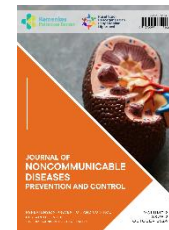




JOND PAC



Research Article

**PROTEIN CONTENT, TOTAL ISOFLAVONE, AND ANTIOXIDANT CAPACITY OF MODIFIED TEMPEH FLOUR BASED ON SOYBEAN GERMINATION TIME**

Firdaus Syafii<sup>1</sup> , Ahmad Yani<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Department of Nutrition, The Polytechnic of Health of Mamuju, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Chemistry, School of Mathematical and Physical Sciences, The University of Sheffield, Sheffield, United Kingdom

ARTICLE INFORMATION

Article history

Submitted: 18-10-2024

Revised: 26-03-2025

Accepted: 26-03-2025

Published: 28-03-2025

Keywords

Modified tempeh flour

Protein content

Total isoflavones

Antioxidant capacity

Diabetes mellitus type 2

ABSTRACT

Differences in soybean germination stages can affect the nutritional content in it, such as protein and isoflavones. These differences in content also affect the antioxidant activity in it. This study aimed to determine the effect of tempeh flour modification based on the soybeans germination time on their protein content, total isoflavones, and antioxidant capacity, and to determine the potential of modified tempeh flour as a better functional food ingredient for people with diabetes mellitus type 2 (DMT2). The research design used in this study was a completely randomized design (CRD) with treatments based on differences in the germination stages of tempeh soybeans before being used to make tempeh flour, namely P0 (0-hour soybean incubation), P1 (20-hour soybean incubation), P2 (30-hour soybean incubation), P3 (40-hour soybean incubation), and P4 (50-hour soybean incubation), with the parameters measured being protein content, total isoflavones, and antioxidant capacity. The resulting data were then tested using ANOVA at the 5% level and Duncan's test. The results showed that modification of tempeh flour based on the duration of soybean germination affected the increase in protein content, total isoflavones, and antioxidant capacity. Treatment P4 (tempeh with soybeans germination for 50 hours) showed the highest value, namely protein content of 55.12%, total isoflavones of 165.57 mg/100 g flour, and antioxidant capacity of 34.12 mg AEAC (ascorbic acid equivalent antioxidant capacity) per 100 g flour. Thus, modification of tempeh flour with P4 treatment has the potential as an ingredient for functional food products with richer nutrition, making it suitable for consumption by people with DMT2.

ABSTRAK

Perbedaan tahap perkecambahan kedelai dapat memengaruhi kandungan nutrisi di dalamnya, seperti protein dan isoflavan. Perbedaan kandungan ini turut memengaruhi aktivitas antioksidan di dalamnya. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui adanya pengaruh modifikasi tepung tempe berdasarkan lama perkecambahan terhadap kadar protein, total isoflavan, dan kapasitas antioksidannya, serta untuk mengetahui potensi tepung tempe termodifikasi sebagai bahan pangan fungsional yang lebih baik bagi penderita diabetes melitus tipe 2 (DMT2). Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan perlakuan berdasarkan perbedaan tahap germinasi kedelai tempe sebelum digunakan untuk pembuatan tepung tempe, yaitu P0 (inkubasi kedelai 0 jam), P1 (inkubasi kedelai 20 jam), P2 (inkubasi kedelai 30 jam), P3 (inkubasi kedelai 40 jam), dan P4 (inkubasi kedelai 50 jam); dengan parameter yang diukur yaitu kadar protein, total isoflavan, dan kapasitas antioksidan. Data yang dihasilkan selanjutnya diuji dengan ANOVA pada taraf 5% dan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa modifikasi tepung tempe berdasarkan lama waktu perkecambahan kedelai berpengaruh terhadap peningkatan kadar protein, total isoflavan, dan kapasitas antioksidan. Perlakuan P4 (menggunakan tempe dengan perkecambahan kedelai selama 50 jam) menunjukkan nilai tertinggi, yaitu kadar protein sebesar 55.12%, total isoflavan sebesar 165.57 mg/100 g tepung, dan kapasitas antioksidan sebesar 34.12 mg AEAC (*ascorbic acid equivalent antioxidant capacity*, atau kapasitas antioksidan setara asam askorbat) per 100 g tepung. Dengan demikian, modifikasi tepung tempe dengan perlakuan P4 berpotensi sebagai bahan dasar untuk produk olahan pangan fungsional dengan nutrisi yang lebih kaya, sehingga cocok dikonsumsi oleh penderita DMT2.

Kata Kunci

Tepung tempe termodifikasi

Kadar protein

Total isoflavan

Aktivitas antioksidan

Diabetes melitus tipe 2

This is an open access article under the [CC BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) license:



✉ Corresponding Author:

Firdaus Syafii

Department of Nutrition

The Polytechnic of Health of Mamuju

Email: [firdaussyafii@poltekkesmamuju.ac.id](mailto:firdaussyafii@poltekkesmamuju.ac.id)

Citation:

Syafii, F. & Yani, A. (2025). Protein Content, Total Isoflavone, and Antioxidant Capacity of Modified Tempeh Flour Based on Soybean Germination Time. *Journal of Noncommunicable Diseases Prevention and Control*. 2(2): 55-62.

