

ANALISIS KADAR FLAVONOID TOTAL TEMPE KEDELAI SECARA SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL

ANALYSIS OF TOTAL FLAVONOID CONTENT OF SOYBEAN TEMPE BY VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY

Crescentiana Emy Dhurhanian*, Emi Istantini

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

*Penulis Korespondensi, e-mail: dhurhanian@stikesnas.ac.id

ABSTRAK

Tempe adalah makanan tradisional hasil olahan fermentasi yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia, yang pada umumnya dibuat dari kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.). Indonesia merupakan negara produsen tempe terbesar di dunia dan menjadi pasar penjualan tempe terbesar di Asia. Tempe bermanfaat sebagai antioksidan, antibakteri, antikanker, antihemolitik, antialergi, antiinfeksi dan hepatoprotektor. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa tempe kedelai mengandung senyawa flavonoid. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kadar flavonoid total yang terkandung dalam tempe kedelai. Analisis kualitatif dilakukan menggunakan pereaksi NaOH, H₂SO₄, dan *Wilstater Cyanidin*. Analisis kuantitatif dilakukan secara spektrofotometri Visibel, dimana kuersetin digunakan sebagai standar pembandingan. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum 439,5 nm dengan *operating time* 30 menit. Hasil penelitian diperoleh kadar flavonoid total sebesar 183,48 ± 3,91 mgQE/100 g tempe kedelai dan 4,07 ± 0,09 mgQE/100 g biji kedelai dengan *Relative Standard Deviation* 2,13% - 2,21%.

Kata kunci: flavonoid total, tempe kedelai, spektrofotometri visibel

ABSTRACT

Tempe is a widely consumed Indonesian traditional fermented food, which is principally made with soybeans (Glycine max (L.) Merr.). Indonesia was the biggest producer of tempe in the world and it became the biggest market of tempe in Asia. Tempe used as antioxxidant, antibacterial, anticancer, antihemolytic, antiallergy, antiinfection and hepatoprotector. Based on previous research, stating that soybean tempe contain compound of flavonoid. This research was conducted to know the determination of total flavonoid levels of soybean tempe. Quantitative analysis was done by using NaOH reagents, H₂SO₄, and Wilstater Cyanidin. Quantitative analysis was done by Visible spectrophotometry, where quercetin is used as a reference standard. Measurements were performed at maximum wavelength of 439.5 nm with an operating time of 30 minute. The results showed that total flavonoid levels were 183.48 ± 3.91 mgQE/100g soybean tempe and 4.07 ± 0.09 mgQE/ 100 g soybean seeds with Relative Standard Deviation 2.13% - 2.21%.

Keywords: total flavonoid, soybean tempe, visible spectrophotometry

PENDAHULUAN

Tempe merupakan makanan tradisional Indonesia khas Jawa yang berwarna putih, berbentuk padat dan kompak, serta berbau khas. Kata tempe digunakan untuk menyebut tempe berbahan kedelai (*Glycine max* (L.) Merr.) yang difermentasi dengan jamur (kapang) *Rhizopus* sp. Tempe kedelai populer sejak 1875, bahkan dimuat dalam manuskrip Serat Centhini (Widowati, 2016). Hingga sekarang tempe kedelai masih sangat digemari masyarakat. Cara pembuatannya yang mudah dan sederhana, mendukung ketersediaannya yang melimpah dan harganya yang murah. Berbagai bentuk olahan makanan berbahan dasar tempe kedelai telah banyak dikembangkan sehingga semakin meningkatkan minat konsumsi tempe kedelai yang telah merambah hingga kawasan Asia dengan rata-rata konsumsi mencapai 12,5 Kg tiap orang/tahun (USSEC, 2010).

Tingginya minat konsumsi masyarakat sangat didukung oleh nilai gizi tempe kedelai yang paling baik dibanding dengan tempe koro benguk, tempe lamtoro, dan tempe gembus (Widowati, 2016). Berbagai kemanfaatan tempe kedelai dari segi gizi maupun khasiat medis mampu mengubah tempe kedelai yang semula dianggap sebagai pangan inferior kini justru semakin digemari berbagai kalangan masyarakat. Kandungan protein, lemak, dan karbohidrat tempe kedelai tidak jauh berbeda dengan kedelai, namun enzim-enzim pencernaan yang dihasilkan jamur (kapang) tempe membuat protein, lemak dan karbohidrat pada tempe menjadi lebih mudah dicerna. Jamur (kapang) tempe juga mampu memproduksi antibiotika yang dapat menghambat infeksi amuba (Astawan, 2004).

