah mengandung lemak sebesar 1,5% bk.

Kadar karbohidrat TKM sebesar 71,51%bk, dan sedikit menurun pada tepung P-TKM (70,01%bk). Karbohidrat meningkat menjadi 74,07%bk setelah perebusan (PR), dan berangsur menurun secara signifikan ( $p < 0,05$ ) menjadi 63,13% setelah proses fermentasi (PRAF). Kadar karbohidrat dihitung sebagai *by difference*, sehingga penurunannya disebabkan oleh kadar protein yang meningkat secara signifikan ( $p < 0,05$ ) setelah proses fermentasi. Proses fermentasi dapat mengubah senyawa karbohidrat kompleks pada tempe menjadi senyawa yang lebih sederhana, seperti gula monosakarida, sehingga kadar karbohidrat dari tempe menurun (Murata *et al.*, 2006). Murata *et al.* (2006) juga melaporkan bahwa serat pangan tempe sedikit meningkat yang dapat berasal dari miselium kapang.

### Komposisi Asam Amino

Mutu suatu protein dinilai dari perbandingan asam-asam amino yang terkandung dalam protein tersebut (Windrati *et al.*, 2010). Secara keseluruhan komposisi asam amino pada kacang merah dengan perlakuan perendaman, perebusan, perendaman asam dan fermentasi

mengalami perubahan (Tabel 2). Jumlah asam amino pada kacang merah sebesar (19,76 g/100g), yang mengalami peningkatan setelah proses perendaman (22,70 g/100g), perebusan (22,81 g/100g), perendaman asam (25,85 g/100g) dan fermentasi (37,19 g/100g). Hal ini menunjukkan adanya korelasi antara kandungan protein dengan komposisi asam amino kacang merah. Semakin banyak kandungan asam amino meningkatkan kadar dari suatu protein (Supirman *et al.*, 2013).

Komposisi 15 asam amino dari kacang merah dengan berbagai perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2. Asam amino yang terdapat dalam sampel kacang merah didominasi oleh asam aspartat (2,75 g/100g), asam glutamat (3,71 g/100g), leusin (1,80 g/100g) dan lisin (1,50 g/100g). Leusin dan lisin termasuk ke dalam asam amino esensial yang tidak dapat disintesis oleh tubuh, sedangkan asam glutamat dan asam aspartat merupakan komponen asam amino non-esensial. Menurut Astawan (2009) kacang merah mengandung leusin dan lisin yang tinggi. Kandungan asam glutamat dan asam aspartat berkontribusi pada flavor dan rasa (Susi, 2012).

Kandungan asam amino pada tempe kacang merah (PRAF) meningkat yang didominasi oleh asam aspartat (4,44 g/100g), asam glutamat (4,56 g/100g), leusin (3,20 g/100g) dan lisin (4,12g/100g). Selama proses fermentasi, enzim yang dihasilkan kapang tempe meningkat dan memecah komponen protein menjadi komponen yang sederhana seperti peptida dan asam amino.



Enzim protease yang dihasilkan oleh kapang ini menghidrolisis protein menjadi peptida sederhana dan asam amino (Susi 2012). Oleh sebab itu kadar asam amino pada sampel tempe kacang merah lebih tinggi dibandingkan kacang merahnya.

Tabel 2 menunjukkan metionin merupakan asam amino pembatas karena kandungannya yang paling rendah, baik dalam bentuk kacang

merah (0,21 g/100g) maupun setelah proses fermentasi (0,42 g/100g). Hal ini sesuai dengan Tejasari (2005) dan Agarwal (2017) yang menyatakan bahwa metionin merupakan salah satu asam amino pembatas dalam kacang-kacangan dan biji-bijian. Dalam penelitian yang lain, Windrati *et al.* (2010) menyebutkan kacang koro pedang mengandung metionin sebagai asam amino pembatas.