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan kelompok penyakit gangguan metabolisme karbohidrat akibat pankreas bermasalah dalam memproduksi insulin sehingga glukosa kurang dimanfaatkan sebagai sumber energi. Akibatnya, jumlah glukosa di dalam plasma menjadi berlebih sehingga mengakibatkan hiperglikemia ([American Diabetes Association, 2024](#)). Salah satu penyebab rusaknya sel  $\beta$ -pankreas adalah akibat stres oksidatif yang dipicu oleh radikal bebas. Oleh karena itu, untuk mengendalikan kadar glukosa darah, stres oksidatif dalam sel  $\beta$ -pankreas ini harus dihambat dengan cara meningkatkan pertahanan antioksidan dalam tubuh ([Astawan et al., 2020](#)). Antioksidan merupakan senyawa yang secara aktif dapat mengikat radikal bebas dalam bentuk oksigen reaktif dan melindungi sel  $\beta$ -pankreas dari stres oksidatif ([Arabshomali et al., 2023](#)). Selain berperan dalam menangkal stres oksidatif, antioksidan juga memiliki kemampuan untuk menghambat penyerapan karbohidrat dengan cara menghambat aktivitas proses glukoneogenesis, aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase dan  $\alpha$ -amilase, dan dapat meningkatkan sensitivitas insulin dengan merangsang aktivitas insulin ([Scarpa et al., 2024](#)). Konsumsi pangan yang kaya antioksidan juga dapat mengurangi komplikasi akibat diabetes. Studi epidemiologi mengungkapkan adanya hubungan yang kuat antara asupan antioksidan dari makanan dan perlindungan terhadap diabetes ([Rajendiran et al., 2018](#)).

Salah satu olahan pangan yang kaya akan antioksidan yang berasal dari kacang-kacangan adalah tempe. Tempe memiliki kandungan senyawa bioaktif isoflavon yang bersifat sebagai antioksidan dan memiliki aktivitas antidiabetes dengan cara menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase ([Abdurasyid et al., 2023](#)). Efek antidiabetes isoflavon yang dihasilkan dari perlindungan sel  $\beta$ -pankreas telah dikonfirmasi pada beberapa model hewan diabetes. Isoflavon pada tempe umumnya berbentuk glikosida, asetilglukosida, dan malonilglukosida, dan terdiri atas disin, genistin, glisetin, asetildisin, asetilgenistin, asetilglisetin, malonildisin, malonilgenistin, dan malonilglisetin ([Kulprachakarn et al., 2021](#)). Senyawa ini dapat melindungi sel  $\beta$ -pankreas dan mempertahankan produksi insulin pada tikus dan mampu mengurangi hiperglikemia pada model obesitas yang diinduksi diet ([Kuryłowicz, 2021](#)). Kandungan protein pada tempe juga memiliki efek dalam menurunkan hiperglikemia dan secara signifikan dapat menurunkan kadar gula darah puasa pasien DM tipe 2 ([Yoshari et al., 2023](#)). Kandungan protein ini dapat meningkatkan HbA1c dan pada tes toleransi glukosa oral, menghasilkan glukosa darah puncak yang lebih rendah dan respons insulin yang lebih kuat ([Konya et al., 2019](#)). Penelitian Su et al. (2023) melaporkan bahwa mengonsumsi tempe dosis tinggi selama sebulan secara signifikan dapat mengurangi kadar glukosa serum dan berat badan tikus, dan konsumsi tempe secara terus menerus sebagai pengobatan dapat mengontrol kadar gula dan memperbaiki kerusakan sel akibat diabetes.

Modifikasi tempe melalui perkecambahan dapat meningkatkan kandungan gizi ([Astawan et al., 2016](#)) dan senyawa bioaktif ([Puteri et al., 2018](#)). Tempe yang dibuat dari kedelai yang melalui proses perkecambahan memiliki kandungan bioaktif isoflavon yang lebih tinggi dibandingkan tempe segar ([Puspitasari et al., 2020](#)). Penelitian Astawan et al. (2020) melaporkan bahwa tempe yang terbuat dari kedelai yang melalui proses perkecambahan memiliki kapasitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan yang tidak berkecambah. Selama proses perkecambahan, terjadi aktivasi enzim  $\beta$ -glukosidase sehingga kedelai yang diproses melalui perkecambahan dapat menjadi sumber  $\beta$ -glukosida endogen yang baik yang dapat meningkatkan kandungan isoflavon dan kapasitas antioksidan ([Yoshiara, Madeira, et al., 2018](#)). Proses perkecambahan kedelai juga dapat meningkatkan kadar protein. Berdasarkan penelitian Astawan et al. (2016), kadar protein tepung tempe meningkat setelah mengalami proses perkecambahan kedelai, yaitu dari 50,18% menjadi 53,37%. Peningkatan protein pada perkecambahan kacang kedelai disebabkan karena selama proses perkecambahan terjadi perubahan metabolisme yang berpotensi meningkatkan nilai gizi dan senyawa bioaktif di dalamnya, serta mengurangi senyawa antinutrisi (tripsin, lektin, fitat) dan senyawa yang tidak diinginkan lainnya seperti komponen pemicu perut kembung ([Silva et al., 2020](#)).