Khasiat medis yang diketahui pada perkembangan selanjutnya yaitu kemampuan ekstrak tempe kedelai dalam mencegah kerusakan hati tikus putih dengan dosis efektif 0,54 mL (Pestalozi, 2014). Kerusakan hati dapat terjadi akibat paparan radikal bebas, dan tempe kedelai diketahui mengandung senyawa antioksidan yang dapat menangkal radikal bebas, diantaranya yaitu isoflavon, superoksida dismutase, dan tokoferol (Widoyo et al., 2015). Pada uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2 difenil 1 picril hidrazil), kedelai diketahui memiliki aktivitas antioksidan sebesar 67,45%, sedangkan tempe kedelai memiliki aktivitas antioksidan sebesar 81,43% yang dibandingkan terhadap a-karoten 43,25%, vitamin C 75,62%, dan a-tokoferol 76,41% (Sulistiani et al., 2014).

Aktivitas antioksidan tempe kedelai yang lebih besar dibanding kedelai diduga karena peningkatan kadar flavonoid total setelah kedelai diolah menjadi tempe.

Berbagai jenis kacang telah diteliti oleh (Arinanti, 2018) mengenai potensi senyawa antioksidan. Flavonoid merupakan salah satu sumber antioksidan alami. Pada penelitian tersebut pengukuran kandungan flavonoid total dilakukan dengan pereaksi aluminium klorida dan diketahui bahwa kedelai memiliki kadar flavonoid total sebesar 4,62 mgQE/100g. Namun analisis kadar flavonoid total tempe kedelai belum pernah dilakukan, sehingga penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis kadar flavonoid total pada tempe kedelai. Proses fermentasi kedelai selama 22 jam menjadi tempe telah diteliti mampu meningkatkan kandungan isoflavon aglikon hingga 6,5 kali (Widoyo et al., 2015). Oleh karena itu, pada penelitian ini juga dilakukan analisis kadar flavonoid total pada biji kedelai sebagai pembanding.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu UV mini-1280 serial number A12065402452 CD*), sepasang kuvet *Hellma Analytics* type No 100.600 *QG light path lotum*, neraca analitik (*Ohaus PA214, capacity 210 g, readability 0,1 mg, repeatability 0,1 mg*), *rotary evaporator* (*IKA RV 10 basic*) selain itu digunakan alat-alat gelas penunjang yang digunakan dalam analisis spektrofotometri UV-Vis.

Bahan yang digunakan adalah biji kedelai lokal, inokulum tempe *Rhizopus* sp. (Raprima, PT. Aneka Fermentasi Indonesia), etanol *p.a.* (*Merck*), NaOH (*Merck*), H₂SO₄ pekat (*Merck*), HCl pekat (*Merck*), serbuk Mg (*Merck*), Kalium Asetat 1M (*Merck*), *aquadest* (*Brataco*), AlCl₃ (*Merck*), *kuersetin p.a* (*Sigma Aldrich*).

Jalannya Penelitian

Pembuatan Tempe Kedelai

Biji kedelai sebanyak 500 g dicuci bersih kemudian direbus selama 30 menit menggunakan air 1,5 Liter. Biji kedelai yang telah direbus kemudian direndam selama 24 jam. Setelah perendaman biji kedelai dikupas kulitnya dan dicuci bersih. Biji kedelai

tersebut direbus kembali selama 20 menit lalu ditiriskan dan didinginkan pada suhu kamar. Setelah dingin kemudian dicampur dengan inokulum tempe *Rhizopus* sp. sebanyak 1 g. Selanjutnya dibungkus dengan daun jati menjadi 20 bungkus yang diikat berpasangan, dan difermentasi selama 42 jam pada suhu kamar hingga terbentuk tempe.

Pembuatan Ekstrak Kental Tempe Kedelai

Tempe kedelai dihaluskan menggunakan blender, kemudian sebanyak 200 gram diekstraksi dengan 200 mL etanol 80% selama 24 jam disertai pengadukan. Ekstrak disaring dan residu diekstraksi kembali dengan cara yang sama. Proses ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam. Seluruh filtrat dijadikan satu lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C selama 30 menit kemudian penguapan dilanjutkan menggunakan waterbath pada suhu 40°C selama 2 hari sampai menjadi ekstrak kental. Proses ekstraksi dengan cara yang sama juga dilakukan terhadap biji kedelai yang telah dihaluskan hingga berukuran 50 *mesh*.

Analisis Kualitatif

- 1) Uji warna dengan NaOH 10%. Ekstrak kental dilarutkan menggunakan 1 mL etanol di dalam tabung reaksi lalu diberi 1 mL larutan NaOH 10%. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi kuning sampai kuning kecoklatan (Kusnadi and Devi, 2017).
- 2) Uji *Wilstater Cyanidin*. Ekstrak kental dilarutkan menggunakan beberapa tetes etanol di dalam tabung reaksi lalu diberi serbuk Mg dan 2-4 tetes HCl pekat. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah hingga merah lembayung (Rahayu et al., 2015).
- 3) Uji warna dengan H₂SO₄ (pekat). Ekstrak kental dilarutkan menggunakan beberapa tetes etanol di dalam tabung reaksi lalu diberi 4 tetes larutan H₂SO₄ pekat. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah bata sampai coklat kehitaman (Kusnadi and Devi, 2017).