Tabel 2. Kandungan asam amino (g/100 g) kacang merah dengan berbagai perlakuan

Asam amino	TKM	P-TKM	PR	PRA	PRAF
Asam Aspartat	2,75±0,08	2,29±0,05	3,06±0,07	3,41±0,03	4,44±0,02
Asam Glutamat	3,71±0,16	4,05±0,10	4,04±0,07	4,56±0,10	4,56±0,10
Serin	1,16±0,04	1,44±0,02	1,48±0,07	1,54±0,08	2,64±0,07
Histidin	0,58±0,03	0,74±0,01	0,74±0,03	0,80±0,02	1,48±0,02
Glisin	0,73±0,02	0,83±0,01	0,78±0,02	1,12±0,02	1,75±0,02
Threonin	0,90±0,04	1,11±0,02	1,02±0,04	1,20±0,03	1,97±0,03
Arginin	1,15±0,05	1,33±0,04	1,27±0,02	1,47±0,02	2,14±0,02
Alanin	0,93±0,03	1,06±0,01	1,03±0,03	1,24±0,02	2,39±0,03
Tirosin	0,59±0,03	0,73±0,03	0,74±0,02	0,80±0,02	1,38±0,02
Metionin	0,21±0,00	0,24±0,02	0,23±0,01	0,24±0,02	0,42±0,02
Valin	1,28±0,04	1,45±0,03	1,48±0,03	1,69±0,00	2,32±0,02
Fenilalanin	1,35±0,04	1,57±0,03	1,65±0,05	1,81±0,00	2,49±0,03
Isoleusin	1,13±0,03	1,30±0,02	1,37±0,04	1,59±0,02	1,90±0,03
Leusin	1,80±0,08	2,10±0,04	2,16±0,06	2,43±0,03	3,20±0,03
Lisin	1,50±0,07	1,83±0,01	1,76±0,07	1,95±0,03	4,12±0,03
Jumlah	19,76	22,70	22,81	25,85	37,19

<sup>1</sup> Keterangan singkatan perlakuan mengacu pada Tabel 1

<sup>2</sup> Angka pada kolom yang sama disertai dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ( $p < 0,05$ )

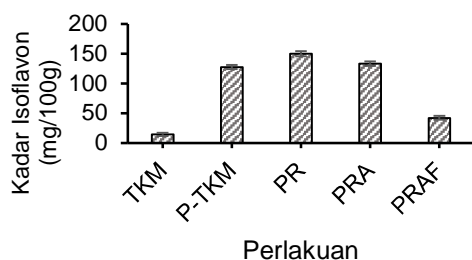
### Kadar Total Isoflavon

Isoflavon merupakan suatu komponen non-gizi. Isoflavon diketahui dapat mencegah peningkatan radikal bebas yang dapat mengakibatkan stres oksidatif dalam tubuh. Kadar total isoflavon paling tinggi sering ditemui dalam produk kacang-kacangan dan olahannya. Kadar total isoflavon kacang merah dengan berbagai

perlakuan disajikan pada Gambar 1. Kadar total isoflavon kacang merah cukup tinggi (152,76 mg/100g). Kandungan isoflavon ini lebih rendah dibandingkan kedelai (47-422 mg/100g) (Raharjo 1996). Kadar total isoflavon setelah perendaman (P-TKM) menurun menjadi 15,25 mg/100g. Hal ini disebabkan dalam proses penepungan dilakukan pengeringan yang dapat menyebabkan kerusakan

komponen isoflavon oleh panas. Menurut Utari *et al.* (2010) isoflavon rentan terhadap panas yang tinggi, kandungan isoflavon semakin turun dengan peningkatan proses pemasakan karena terjadi kerusakan atau pemindahan isoflavon dari bahan dasar.

Perlakuan proses pada kacang merah yang direbus (PR) dan kacang merah rebus yang dilanjutkan perendaman asam (PRA) mengalami peningkatan kadar total isoflavon (Gambar 1), yaitu (212,03 mg/100g dan 308,69 mg/100g. Kadar total isoflavon menurun setelah proses fermentasi menjadi 104,08 mg/100g.