Peningkatan kandungan protein dan isoflavon pada proses pembuatan tempe kecamah kedelai dipengaruhi oleh waktu proses perkecambahan. Kandungan isoflavon meningkat selama 2 hari pertama perkecambahan, dan kandungan protein meningkat hingga 72 jam waktu perkecambahan ([Kadar et al., 2020](#)). Proses pembuatan tempe menjadi tepung juga dapat meningkatkan kualitas mutu karena dapat meningkatkan kandungan protein dan isoflavon. Selain itu, pembuatan tepung juga dapat memperpanjang umur simpan, memperluas dan meningkatkan pemanfaatan, serta dapat diaplikasikan secara luas sebagai bahan pangan dan meningkatkan nilai fungsional makanan. Pembuatan tepung tempe dengan proses perkecambahan pada penelitian ini diharapkan mampu meningkatkan sifat fungsional tempe yang dapat meningkatkan kadar protein, kandungan isoflavon dan kapasitas antioksidan secara signifikan sehingga dapat diaplikasikan sebagai bahan baku pangan untuk produk olahan bagi penderita DM2. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui

adanya pengaruh modifikasi tepung tempe berdasarkan lama perkecambahan sehingga didapatkan waktu germinasi optimum yang memberikan kadar protein, total isoflavon, dan kapasitas antioksidan tertinggi dari tepung tempe yang dihasilkan, serta untuk mengetahui potensi tepung tempe termodifikasi yang paling baik untuk dijadikan bahan pangan fungsional untuk olahan pangan bagi penderita DMT2.

## BAHAN DAN METODE

### Alat dan Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kedelai lokal yang diperoleh dari pasar sentral Mamuju, Sulawesi Barat. Bahan lain yang digunakan dalam proses pembuatan tepung tempe kecemah kedelai adalah air dan ragi tempe. Bahan yang digunakan untuk analisis meliputi air destilata, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, NaOH, HgO, DPPH, metanol, NaCl, asam askorbat, indikator fenolftalin, dan indikator methyl red-methylene blue (MR-MB). Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, baskom, wadah berlubang-lubang, saringan, kain lembab, plastik tempe, sendok, pisau, talenan, oven, gilingan tepung, ayakan, dan alat-alat lain yang digunakan untuk analisis kadar protein, total isoflavon, dan kapasitas antioksidan.

### Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan perlakuan berupa perbedaan lama waktu proses perkecambahan kedelai dalam pembuatan tempe. Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini yaitu P0 (tanpa perkecambahan), P1 (waktu perkecambahan 20 jam), P2 (waktu perkecambahan 30 jam), P3 (waktu perkecambahan 40 jam), dan P4 (waktu perkecambahan 50 jam). Selanjutnya, tempe dari masing-masing perlakuan dijadikan tepung, kemudian dilakukan analisis kadar protein, total isoflavon, dan kapasitas antioksidan yang diukur sebagai ekuivalen asam askorbat (AEAC). Data yang dihasilkan ditampilkan sebagai rerata  $\pm$  standar deviasi dan kemudian dianalisis menggunakan uji *analysis of varians* (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% menggunakan aplikasi SPSS untuk mengetahui adanya pengaruh dari perlakuan terhadap parameter yang diukur.

### Prosedur Penelitian

Penelitian ini terbagi menjadi beberapa tahap yang meliputi: perkecambahan kedelai, pembuatan tempe, pembuatan tepung tempe, dan analisis kimia (kadar protein, total isoflavon, dan kapasitas antioksidan).

#### *Pembuatan Kecambah Kedelai*

Proses perkecambahan kedelai dilakukan berdasarkan metode Astawan *et al.* (2016) dengan modifikasi. Kedelai lokal yang diperoleh dari pasar sentral Mamuju dilakukan penyortiran terlebih dahulu, lalu dicuci dan kemudian direndam dalam air hangat (suhu 50°C) selama 6 jam dan ditiriskan. Kedelai selanjutnya dimasukkan ke dalam baskom yang berlubang di bagian bawahnya dan disiram dengan air setiap 5 jam dalam kondisi gelap. Kedelai diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 jam, 30 jam, 40 jam, dan 50 jam. Kedelai yang diinkubasi pada berbagai lama waktu inkubasi menghasilkan kecambah kedelai.