Pada seluruh uji kualitatif digunakan pembanding larutan kontrol positif berisi baku kuersetin yang direaksikan dengan cara yang sama dan larutan kontrol negatif berisi pereaksi saja.

Analisis Kuantitatif

1) Pembuatan larutan baku 10 ppm

Larutan baku kuersetin 1000 ppm dipipet 0,1 mL dan ditambah 3 mL etanol *p.a.*; 0,2 mL aluminium klorida 10%; 0,2 mL kalium asetat 1 M, kemudian diencerkan dengan *aquadest* hingga 10,0 mL.

2) Pembuatan larutan blangko

Larutan blangko dibuat dengan memipet 3 mL etanol *p.a.*; 0,2 mL aluminium klorida 10%; 0,2 mL kalium asetat 1 M, kemudian diencerkan dengan *aquadest* hingga 10,0 mL.

3) Pengukuran *operating time*

Absorbansi larutan baku 10 ppm diukur pada panjang gelombang 444,45 nm dengan interval waktu tiap 1 menit hingga didapat data absorbansi yang stabil.

4) Pengukuran panjang gelombang maksimum

Absorbansi larutan baku 10 ppm diukur saat menit ke-30 di daerah panjang gelombang 400-500 nm.

5) Pembuatan kurva baku

Larutan baku dengan konsentrasi 6 – 14 ppm dibuat dari sejumlah larutan baku 1000 ppm yang ditambah dengan 3 mL etanol *p.a.*; 0,2 mL larutan aluminium klorida 10%; dan 0,2 mL larutan kalium asetat 1 M kemudian diencerkan dengan *aquadest* dalam labu ukur 10,0 mL hingga tanda batas. Setelah didiamkan 30 menit, absorbansi masing-masing larutan diukur pada panjang gelombang 439,5 nm.

6) Penetapan kadar flavonoid total

Ekstrak kental tempe kedelai 10,0 mg dilarutkan dengan etanol *p.a.* hingga 10,0 mL. Larutan tersebut dipipet 4,0 mL lalu ditambah dengan 3 mL etanol *p.a.*; 0,2 mL larutan aluminium klorida 10%; 0,2 mL larutan kalium asetat 1 M dan diencerkan dengan *aquadest* dalam labu ukur 10,0 mL hingga tanda batas. Setelah didiamkan 30 menit, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 439,5 nm.

Analisis Data

Kadar flavonoid total dihitung menggunakan persamaan regresi linier berdasarkan kurva baku dari hasil pembacaan alat spektrofotometer UV-Vis. Rata-rata dari 3 kali pengukuran dinyatakan sebagai hasil. Kadar flavonoid total dinyatakan dengan kesetaraan larutan baku pembanding kuersetin, sehingga dinyatakan dengan satuan mgQE/100g sampel. Persamaan regresi linier dinyatakan dengan persamaan 1.

$$Y = bX + a \dots \dots \dots (1)$$

Keterangan:

Y = absorbansi

X = konsentrasi

B = *slope*

a = intersep

Ketelitian metode analisis penetapan kadar flavonoid total pada tempe kedelai dinyatakan dengan presisi yang dihitung menggunakan *Relative Standard Deviation* (RSD) seperti persamaan 2.

$$RSD = \frac{\text{Standar deviasi}}{\text{Rata-rata}} \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

Presisi yang diperbolehkan merupakan fungsi dari level analit dalam sampel yang dianalisis. Menurut *Association of Official Agricultural Chemists* (AOAC), pada kadar analit kurang dari 1%, nilai RSD yang diperbolehkan hingga 2,7 % (Rochman, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Tempe Kedelai

Proses pembuatan tempe kedelai pada prinsipnya melalui tahapan perebusan, perendaman, penghilangan kulit ari, penirisan, peragian, pembungkusan, dan fermentasi (Widowati, 2016). Tahapan-tahapan tersebut harus dilakukan untuk menciptakan kondisi optimal bagi pertumbuhan jamur (kapang) tempe agar proses fermentasi berjalan dengan

baik. Dengan demikian proses fermentasi tidak dapat langsung dilakukan terhadap kedelai mentah (Mada, 2018).