Gambar 1. Kadar total isoflavon kacang merah dengan berbagai perlakuan. Keterangan singkatan perlakuan mengacu pada Tabel 1

Menurut Astuti (2008), kandungan isoflavon pada jenis kacang-kacangan terdiri dari empat bentuk, yaitu (1) aglikon/non gula (seperti genistein, daidzein dan glycitein); (2) glikosida (seperti daidzin, genistin dan glisitin); (3) asetilglikosida, dan (4) malonilglikosida. Glikosida dipertahankan oleh tanaman sebagai bentuk inaktif sehingga disimpan dalam bentuk antioksidan, sedangkan aglikon terdapat pada produk olahan kacang dan produk fermentasinya.

Isoflavon pada kacang merah utuh diduga dalam bentuk glikosida yang mengikat satu molekul gula. Ketika terjadi proses pengolahan bentuk glikosida terdegradasi menjadi bentuk aglikon yang bebas yang dihasilkan oleh pelepasan glukosa dari glikosida (Astuti 2008). Senyawa aglikon ini memiliki aktivitas yang lebih tinggi dan daya serap ke dalam tubuh yang juga relatif lebih tinggi (Istiani, 2010). Selain itu, isoflavon glikosida terhidrolisis selama proses perendaman asam yang menghasilkan isoflavon aglikon. Hal ini karena adanya aktivitas enzim  $\beta$ -glukosidase dari mikroba yang hidup di sekitar kacang merah. Enzim ini bekerja optimum pada suasana asam, sehingga diperoleh isoflavon yang lebih banyak pada proses perendaman asam (Purwoko 2004). Hal ini yang diduga menyebabkan kadar total isoflavon yang relatif tinggi dari kacang merah utuh, kacang merah yang direbus dan yang diasamkan.

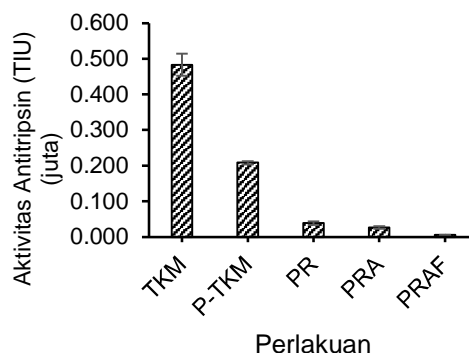
Kacang merah setelah proses fermentasi juga mengandung isoflavon yang relatif tinggi walaupun sedikit menurun dibandingkan dalam bentuk kacang merah atau setelah proses perebusan dan perendaman asam. Isoflavon dalam tempe ini diduga dalam bentuk aglikon (Coward *et al.*, 1998) yang disebabkan oleh adanya aktivitas kapang *Rhizopus sp.* dalam fermentasi tempe (Retno *et al.*, 2012). Kadar total isoflavon pada tempe kacang merah (PRAF) lebih rendah dibandingkan kacang merah utuh (TKM) (Gambar 1). Proses fermentasi seharusnya meningkatkan kadar total isoflavon dari tempe,

namun berdasarkan penelitian ini menunjukkan bahwa kadar total isoflavon mengalami penurunan. Menurut Istiani (2010), adanya aktivitas mikroba selama proses fermentasi menyebabkan pembentukan aglikon berhenti, sehingga kadar total isoflavon pada tempe selama proses fermentasi menurun. Menurut Nakajima *et al.*, (2005) lamanya waktu fermentasi dapat menurunkan kadar total isoflavon (bentuk glukosida dan aglikon) dari tempe, namun kadar aglikon mengalami sedikit peningkatan. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa proses fermentasi dapat meningkatkan kadar total isoflavon tempe, namun kadarnya dapat menurun apabila waktu fermentasi terlalu lama.