#### *Pembuatan Tempe Nonkecemah dan Kecambah Kedelai*

Proses pembuatan tempe pada penelitian ini dilakukan berdasarkan metode Puspitasari *et al.*, (2020) yang dimodifikasi. Proses pembuatan tempe pada penelitian ini menggunakan kedelai nonkecemah dan kedelai kecemah (dengan 4 perlakuan berbeda berdasarkan perbedaan waktu perkecambahan). Kedelai nonkecemah sebelumnya direndam dahulu selama 4 jam, sedangkan kedelai yang berkecemah langsung direbus pada suhu 100°C selama 30 menit. Selanjutnya, kedelai ditiriskan, didinginkan, dan dikeringkan. Kedelai yang sudah kering selanjutnya diinokulasi dengan starter kultur tempe komersial dengan takaran 2 gram ragi/kg kedelai (0.2% b/b) dan dikemas ke dalam plastik berlubang dan diinkubasi selama 40 jam pada suhu 30°C.

#### *Pembuatan Tepung Tempe*

Metode pembuatan tepung tempe dilakukan berdasarkan metode Astawan *et al.* (2016) yang dimodifikasi. Tempe yang dibuat dari kecemah kedelai dan nonkecemah kedelai dipotong tipis-tipis dengan ketebalan sekitar 5 mm, diblansir uap selama 2 menit, dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu

60°C selama 8 jam. Tempe yang sudah kering selanjutnya digiling menggunakan blender sampai halus, dan tepung yang dihasilkan kemudian diayak menggunakan ayakan ukuran 60 *mesh*. Tepung tempe yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan selanjutnya digunakan untuk penentuan kadar protein, total isoflavon, dan kapasitas antioksidan.

#### *Analisis Kadar Protein*

Kandungan protein diukur menggunakan metode Kjeldahl ([\[AOAC\] Association of Official Analytical Chemist, 2012](#)). Dua gram sampel dimasukkan dan dipanaskan dalam labu Kjeldahl dengan cara dididihkan dengan 20 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan tablet Kjeldahl (katalis) sampai larutan menjadi jernih. Hasilnya disaring ke dalam labu volumetrik 250 ml dan larutan yang dibuat selanjutnya ditambahkan dengan air suling dan dihubungkan untuk distilasi. Amonia disuling uap dari larutan yang telah ditambahkan 50 ml larutan natrium hidoksida 45%. Sebanyak 150 ml hasil sulingan dikumpulkan dalam Erlenmeyer yang berisi 100 ml 0.1 N HCl dan indikator MR-MB. Amonia yang disuling dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan bereaksi dengan asam. Kelebihan asam dalam labu selanjutnya dilakukan titrasi balik terhadap NaOH 2.0 M dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning (titik akhir). Perlakuan dibuat juga pada reagen saja (blanko).

#### *Analisis Total Isoflavon*

Analisis kandungan isoflavon dilakukan dengan menggunakan metode Astawan *et al.* (2020). Sampel 2 gram tepung tempe yang dihilangkan lemaknya ditambahkan dengan 30 mL HCl 1.0 N dan asetonitril (perbandingan 1:4), diaduk selama 2 jam, kemudian disaring sampai diperoleh filtrat. Selanjutnya, supernatan diencerkan 10 kali menggunakan pelarut metanol dan amonium asetat 1 µM (perbandingan 3:2). Larutan standar yang digunakan yaitu *daidzein* dan *genistein*, karena 2 senyawa ini merupakan senyawa dominan yang umum ditemukan sebagai isoflavon dalam tempe ([Kuligowski et al., 2016](#)). Kedua deret larutan standar dan larutan sampel (0.5 hingga 50 µg/mL) disaring menggunakan *syringe* membran filter nilon 0.22 µm. Selanjutnya, sebanyak 20 µL larutan diinjeksi ke dalam instrumen HPLC (kromatografi cair kinerja tinggi) (Seri Agilent 1200, Agilent Technologies, AS). Analisis dilakukan dengan menggunakan kolom C-18 5 µm (15 cm x idik 4.6 mm) pada suhu kamar dengan laju aliran 0.5 mL/menit dan sistem pompa isokratik dengan detektor multipanjang gelombang (MW) pada panjang gelombang 265 nm. Total isoflavon kemudian dihitung.

#### *Uji Kapasitas Antioksidan*

Analisis kapasitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan uji penghambatan DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dengan menggunakan metode yang dijelaskan oleh Hung & Nhi (2012). Sebanyak 0.1 ml ekstrak tepung tempe dicampur dengan 3.9 ml larutan 0.075 mM DPPH (Sigma-Aldrich). Campuran dibiarkan pada suhu kamar dalam gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada 517 nm (A1). Larutan blanko tanpa penambahan sampel juga diukur untuk menentukan absorbansinya (A0). Asam askorbat (Sigma-Aldrich) digunakan sebagai standar dan kapasitas antioksidan dinyatakan sebagai AEAC (*ascorbic acid equivalent antioxidant capacity*) per 100 gram sampel.