Tahap pertama dalam pembuatan tempe adalah perebusan kedelai yang bertujuan sebagai proses hidrasi, yaitu penyerapan air sebanyak mungkin ke dalam kedelai sehingga menjadi lunak. Aktivitas enzim *protease* dari jamur *Rhizopus* sp. akan lebih optimal jika kedelai dalam kondisi lunak (Sulistiyowati et al., 2004). Apabila kedelai tidak direbus (mentah) maka tidak akan menghasilkan tempe. Pada tahap perendaman bertujuan agar bakteri asam laktat dapat tumbuh secara alami sehingga diperoleh kondisi asam yang sesuai dengan kondisi pertumbuhan jamur (kapang) tempe (Mada, 2018). Setelah perendaman ukuran kedelai akan membesar hingga 2 kalinya. Setelah kedelai menjadi besar dan lunak maka akan mudah dikupas kulitnya. Apabila kulit kedelai tidak dikupas, maka tempe yang dihasilkan mutunya kurang bagus karena kulit kedelai sulit ditembus miselia jamur (kapang), sehingga menghalangi penetrasinya ke dalam kedelai. Dengan demikian kulit kedelai harus dikupas terlebih dahulu sebelum proses peragian untuk memudahkan miselia jamur (kapang) sebagai agen fermentasi tempe agar dapat menembus ke dalam kedelai (Sulistiyowati et al., 2004; Mada, 2018). Bakteri kontaminan perlu dihilangkan agar tidak mengganggu proses fermentasi dengan cara perebusan kembali kedelai sebelum tahap peragian. Agar tidak memicu tumbuhnya bakteri kontaminan yang dapat menghambat pertumbuhan jamur (kapang) tempe maka setelah perebusan kedelai harus ditiriskan hingga bagian luarnya kering. Agar sesuai dengan kondisi optimum untuk pertumbuhan jamur (kapang) tempe, maka kedelai yang masih panas didinginkan terlebih dahulu pada suhu kamar (Sulistiyowati et al., 2004). Proses peragian pada penelitian ini dilakukan setelah kedelai sudah dingin sesuai suhu kamar kira-kira 30 °C.

Peragian kedelai dilakukan untuk menumbuhkan jamur (kapang) *Rhizopus* sp. yang ditandai dengan adanya miselia yang menutupi permukaan kedelai pada proses fermentasi. Setelah dilakukan peragian, kedelai kemudian dibungkus menggunakan daun jati seperti disajikan pada gambar 1, agar memungkinkan udara untuk masuk ke dalam daun sehingga jamur dapat tumbuh dengan baik karena jamur tempe membutuhkan oksigen untuk tumbuh (Mada, 2018). Teknik pengemasan tempe menggunakan daun

bersifat lebih kedap cahaya daripada pembungkus plastik, sehingga sesuai dengan persyaratan ruang fermentasi. Selain itu udara dapat bersirkulasi dengan baik melalui celah-celah pembungkus daun dan kelembaban lebih terjaga pada pembungkus daun. Dengan demikian pembungkus daun memenuhi persyaratan faktor utama yang menentukan bahwa pembungkus tempe mampu menghasilkan tempe yang baik, yaitu aerasi yang merata secara terus-menerus sekaligus menjaga kelembaban tetap tinggi tanpa menimbulkan pengembunan. Selain itu, tempe yang dibungkus daun memiliki aroma khas karena daun mengandung polifenol (Sayuti, 2015).

Proses fermentasi selama 42 jam pada suhu kamar mampu menghasilkan tempe yang berwarna putih, memiliki bau khas tempe, rasa enak, tekstur padat dan kompak, seperti disajikan pada gambar 1. Tumbuhnya miselia jamur yang menghubungkan antar kedelai dan menutupi permukaan kedelai secara merata membuat tempe berwarna putih dan bertekstur padat kompak. Berbagai enzim yang dihasilkan oleh jamur (kapang) tempe pada proses fermentasi kedelai mampu mengubah senyawa organik kompleks menjadi lebih sederhana sehingga lebih mudah diabsorpsi pada proses pencernaan. Salah satu enzim yang dihasilkan yaitu *α-glukosidase* yang mampu mengubah glukosida menjadi aglikon sehingga mampu meningkatkan kandungan isoflavon (Utari et al., 2010).



Gambar 1. Tempe kedelai setelah proses fermentasi 42 jam pada suhu kamar (dokumen pribadi)

Pembuatan Ekstrak Kental Tempe Kedelai

Metode ekstraksi dingin, yaitu maserasi, dipilih karena merupakan cara penyarian yang sederhana dan tidak menggunakan pemanasan yang dapat merusak senyawa flavonoid. Prinsip dari metode maserasi adalah penarikan senyawa yang memiliki tingkat kepolaran yang relatif sama dengan tingkat kepolaran pelarut yang digunakan sebagai

cairan penyari. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi masuk ke dalam rongga sel untuk menarik senyawa yang terkandung di dalamnya dengan terlebih dahulu menembus dinding sel. Dalam hal ini senyawa flavonoid akan ditarik dan larut dalam etanol. Dengan adanya perbedaan konsentrasi antara zat yang terdapat di dalam sel dan di luar sel, maka larutan zat akan terdesak keluar. Hal ini akan terjadi terus-menerus hingga larutan menjadi jenuh. Oleh karena itu proses maserasi dilakukan secara berulang yang disertai dengan pengadukan (Restiana, 2018). Masing-masing sampel dilakukan remaserasi sebanyak 3x24 jam agar kemampuan pelarut dalam menarik senyawa lebih maksimal sehingga senyawa yang tersari oleh pelarut lebih banyak.