#### Aktivitas Inhibisi Antitripsin

Antitripsin (*trypsin inhibitor*) merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim proteolitik dalam mencerna protein (Kanetro *et al.*, 2005). Antitripsin ini merupakan salah satu zat antinutrisi yang terdapat pada kacang-kacangan dan produk olahannya. Kacang merah mentah mengandung aktivitas antitripsin yang tinggi (Gambar 2), yaitu  $0,483 \times 10^6$  TUI. Kandungan aktivitas antitripsin yang tinggi ini menyebabkan kacang mentah memiliki daya cerna protein yang rendah (Astawan, 2009). Tahapan selama proses pengolahan tempe mengakibatkan penurunan aktivitas antitripsin secara signifikan. Aktivitas antitripsin pada sampel kacang merah setelah perendaman (P-TKM) menurun menjadi  $0,208 \times 10^6$  TUI. Penurunan

aktivitas tripsin lebih tinggi setelah proses perebusan. Kacang merah yang diberi perlakuan perebusan dan dilanjutkan proses perendaman asam (PRA) tidak banyak mengalami perubahan aktivitas antitripsin secara signifikan ( $0,027 \times 10^6$  TUI). Namun, pada proses fermentasi menjadi tempe, aktivitas antitripsin menurun drastis menjadi  $0,005 \times 10^6$  TUI. Antitripsin pada kacang-kacangan dapat dinaktivasi oleh perlakuan panas dan dilakukan perendaman sehingga dapat mempertahankan nilai gizi pada protein kacang (Santoso, 2005). Proses fermentasi juga dapat mendegradasi antitripsin sehingga aktivitas inhibisinya menurun (Sujatmiko, 2009).



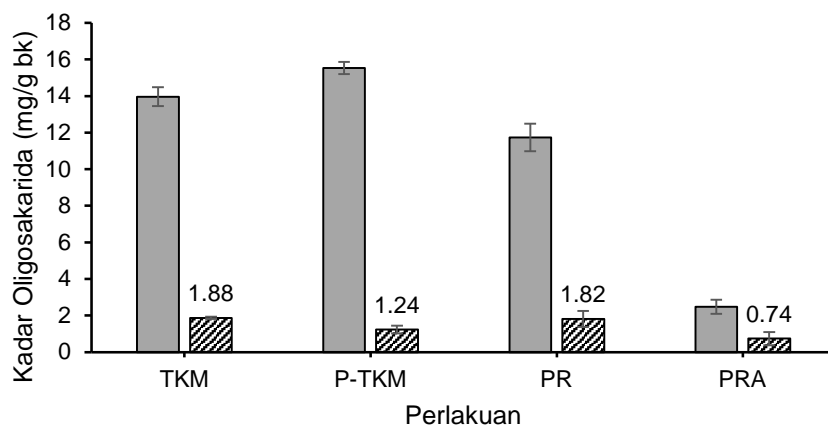
Gambar 2. Aktivitas antitripsin kacang merah dengan berbagai perlakuan. Keterangan singkatan perlakuan mengacu pada Tabel 1

#### Kadar Oligosakarida

Oligosakarida merupakan bagian dari polimer karbohidrat dengan berat molekul yang rendah dan mengandung molekul gula dengan derajat polimerisasi 3 hingga 10 (Weijers *et al.*, (2008). Oligosakarida termasuk salah satu komponen pada kacang-kacangan yang sering

dihubungkan sebagai penyebab flatulensi. Hal ini karena oligosakarida menimbulkan gas seperti metana dan hidrogen dalam tubuh yang dapat menyebabkan perut mengalami kembung. Gas tersebut merupakan hasil metabolisme bakteri pada saluran pencernaan (Ravindran 1990).

Namun demikian, oligosakarida saat ini dipandang sebagai komponen yang bermanfaat bagi kesehatan. Keberadaan oligosakarida dapat dimanfaatkan oleh bakteri yang menguntungkan di dalam saluran pencernaan sebagai prebiotik (Liyang *et al.*, 2003).