#### *Analisis Data*

Tepung tempe kecambah kedelai yang dibuat berdasarkan perbedaan lama waktu perkecambahan dengan 5 perlakuan masing-masing dilakukan analisis. Parameter yang diuji untuk masing-masing perlakuan adalah kadar protein, total isoflavon, dan kapasitas antioksidan. Data yang dihasilkan ditampilkan sebagai rerata ± standar deviasi, kemudian dianalisis menggunakan uji *analysis of varians* (ANOVA) pada taraf signifikansi 5% menggunakan aplikasi SPSS untuk mengetahui adanya pengaruh faktor terhadap parameter yang diukur. Jika terdapat beda nyata, maka dilanjutkan dengan uji Duncan.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Hasil penelitian keseluruhan dapat dilihat pada **Tabel 1** berikut.

**Tabel 1** Kadar Protein, total Isoflavon dan kapasitas Antioksidan tepung tempe termodifikasi

| Perlakuan | Kadar protein (%)       | <i>Daidzein</i> (mg/100g) | <i>Genistein</i> (mg/100g) | Total isoflavon (mg/100g) | Kapasitas antioksidan (mg AEAC/100g) |
|-----------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| P0        | 42.58±1.12 <sup>a</sup> | 45.89±1.03 <sup>a</sup>   | 50.24±2.05 <sup>a</sup>    | 96.13±1.85 <sup>a</sup>   | 15.35±13.33 <sup>a</sup>             |
| P1        | 49.34±2.04 <sup>b</sup> | 57.57±1.26 <sup>b</sup>   | 67.17±1.67 <sup>b</sup>    | 124.74±1.43 <sup>b</sup>  | 20.56±15.18 <sup>b</sup>             |
| P2        | 50.06±1.04 <sup>b</sup> | 63.25±2.05 <sup>c</sup>   | 73.28±2.53 <sup>c</sup>    | 136.53±2.35 <sup>c</sup>  | 24.14±12.23 <sup>c</sup>             |
| P3        | 53.43±1.87 <sup>c</sup> | 70.89±1.41 <sup>d</sup>   | 85.19±1.19 <sup>d</sup>    | 156.08±1.29 <sup>d</sup>  | 29.76±11.25 <sup>d</sup>             |
| P4        | 55.12±1.05 <sup>c</sup> | 75.14±1.45 <sup>e</sup>   | 95.42±1.52 <sup>e</sup>    | 165.57±1.48 <sup>e</sup>  | 34.12±11.84 <sup>e</sup>             |

Keterangan: huruf kecil yang berbeda pada satu kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara perlakuan pada taraf signifikansi 5%.

### Kadar Protein Tepung Tempe Termodifikasi

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa proses perkecambahan kedelai memberikan nilai kadar protein yang berbeda. Perlakuan P3 dan P4 (inkubasi 40 dan 50 jam) memberikan kadar protein yang nyata lebih tinggi dari perlakuan P1 dan P2 (inkubasi 20 dan 30 jam) dan P0 (nonkecambah). Perlakuan P4 (inkubasi kedelai 50 jam) menghasilkan kadar protein tertinggi.

Proses perkecambahan dapat meningkatkan kandungan protein pada tepung tempe. Selain itu, lamanya proses perkecambahan juga memberikan pengaruh terhadap kadar protein. Peningkatan kadar protein selama proses perkecambahan kedelai disebabkan oleh adanya peningkatan aktivitas protease ([Sharma et al., 2015](#)), sintesis asam amino, menurunnya kandungan komponen lain akibat hilangnya senyawa terlarut selama proses pencucian dan perebusan ([Astawan et al., 2016](#)), pertumbuhan mikroorganisme (kapang) yang selama proses fermentasi mengkonsumsi senyawa-senyawa nonprotein ([Kaczmarek et al., 2017](#)), dan akibat adanya mobilisasi simpanan nitrogen untuk menghasilkan nutrisi yang dibutuhkan selama pembentukan radikula ([Joshi & Varma, 2016](#)).

### Kandungan Isoflavon Tepung Tempe Termodifikasi

Isoflavon merupakan komponen bioaktif dari golongan senyawa flavonoid yang bermanfaat sebagai antioksidan dan dapat mengikat radikal bebas dan mencegah reaksi berantai. Kandungan isoflavon pada tempe diukur berdasarkan jumlah konsentrasi aglikon dan aglikon ekuivalen terhadap glikosida ([Liu et al., 2023](#)). Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses perkecambahan kedelai dapat meningkatkan nilai total isoflavon pada tepung tempe. Berdasarkan uji ANOVA pada taraf 5%, diperoleh hasil yang signifikan ( $p < 0.05$ ) yang artinya perlakuan pada penelitian ini berpengaruh terhadap kandungan total isoflavon yang diukur. Berdasarkan uji lanjut Duncan, perlakuan P4 (inkubasi kedelai 50 jam) memberikan hasil yang berbeda dan menghasilkan kandungan total isoflavon paling tinggi yaitu sebesar 165.57 mg/100g (**Tabel 1**).