Berdasarkan hasil organoleptis diperoleh maserat berwarna coklat dan berbau khas. Pelarut dihilangkan dari maserat melalui proses pemekatan dengan *rotary evaporator* yang berfungsi untuk menguapkan pelarut dengan menggunakan pemanasan pada suhu terkontrol, yaitu 40°C untuk mencegah rusaknya senyawa flavonoid yang tidak tahan panas (Rahayu et al., 2015). Penguapan dilanjutkan di atas *waterbath* untuk menghilangkan sisa etanol hingga terbentuk ekstrak kental berwarna coklat kehitaman berbau khas dengan hasil rendemen disajikan pada Tabel I.







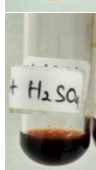


Tabel I. Rendemen ekstrak kental tempe kedelai

Replikasi	Berat sampel (gram)	Berat ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1	200,0063	17,7555	8,8774
2	200,0069	17,6601	8,8297
3	200,0060	17,3003	8,6498

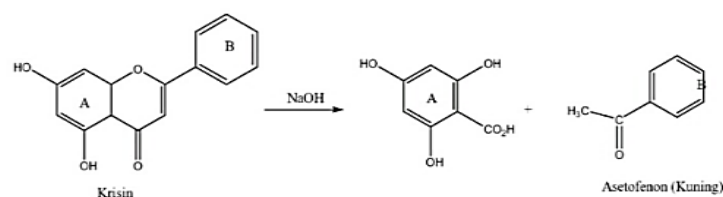
Analisis Kualitatif

Tujuan dilakukan analisis kualitatif yaitu untuk mengetahui keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak tempe yang telah dibuat dengan hasil dipaparkan pada Tabel II. Seluruh uji juga dilakukan terhadap kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding. Seluruh hasil uji kualitatif memberikan perubahan warna yang relatif sama dengan kontrol positif. Dengan demikian ekstrak tempe kedelai dinyatakan positif mengandung flavonoid.

Tabel II. Hasil analisis kualitatif ekstrak kental tempe kedelai

Jenis Uji	Hasil Uji Sampel	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Kesimpulan
Uji warna dengan NaOH 10%				Positif flavonoid
Uji Wilstater Cyanidin				Positif flavonoid
Uji warna dengan H ₂ SO ₄ pekat				Positif flavonoid

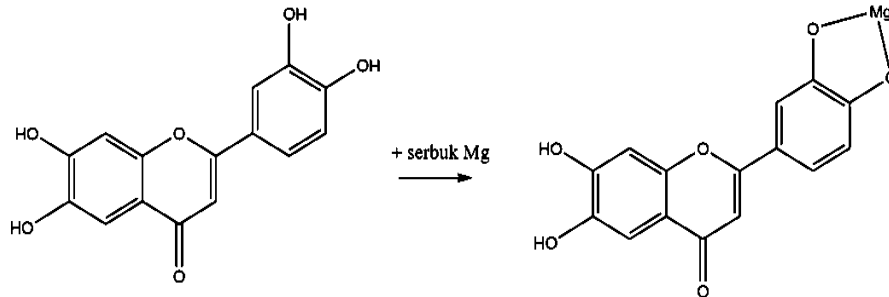
Analisis kualitatif yang pertama dilakukan menggunakan uji warna dengan pereaksi NaOH 10% yang akan menimbulkan warna kuning apabila mengandung senyawa flavonoid (Kusnadi and Devi, 2017). Hasil reaksi menunjukkan bahwa ekstrak etanol tempe kedelai positif mengandung flavonoid yang ditandai perubahan warna menjadi kuning setelah ditetesi NaOH 10%. Hal tersebut akibat dari pemutusan ikatan pada struktur isoprene senyawa kristin, yang merupakan turunan dari senyawa flavon, menjadi asetofenon, dengan reaksi ditunjukkan pada gambar 2 (Kusnadi and Devi, 2017).



Gambar 2. Reaksi senyawa kristin turunan senyawa flavon dengan NaOH (Kusnadi and Devi, 2017)

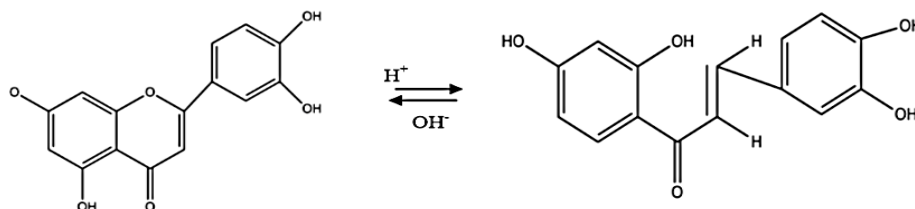
Analisis kualitatif yang kedua yaitu uji *Wilstater Cyanidin* dengan menambahkan serbuk logam Mg dengan HCl pekat. Munculnya warna kuning, jingga hingga merah menandakan bahwa hasil positif (Rahayu et al., 2015). Hidrolisis O-glikosil pada flavonoid menjadi aglikonnya terjadi setelah ditambah HCl pekat, yang kemudian terjadi reduksi oleh Mg dan HCl pekat sehingga dihasilkan warna merah, kuning atau jingga

(Latifah, 2015) dengan reaksi seperti pada gambar 3. Keberadaan flavonon dan flavanol ditunjukkan dengan warna merah hingga merah lembayung.