Gambar 3. Kadar oligosakarida kacang merah dengan berbagai perlakuan. Keterangan singkatan perlakuan mengacu pada Tabel 1

Komponen oligosakarida yang terdapat pada kacang merah mirip dengan kacang kedelai, yaitu stakiosa dan rafinosa (Saifatah, 2011; Kurniasih *et al.*, 2013). Gambar 3 menunjukkan kadar oligosakarida (stakiosa dan rafinosa) pada kacang merah dengan berbagai perlakuan. Kadar stakiosa pada kacang merah lebih tinggi jika dibandingkan kadar rafinosa. Secara keseluruhan proses perlakuan terhadap kacang merah menyebabkan penurunan pada kadar stakiosa dan rafinosa. Kadar stakiosa yang dimiliki oleh kacang merah adalah 13,97 mg/g, yang lebih rendah dibandingkan kacang kedelai (41,30 mg/g) (Wang *et al.*, 2007). Proses penepungan kacang merah

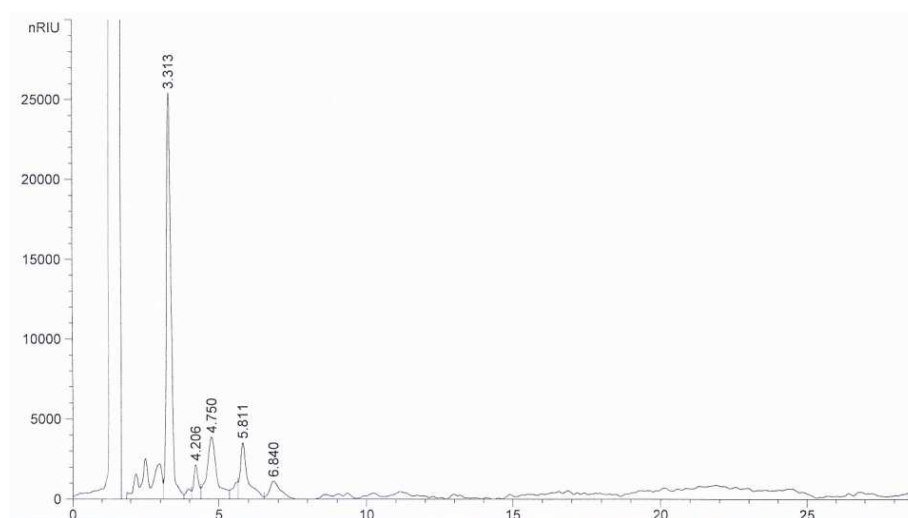
menyebabkan kadar stakiosa yang meningkat menjadi 15,53 mg/g. Perlakuan perebusan kacang, perendaman dalam asam sampai perebusan dan pengasaman menyebabkan penurunan kadar stakiosa secara signifikan (2,48 mg/g). Kadar stakiosa tidak terdeteksi dalam tempe kacang merah.

Hal yang sama juga terlihat pada kadar rafinosa yang terdapat pada sampel kacang merah dengan berbagai perlakuan. Berdasarkan pengujian diperoleh kadar rafinosa dari sampel kacang merah sebesar 1.88 mg/g. Hasil ini juga tergolong rendah apabila dibandingkan dengan kadar rafinosa yang terdapat dalam kacang

kedelai (7,5 mg/g) (Wang *et al.*, 2007). Kadar rafinosa juga mengalami penurunan pada kacang merah setelah perebusan dan pengasaman menjadi 0,74 mg/g. Komponen rafinosa juga tidak terdeteksi pada tempe kacang merah.

Analisis lebih lanjut dengan menggunakan HPLC pada tempe kacang merah (Gambar 4) menunjukkan adanya *peak* pembentukan glukosa,

fruktosa dan maltosa. Hal ini menunjukkan terjadinya proses konversi dari oligosakarida atau karbohidrat lainnya menjadi gula sederhana selama proses fermentasi tempe. Peningkatan monosakarida memberikan keuntungan dalam meningkatkan nilai gizi karbohidrat dari tempe kacang merah.