Proses dan lamanya waktu perkecambahan meningkatkan kandungan total isoflavon pada tepung tempe. Hal ini disebabkan karena selama proses perkecambahan dan fermentasi kedelai menjadi tempe terjadi peningkatan kadar aglikon (isoflavon bebas) dan penurunan glukosida (isoflavon terikat) ([Astawan et al., 2023](#)). Peningkatan aglikon dan penurunan glukosida selama proses perkecambahan disebabkan oleh hidrolisis enzim glukosidase selama perendaman dan pembentukan kecambah. Aktivitas enzim glukosidase inilah yang berperan penting dalam mengkatalisis terbentuknya aglikon ([Yoshiara, et al., 2018](#)). Selain itu, aktivitas kapang selama proses fermentasi menghasilkan enzim  $\beta$ -glukosidase yang dapat meningkatkan kandungan *daidzein* dan *genistein* sehingga kandungan isoflavon aglikonnya juga meningkat ([Li et al., 2021](#)). Penelitian Huang et al., (2014) melaporkan bahwa perkecambahan kedelai selama 24 jam mampu meningkatkan kadar aglikon kedelai sebesar 84% dan kadarnya terus meningkat sampai 147% selama 72 jam.

### Analisis Kapasitas Antioksidan

Hasil analisis kapasitas antioksidan disajikan pada **Tabel 1**. Berdasarkan uji ANOVA, kelima perlakuan memberikan hasil yang berbeda terhadap nilai kapasitas antioksidan ( $p < 0.05$ ). Kapasitas antioksidan pada perlakuan P4 (inkubasi kedelai 50 jam) secara signifikan memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan yang lain yaitu sebesar 34.12 mg AEAC/100g.

Kandungan antioksidan pada tepung tempe melalui proses perkecambahan berasal dari senyawa yang memiliki kapasitas antioksidan yang tinggi yaitu senyawa fenolik (golongan isoflavon) dan vitamin E (tokoferol) (Khang *et al.*, 2016). Selama proses perkecambahan, kandungan senyawa isoflavon dan vitamin E meningkat sehingga menyebabkan peningkatan kapasitas antioksidan (Król-Grzymała & Amarowicz, 2020). Selama proses perkecambahan, terjadi perubahan biosintesis dari komposisi senyawa tokoferol, yang mana terjadi peningkatan pada senyawa  $\alpha$ -tokoferol dan  $\beta$ -tokoferol dan penurunan pada  $\gamma$ -tokoferol (Frias *et al.*, 2005). Selain perkecambahan, proses fermentasi kedelai menjadi tempe juga meningkatkan senyawa isoflavon dan vitamin E. Peningkatan senyawa isoflavon disebabkan oleh kapang yang memproduksi enzim  $\beta$ -glukosidase yang mengkatalisis pelepasan aglikon dari substrat kedelai (Dwiatmaka *et al.*, 2021). Proses metabolisme aerob oleh mikroorganisme selama proses fermentasi juga turut meningkatkan kandungan vitamin E pada tempe. Kapang *rhizopus sp.* pada proses fermentasi kedelai dapat menghidrolisis senyawa-senyawa kompleks. Kapang ini memiliki kemampuan dalam mendegradasi komponen makromolekul menjadi senyawa-senyawa kecil sehingga menghasilkan metabolit sekunder melalui proses metabolisme aerob yang dapat menghasilkan vitamin E (Teoh *et al.*, 2024).

### Implikasi dan Keterbatasan Studi

Perlakuan P4, dengan tepung tempe yang dibuat dari tempe dengan perkecambahan kedelai selama 50 jam, menunjukkan hasil yang paling baik, dimana kandungan protein, total isoflavon, dan kapasitas antioksidan di dalamnya yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya, memberikan gambaran bahwa tempe dengan perkecambahan kedelai memberikan nilai tambah nutrisi yang lebih baik. Tepung tempe yang diolah dari tempe hasil perkecambahan kedelai juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan yang baik untuk berbagai olahan pangan fungsional, termasuk bagi para penderita DMT2. Studi sebelumnya yang dilakukan pada jenis kacang-kacangan, yaitu kacang beludru (*Mucuna pruriens*) dari Timor, menunjukkan bahwa jenis kacang-kacangan ini memiliki kandungan fitokimia yang beragam termasuk senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan dan antihiperглиkemia, dan varietas kacang-kacangan ini telah digunakan sebagai bahan pangan fungsional di masyarakat Timor (Tefa *et al.*, 2025). Dalam studi ini, uji kandungan fitokimia dan antihiperглиkemia dari berbagai perlakuan belum dilakukan karena keterbatasan waktu penelitian. Namun demikian, uji kandungan fitokimia dan aktivitas antihiperглиkemia tersebut masih perlu dilakukan untuk memberikan informasi gambaran nutrisi dan potensi tepung tempe yang dibuat dari perkecambahan kedelai ini menjadi lebih baik, terutama bagi penderita DMT2. Selain itu, perlakuan perkecambahan di atas 50 jam juga dirasa perlu dilakukan untuk melihat apakah terjadi penurunan kandungan nutrisi dan bioaktivitas dari tepung tempe yang dibuat dari tempe dengan perkecambahan kedelai.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa proses modifikasi tepung tempe berdasarkan lamanya waktu perkecambahan berpengaruh nyata terhadap peningkatan nilai kadar protein, total isoflavon, dan kapasitas antioksidan. Perlakuan P4 (tempe dengan perkecambahan kedelai selama 50 jam) menunjukkan nilai tertinggi, yaitu kadar protein sebesar 55.12%, total isoflavon sebesar 165.57 mg/100 g, dan kapasitas antioksidan sebesar 34.12 mg AEAC/100 g. Dari penelitian ini, tepung tempe termodifikasi dengan perlakuan P4 berpotensi dijadikan sebagai bahan dasar untuk produk olahan pangan fungsional yang cocok dikonsumsi oleh penderita DMT2. Penelitian lanjut masih diperlukan terutama untuk melihat kandungan fitokimia dan aktivitas antihiperглиkemia dari sampel. Selain itu, diperlukan juga pengamatan lama perkecambahan di atas 50 jam, untuk mengetahui pengaruhnya terhadap perubahan kadar protein, total isoflavon, dan bioaktivitasnya sehingga dapat diketahui waktu optimum perkecambahan yang lebih baik.

### DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrasyid, Z., Astawan, M., Lioe, H. N., & Wresdiyati, T. (2023). Physicochemical and Antioxidant Properties of Germinated Soybean Tempe after Two Days Additional Fermentation Time. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13(3). <https://doi.org/10.33263/BRIAC133.238>.
- American Diabetes Association. (2024). Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care*, 47, S20–S42. <https://doi.org/10.2337/dc24-S002>.

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. (2012). Official Method of Analysis of the Association of Official Analysis Chemist. Gaithersburg: AOAC.
- Arabshomali, A., Bazzazzadehgan, S., Mahdi, F., & Shariat-Madar, Z. (2023). Potential Benefits of Antioxidant Phytochemicals in Type 2 Diabetes. In *Molecules* (Vol. 28, Issue 20). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/molecules28207209>.
- Astawan, M., Cahyani, A. P., & Wresdiyati, T. (2023). Antioxidant activity and isoflavone content of overripe Indonesian tempe. *Food Research*, 7, 42–50. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.7\(S1\).16](https://doi.org/10.26656/fr.2017.7(S1).16).
- Astawan, M., Rahmawati, I. S., Cahyani, A. P., Wresdiyati, T., Putri, S. P., & Fukusaki, E. (2020). Comparison between the potential of tempe flour made from germinated and nongerminated soybeans in preventing diabetes mellitus. *HAYATI Journal of Biosciences*, 27(1), 16–23. <https://doi.org/10.4308/hjb.27.1.16>.
- Astawan, M., Wresdiyati, T., & Ichsan, M. (2016). Physicochemical characteristics of germinated soybean tempe flour). *Jurnal Gizi Pangan*, 11(1), 35–42.
- Dwiatmaka, Y., Lukitaningsih, E., Yuniarti, N., & Wahyuono, S. (2021). Fermentation of Soybean Seeds Using *Rhizopus oligosporus* for Tempeh Production and Standardization Based on Isoflavones Content. <https://doi.org/10.20944/preprints202104.0610.v2>.
- Frias, J., Miranda, M. L., Doblado, R., & Vidal-Valverde, C. (2005). Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. *Food Chemistry*, 92(2), 211–220. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.06.049>.
- Huang, X., Cai, W., & Xu, B. (2014). Kinetic changes of nutrients and antioxidant capacities of germinated soybean (*glycine max* l.) and mung bean (*vigna radiata* l.) with germination time. In *Food Chemistry* (Vol. 143, pp. 268–276). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.080>.
- Hung, & Nhi, P. V. (2012). HoChiMinh City, Quarter 6, Linh Trung Ward. In *International Food Research Journal* (Vol. 19, Issue 2). <https://cabidigitallibrary.org>.
- Joshi, P., & Varma, K. (2016). Effect of germination and dehulling on the nutritive value of soybean. *Nutrition and Food Science*, 46(4), 595–603. <https://doi.org/10.1108/NFS-10-2015-0123>.
- Kaczmarska, K. T., Chandra-Hioe, M. V., Zabaraz, D., Frank, D., & Arcot, J. (2017). Effect of germination and fermentation on carbohydrate composition of Australian sweet lupin and soybean seeds and flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(46), 10064–11073.
- Kadar, A. D., Astawan, M., Putri, S. P., & Fukusaki, E. (2020). Metabolomics based study of the effect of raw materials to the end product of tempe—an indonesian fermented soybean. *Metabolites*, 10(9), 1–11. <https://doi.org/10.3390/metabo10090367>.
- Khang, D., Dung, T., Elzaawely, A., & Xuan, T. (2016). Phenolic Profiles and Antioxidant Activity of Germinated Legumes. *Foods*, 5(2), 27. <https://doi.org/10.3390/foods5020027>.
- Konya, J., Sathyapalan, T., Kilpatrick, E. S., & Atkin, S. L. (2019). The effects of soy protein and cocoa with or without isoflavones on glycemic control in type 2 diabetes. A double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Frontiers in Endocrinology*, 10(MAY). <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00296>.
- Król-Grzymała, A., & Amarowicz, R. (2020). Phenolic compounds of soybean seeds from two European countries and their antioxidant properties. *Molecules*, 25(9). <https://doi.org/10.3390/molecules25092075>.
- Kuligowski, M., Pawłowska, K., Jasińska-Kuligowska, I., & Nowak, J. (2016). Isoflavone composition, polyphenols content and antioxidative activity of soybean seeds during tempeh fermentation. *CyTA - Journal of Food*, 15(1), 27–33. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1197316>.
- Kulprachakarn, K., Chaipoot, S., Phongphisutthinant, R., Paradee, N., Prommaban, A., Ounjaijean, S., Rerkasem, K., Parklak, W., Prakit, K., Saengsitthisak, B., Chansiw, N., Pangjit, K., & Boonyapranai, K. (2021). Antioxidant potential and cytotoxic effect of isoflavones extract from thai fermented soybean (Thua-nao). *Molecules*, 26(24). <https://doi.org/10.3390/molecules26247432>.