Gambar 3. Reaksi flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Latifah, 2015)

Analisis kualitatif yang ketiga dilakukan dengan penambahan larutan H_2SO_4 pekat. Pada analisis kualitatif melalui reaksi warna dengan H_2SO_4 pekat terhadap ekstrak kental tempe diperoleh perubahan warna coklat pekat menjadi merah tua. Perubahan tersebut menunjukkan bahwa sampel tempe kedelai positif mengandung senyawa flavonoid karena telah terjadi pembentukan senyawa kompleks menurut reaksi pada gambar 4 (Kusnadi and Devi, 2017).



Gambar 4. Reaksi flavonoid dengan H_2SO_4 pekat (Kusnadi and Devi, 2017)

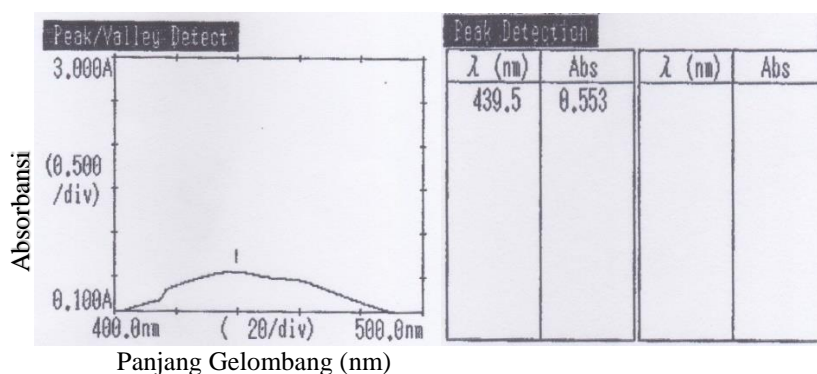
Analisis Kuantitatif

Spektrofotometri visibel digunakan untuk analisis senyawa dalam bentuk larutan berwarna ataupun senyawa dalam bentuk larutan yang dapat direaksikan hingga berwarna. Penetapan kadar flavonoid total tempe kedelai pada penelitian ini didasarkan pada pembentukan larutan berwarna dengan penambahan reagen spesifik yang hanya bereaksi dengan flavonoid. Dengan demikian metode analisis yang digunakan dapat bersifat selektif terhadap flavonoid. Kuersetin digunakan sebagai zat baku karena

merupakan senyawa flavonoid dari golongan flavonol yang paling banyak ditemukan pada produk pangan (Arinanti, 2018).

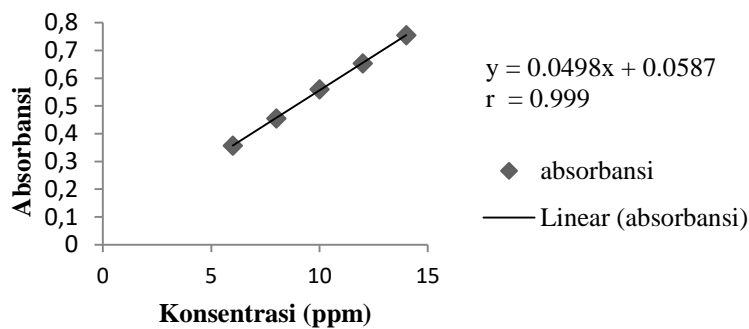
Operating time perlu diukur pada awal proses analisis agar dapat diketahui waktu yang dibutuhkan kuersetin untuk bereaksi sempurna dengan aluminium klorida hingga terbentuk senyawa kompleks yang stabil. Hasil menunjukkan bahwa senyawa kompleks stabil pada menit ke-27 sampai menit ke-35 terhitung setelah penambahan larutan aluminium klorida dengan melihat absorbansinya yang tetap sebesar 0,545. Pengukuran absorbansi pada langkah selanjutnya digunakan *operating time* pada menit ke-30. Hal ini sesuai dengan *operating time* yang digunakan oleh (Fawwaz et al., 2017) pada penetapan kadar flavonoid total dalam kedelai hitam.

Absorbansi maksimum senyawa dicapai pada panjang gelombang maksimum. Pengukuran absorbansi memiliki kepekaan yang tinggi pada panjang gelombang maksimum, sehingga pada perubahan kadar yang kecil akan menghasilkan suatu perubahan respon besar. Selain itu, memiliki daya serap yang relatif konstan sehingga diperoleh persamaan regresi yang linier. Pada penelitian (Fawwaz et al., 2017) panjang gelombang maksimum kuersetin yang telah direaksikan dengan aluminium klorida 10% dan kalium asetat 1 M tercapai pada 444,45 nm. Pada penelitian ini dihasilkan panjang gelombang maksimum yaitu 439,5 nm dengan bentuk spektrum yang dapat dilihat pada gambar 5, sehingga pengukuran absorbansi pada penentuan kurva baku dan penetapan kadar dilakukan pada panjang gelombang 439,5 nm.