Gambar 4. Kromatogram monosakarida tempe kacang merah yang difermentasi selama 36 jam

## KESIMPULAN

Kacang merah mengandung protein dan karbohidrat yang tinggi (23,01% bk dan 71,51%bk). Komposisi protein kacang merah didominasi oleh asam aspartat (2.75g/100g), asam glutamat (3.71 g/100g), leusin (1.80 g/100g) dan lisin (1,50 g/100g). Kacang merah menunjukkan aktivitas antitripsin ( $0,58 \times 10^6$  TUI), kadar total isoflavon (152,76 mg/100g) dan oligosakarida dalam bentuk stakiosa (13,97 mg/g) dan rafinosa (1.88 mg/g). Proses perendaman, perebusan,

perendaman asam, dan fermentasi kapang (*Rizophus oryzae* dan *Rizophus oligosporus*) memengaruhi secara signifikan komposisi kimia, kandungan asam amino, aktivitas antitripsin, kadar isofavon dan oligosakarida. Proses pengolahan secara keseluruhan hingga dihasilkan tempe kacang merah menyebabkan peningkatan kadar protein, penurunan kadar karbohidrat, perubahan komposisi asam amino, penurunan kadar total isoflavon, aktivitas antitripsin dan kadar oligosakarida.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, A. (2017). Proteins in Pulses. *Journal of Nutritional Disorders and Therapy*. 7(1):1.1000e129.
- Agustina, N., Waluyo, S., Warji & Tamrin. (2013). Pengaruh Suhu Perendaman Terhadap Koefisien Difusi dan Sifat Fisik Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L). *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*. 2(1):35-42.
- Almasyhuri, Ridwan, E., Yuniati, H. & Hermana. (1999). Pengaruh Fermentasi Terhadap Kandungan Protein dan Komposisi Asam Amino Dalam Singkong. *Jurnal Penelitian Gizi dan Makanan*. 22:55-61. DOI: 10.22435/pgm.v0i0.1529.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. (2001). *Official Methods of Analysis*. 10th ed. Arlington: AOAC.
- Astawan M. (2009). *Sehat Dengan Hidangan Kacang dan Biji-bijian*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Astuti, S. (2008). Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 13 (2):126-136.
- Audu, S.S. & Aremu, M.O. 2011. Effect of processing on chemical composition of red kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flour. *Pakistan Journal of Nutrition*. 10(11):1069-1075. DOI: 10.3923/pjn.2011.1069.1075.
- Aulina, R. (2010). Pengaruh Pemberian Diet Kacang Merah dengan Berbagai Proses Pemasakan terhadap Kadar Glukosa Darah. [Skripsi]. Semarang (ID): Universitas Diponegoro.
- [BSN] Badan Standar Nasional. (1992). SNI 01-2891-1992. Cara Uji Makanan dan Minuman. Badan Standar Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2009). Kadar Air Tepung. [terhubung berkala] <http://www.bsn.go.id> (diakses tanggal 3 Maret 2014).
- Coward, L., Barnes, N., Setchell, K.D.R. & Barnes, S. (1993). Genestein and deidzein and their  $\beta$ -glycoside conjugates antitumor isoflavones in soybeans food from American and Asian diets. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 41:1961-1967. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00035a027>.
- Ekawati, D. (1999). Pembuatan Cookies dari Tepung Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L) Sebagai Makanan Pendamping ASI (MP-ASI). [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Hartayanie, L. & Retnaningsih, C. (2006). Pemanfaatan Tepung Kacang Merah Sebagai Pengganti Tepung Terigu Dalam Pembuatan Roti Tawar: Evaluasi Sifat Fisikokimia dan Sensori. [Skripsi]. Semarang (ID): Universitas Soegijapranata.
- Huma, N., Anjum, F.M., Sehar, S., Khan, M.I. & Hussain, S. (2008). Effect of Soaking and Cooking On Nutritional Quality and Safety Of Legumes. *Nutrition and Food Science*. 38(6):570-577. DOI: 10.1108/00346650810920187.
- Istiani, Y. (2010). Karakterisasi Senyawa Bioaktif Isoflavon dan Uji Antioksidan dari Ekstrak Etanol Tempe Berbahan Baku Koro Pedang (*Canavalia ensiformis*). [Tesis]. Surakarta (ID): Universitas Sebelas Maret.
- Jaisan, C. (2013). Optimizing of Fermentation Process of Red Bean Tempe. [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Kakade, M.L, Rackis, J.J., McGhee, J.E. & Pusky, G. (1974). Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of improved procedure. *Cereal Chemistry*. 51: 376-382.
- Kanetro, B, Noor, Z, Sutardi & Indrati, R. (2005). Karakteristik Trypsin Inhibitor dan