Gambar 5. Spektrum absorbansi hasil reaksi kuersetin dengan aluminium klorida

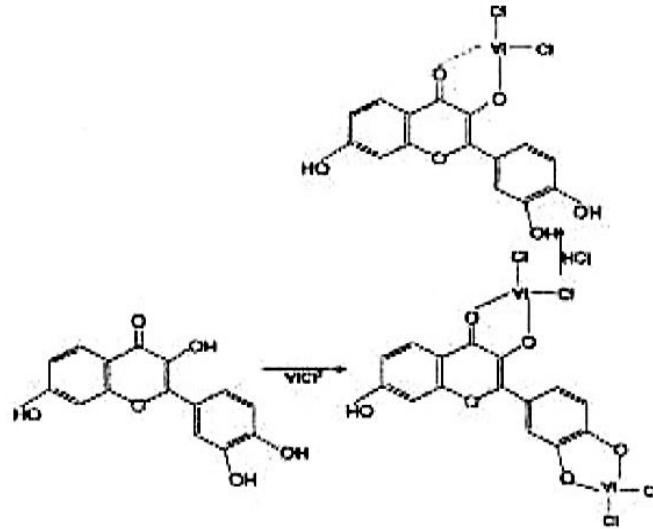
Penentuan kurva baku dilakukan untuk memperoleh persamaan regresi linier. Kurva baku merupakan hubungan antara konsentrasi dengan absorbansi dari konsentrasi larutan baku pada rentang 6 – 14 ppm. Hasil penentuan kurva baku dipaparkan pada gambar 6, yang bermakna semakin tinggi konsentrasi maka absorbansinya juga semakin besar. Pada kurva baku diperoleh persamaan garis, yaitu $Y = 0,0498x + 0,0587$ dengan nilai $r = 0,999$. Dengan demikian koefisien korelasi (r) yang diperoleh telah memenuhi kriteria keberterimaan linieritas pada suatu pengujian yaitu $r \geq 0,999$ (Rochman, 2016). Nilai r dapat mempunyai nilai antara $-1 \leq r \leq 1$. Adanya korelasi negatif ditunjukkan dengan nilai r yang negatif, dan adanya korelasi positif ditunjukkan dengan nilai r yang positif, sedangkan nilai $r = 0$ menyatakan tidak ada korelasi sama sekali antara x dan y (Rianto, 2014). Dengan demikian, nilai r pada kurva baku yang diperoleh menunjukkan adanya korelasi positif linier antara konsentrasi dan absorbansi.



Gambar 6. Grafik hubungan antara konsentrasi dan absorbansi hasil reaksi kuersetin dan aluminium klorida

Terbentuknya warna kuning yang lebih intensif pada larutan uji mengakibatkan pergeseran panjang gelombang pengukuran ke arah sinar tampak, sebagai bukti telah terbentuk senyawa kompleks sebagai hasil reaksi antara flavonoid dan pereaksi aluminium klorida. Senyawa flavonoid dalam larutan uji bereaksi dengan aluminium klorida dan membentuk kompleks warna kuning. Berdasarkan gambar 7 gugus keto pada C4 dan gugus hidroksil pada C3 atau C5 dari flavon atau flavonol bereaksi dengan aluminium klorida untuk membentuk kompleks asam dengan gugus ortohidroksil

senyawa flavonoid (Ni'mah, 2020). Penambahan kalium asetat berfungsi untuk menstabilkan senyawa kompleks yang terbentuk (Fawwaz et al., 2017).



Gambar 7. Reaksi antara $AlCl_3$ dengan flavonoid (Mulyani and Laksana, 2011)

Pada proses fermentasi kedelai, enzim α -glukosidase mampu mengubah glukosida menjadi aglikon sehingga mampu meningkatkan kandungan isoflavon (Sulistiani et al., 2014). Sebagaimana disajikan pada Tabel III, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar flavonoid total pada tempe berbahan dasar biji kedelai sebesar $183,48 \pm 3,91$ mgQE/100 g tempe, sedangkan kadar flavonoid total pada biji kedelai sebesar $4,07 \pm 0,09$ mgQE/100 g biji kedelai. Proses fermentasi pembuatan tempe kedelai pada penelitian ini dilakukan selama 42 jam sehingga dihasilkan kadar flavonoid total tempe kedelai mencapai 45 kali lebih besar dibanding biji kedelai. Nilai RSD yang diperoleh pada rentang 2,13% - 2,21% masih memenuhi nilai RSD yang diperbolehkan pada analit dengan kadar kurang dari 1%, yaitu 2,7% (Rochman, 2016).