- Penjajagan Sebagai Komponen Makanan Fungsional Penderita Diabetes (IIDM). *Agritech*. 25(4):186-194. DOI: <https://doi.org/10.22146/agritech.9447>.
- [Kementan] Kementerian Pertanian. (2015). *Statistika Produksi Hortikultura 2014*. Direktorat Jenderal Hortikultura, Kementerian Pertanian.
- Kurniasih, N. & Rosahdi, T.D. (2013). Perbandingan Efektifitas Sari Kacang Merah dan Kacang Hijau Sebagai Media Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknik Nuklir*; 2013 Jul 4; Bandung, Indonesia.
- Liyang, Z., Li, D., Qiao, S., Johnson, E.W., Li, B., Thacker, P.A. & Han, N.K. (2013). Effect of Stachyose on Performance, Diarrhea Incidence and Intestinal Bacteria In Weaning Pigs. *Journal of Archives Animal Nutrition*. 57(1):1-10.
- Luo, Y.W. & Xie, W.H. (2013). Effect of Different Processing Methods on Certain Antinutritional Factors and Protein Digestibility in Green and White Faba Bean (*Vicia faba* L.). *CyTA - Journal of Food*. 11(1): 43-49. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476337.2012.681705>.
- Maknun, L. (2015). Pengaruh Jenis Inokulum dan Waktu Inkubasi Terhadap Sifat Fisiko-Kimia Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.). [Skripsi]. Bogor (ID). Institut Pertanian Bogor.
- Maryam, S. (2016). Komponen Isoflavon Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L) Pada Berbagai Lama Fermentasi. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional MIPA 2016*, hal. 363-368. ISBN 978-602-6428-00-4. FMIPA Undiksha.
- Mohamed, R.K., Arab, E.A.A., Gibriel, A.Y., Rasmy, N.M.H. & Abu-Salem, F.M. (2011). Effect of Legume Processing Treatments Individually or in Combination on Their Phytic Acid Content. *African Journal of Food Science and Technology*. 2(2):36-46.
- Murata, K., Ikehata, H., & Miyamoto, T. (2006). Studies on the Nutritional Value of Tempeh. *Journal of Food Science*. 32(5):580-586. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1967.tb00837.x
- Nakajima, N., Nozaki, N., Ishihara, K., Ishikawa, A. & Tsuji, H. (2005). Analysis of Isoflavone Content in Tempeh, A Fermented Soybean, and Preparation of A New Isoflavone-Enrich Tempeh. *Journal Bioscience and Bioengineering*. 100 (6): 685-687. DOI: 10.1263/jbb.100.685.
- Nollet, L.M.L. (1996). *Handbook of Food Analysis, Amino Acid*. CRC Press.
- Qayyum, M.M.N., Butt, M.S. & Anjum, F.M. (2012). Composition analysis of some selected legumes for protein isolates recovery. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 22:1156-1162.
- Pangastuti, H.A., Affandi, D.R. & Ishartani, D. (2013). Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Tepung Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris* L) dengan Beberapa Perlakuan Pendahuluan. *Jurnal Teknosains Pangan* 2 (1): 20-29.
- Purwoko, T. (2004). Kandungan Isoflavon Aglikon Pada Tempe Hasil Fermentasi *Rhizopus microsporus var. oligosporus*: Pengaruh Perendaman. *Jurnal BioSmart* 6 (2): 85-87.
- Radiati, A. & Sumarto. (2016). Analisis Sifat Fisik, Sifat Organoleptik, dan Kandungan Gizi Pada Produk Tempe dari Kacang Non-Kedelai. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 5(1):16-22.
- Raharjo, S. (1996). Meta-Analysis of The Distribution of Daidzein, Genistein, Glycitein and Their Glucosidic Conjugates in Soy Foods. *Agritech*. 16(2): 25-32.