Tabel III. Hasil penetapan kadar flavonoid total tempe dan biji kedelai

Replikasi	Pengulangan	Kadar Flavonoid (mgQE/ 100 g)	
		Tempe Kedelai	Biji Kedelai
1	1	183,30	3,97
	2	184,19	4,09
	3	185,09	4,13
2	1	186,75	3,95
	2	187,19	3,98
	3	188,52	4,05
3	1	178,60	4,13
	2	177,73	4,17
	3	179,91	4,19
Rata-rata		183,48	4,07
SD		3,91	0,09
RSD (%)		2,13	2,21

KESIMPULAN

Tempe kedelai memiliki kadar flavonoid total sebesar $183,48 \pm 3,91$ mgQE/100 g dengan *Relative Standard Deviation* sebesar 2,13%, sedangkan biji kedelai memiliki kadar flavonoid total sebesar $4,07 \pm 0,09$ mgQE/100 g dengan *Relative Standard Deviation* sebesar 2,21%.

DAFTAR PUSTAKA

- Arinanti, M. (2018). Potensi senyawa antioksidan alami pada berbagai jenis kacang. *Ilmu Gizi Indonesia*, 1(2), 134–143.
- Astawan, M. (2004). *Potensi tempe Ditinjau dari Segi Gizi dan Medis, dalam: Astawan, M., (Ed) tetap sehat dengan produk makanan olahan*. Tiga Serangkai, Solo.
- Fawwaz, M., Muliadi, D. S., & Muflihunna, A. (2017). Kedelai hitam (*Glicine soja*) terhidrolisis sebagai sumber flavonoid total. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 4(1), 194–198.
- Kusnadi, K., & Devi, E. T. (2017). Isolasi dan identifikasi senyawa flavanoid pada ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L) dengan metode refluks. *Pancasakti Science*

Education Journal, 2(1), 56–67.

Latifah, L. (2015)., *Identifikasi golongan senyawa flavonoid dan uji aktivitas antioksidan pada ekstrak rimpang kencur (Kaempfeira galanga l) dengan metode dpph (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Mada, K. pengetahuan dan informasi F. T. P. U. G. (2018). *Peran fermentasi pada tempe*. <https://kanalpengetahuan.tp.ugm.ac.id/menara-ilmu/2018/1321-peran-fermentasi-pada-tempe.htm>

Ni'mah, Y. M. (2020). *Penentuan kadar senyawa flavonoid ekstrak kombinasi buah anggur, tin, delima, dan zaitun menggunakan analisis spektrofotometri UV-Vis*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Pestalozi, G. (2014). The effect of tempe extraxt on damage liver cells in white rat with paracetamol-induce. *Medula*, 2(4), 33–38.

Rahayu, S., Kurniasih, N., & Amalia, V. (2015). Ekstraksi dan identifikasi senyawa flavonoid dari limbah kulit bawang merah sebagai antioksidan alami. *Al-Kimiya*, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.15575/ak.v2i1.345>

Restiana, F. R. (2018). *Pengaruh lama maserasi terhadap kadar genistein pada ekstraksi tempe*. Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.

Rianto. (2014). *Validasi dan verifikasi metode uji*. Deepublish: Yogyakarta, Indonesia.

Rochman, A. (2016). *Validasi dan penjaminan mutu metode analisis kimia*. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.

Sayuti, S. (2015). Pengaruh bahan kemasan dan lama inkubasi terhadap kualitas tempe

kacang gude sebagai sumber belajar IPA. *Bioedukasi Jurnal Pendidikan Biologi*, 6(2), 148–158.

Sulistiani, H. R., Handayani, S., & Pangastuti, A. (2014). Karakterisasi senyawa bioaktif isoflavon dan uji aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol tempe berbahan baku kedelai hitam (*Glycine soja*), koro hitam (*Lablab purpureus*), dan koro kratok (*Phaseolus lunatus*). *Biofarmasi, Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 12(2), 62–72.

Sulistiyowati, E., Arianingrum, R., & Salirawati, D. (2004). *Study pengaruh lama fermentasi tempe kedelai terhadap aktivitas tripsin*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

USSEC. (2010). *Tempe Project in Indonesia Creating Demand for High Quality U.S. Soybeans*. <https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Datasheet/6/47642dat.pdf>

Utari, D. M., Rimbawan, R., Riyadi, H., & Purwastyastuti, M. M. P. (2010). Pengaruh pengolahan kedelai menjadi tempe dan pemasakan tempe terhadap kadar isoflavon. *Penelitian Gizi Dan Makanan*, 33(2), 148–153.

Widowati, S. (2016). *Teknologi pengolahan kedelai*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian: Bogor, Indonesia.

Widoyo, S., Handajani, S., & Nandariyah. (2015). Pengaruh lama fermentasi terhadap kadar serat kasar dan aktivitas antioksidan tempe beberapa varietas kedelai. *Biofarmasi*, 13(2), 59–65.