- DOI: <https://doi.org/10.22146/agritech.19306>.
- Ravindran, G. (1990). Study On The Flatus Potential of Distary Fiber From Some Legumes. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*. 18(2):127-132. DOI: 10.4038/jnsfsr.v18i2.8198.
- Retno, T., Widyastuti, S.K. & Suarsana, N. (2012). Pengaruh Pemberian Isoflavon Terhadap Peroksidasi Lipid Pada Hati Tikus Normal. *Jurnal Indonesia Medicus Veterinus*. 1(4): 483-491. DOI: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/imv/article/view/1968>.
- Saifatah, L. (2011). Analisis Oligosakarida pada Dua Puluh Produk Minuman Bubuk Komersial Berbasis Kedelai. [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Santoso, S.P. (2005). Teknologi Pengolahan Kedelai (Teori dan Praktek). Malang (ID): Universitas Widyagama Malang.
- Steinkraus, K.H. (1996) .*Handbook of Indigenous Fermented Food*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Sujatmiko, B. (2009). Degradasi Senyawa Tanin, Asam Fitat, Antitripsin dan Peningkatan Daya Cerna Protein Secara *in vitro* pada Sorgum Coklat (*Sorghum bicolor* L. Moench) dengan metode Fermentasi Ampok. [Tesis]. Malang (ID): Universitas Brawijaya.
- Supirman, S.S., Kartikaningsih, H. & Zaelani, K. (2013). Pengaruh perbedaan pH asam jeruk nipis (*Citrus auratifolia*) dengan pengeringan sinar matahari terhadap kualitas kimia teh alga coklat (*Sargassum fillipendula*). *Jurnal Mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan*. 1(1):46-52.
- Susi, S. (2012). Komposisi kimia dan asam amino pada tempe kacang nagara (*Vigna unguiculata ssp. Cylindrica*). *Agroscientiae*. 19(1):28-36.
- Tejasari. (2005). Nilai Gizi Pangan. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Triyono, A. (2010). Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam pada Proses Isolasi Protein Terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (*Phaseolus Radiatus* L.). Di dalam: *Prosiding Seminar Rekayasa dan Proses*; 2010 Agustus 4-5; Subang, Indonesia.
- Utari, D.M., Rimbawan, Riyadi, H., Muhilal & Purwantiyastuti. (2010). Pengaruh Pengolahan Kedelai Menjadi Tempe dan Pemasakan Tempe Terhadap Kadar Total Isoflavon. *Jurnal Penelitian Gizi dan Makanan*. 33(2):148-153.
- Wang, Q., Leqin, K., Dongmei, Y., Bili, B., Jianmei, J. & Tiejin, Y. (2007). Change in Oligosaccharides During Processing Of Soybean Sheet. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 16(1):89-94.
- Weijers, C.A.G.M., Franssen, M.R.C. & Visser, G.M. 2008. Glycosyltransferase catalyzed synthesis of bioactive oligosaccharides. *Biotechnology Advantages*. 26(5):436-452. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.05.001>.
- Windrati, S.W., Nafi, A. & Augustine, P.D. 2010. Sifat nutrisi protein rich flour (PRF) koro pedang (*Canavalia ensiformis* L.). *Jurnal Agroteknologi*. 4(1):18-26.