- Kuryłowicz, A. (2021). The role of isoflavones in type 2 diabetes prevention and treatment—A narrative review. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 1, pp. 1–31). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms22010218>.
- Li, C., Xu, T., Liu, X. W., Wang, X., & Xia, T. (2021). The expression of  $\beta$ -glucosidase during natto fermentation increased the active isoflavone content. *Food Bioscience*, 43, 101286. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2021.101286>.
- Liu, W. T., Huang, C. L., Liu, R., Yang, T. C., Lee, C. L., Tsao, R., & Yang, W. J. (2023). Changes in isoflavone profile, antioxidant activity, and phenolic contents in Taiwanese and Canadian soybeans during tempeh processing. *LWT*, 186. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115207>.
- Puspitasari, A., Astawan, M., & Wresdiyati, D. T. (2020). Pengaruh Germinasi Kedelai terhadap Komposisi Proksimat dan Komponen Bioaktif Isoflavon Tempe Segar dan Semangit.
- Puteri, N. E., Astawan, M., Palupi, N. S., Wresdiyati, T., & Takagi, Y. (2018). Characterization of biochemical and functional properties of water-soluble tempe flour. *Food Science and Technology (Brazil)*, 38, 147–153. <https://doi.org/10.1590/fst.13017>.
- Rajendiran, D., Packirisamy, S., & Gunasekaran, K. (2018). A review on role of antioxidants in diabetes. In *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* (Vol. 11, Issue 2, pp. 48–53). Innovare Academics Sciences Pvt. Ltd. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i2.23241>.
- Scarpa, E. S., Antonelli, A., Balercia, G., Sabatelli, S., Maggi, F., Caprioli, G., Giacchetti, G., & Micucci, M. (2024). Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anti-Diabetic, and Pro-Osteogenic Activities of Polyphenols for the Treatment of Two Different Chronic Diseases: Type 2 Diabetes Mellitus and Osteoporosis. In *Biomolecules* (Vol. 14, Issue 7). <https://doi.org/10.3390/biom14070836>.
- Sharma, S., Saxena, D. C., & Riar, C. S. (2015). Antioxidant activity, total phenolics, flavonoids and antinutritional characteristics of germinated foxtail millet (*Setaria italica*). *Cogent Food and Agriculture*, 1(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1081728>.
- Silva, M. B. R., Leite, R. S., de Oliveira, M. Á., & Ida, E. I. (2020). Germination conditions influence the physical characteristics, isoflavones, and vitamin C of soybean sprouts. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 55. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.PAB2020.V55.01409>.
- Su, H. K., Chen, W. C., Lu, J. H., Chao, H. R., Liang, Y. F., Haruka, S., Hsu, W. L., Wu, M. L., & Tsai, M. H. (2023). The effects of using Tempeh as a supplement for type 2 diabetes. *Food Science and Nutrition*, 11(6), 3339–3347. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3319>.
- Tefa, A. Y., Nino, J. ., Ceunfin, S. ., Taloin, R., & Yani, A. (2025). Phytochemical Profile and Pharmacological Activity of Local Velvet Bean (*Mucuna pruriens*) of Timor. *Ahmar Metastasis Health Journal*, 4(4), 215–227. <https://doi.org/10.53770/amhj.v4i4.463>.
- Teoh, S. Q., Chin, N. L., Chong, C. W., Ripen, A. M., How, S., & Lim, J. J. L. (2024). A review on health benefits and processing of tempeh with outlines on its functional microbes. *Future Foods*, 9, 100330. <https://doi.org/10.1016/J.FUFO.2024.100330>.
- Yoshari, R. M., Astawan, M., Prangdimurti, E., & Wresdiyati, T. (2023). The production process of tempe protein isolate from germinated soybeans and its potential as an antidiabetic. *Food Research*, 7, 71–79. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.7\(S1\).23](https://doi.org/10.26656/fr.2017.7(S1).23).
- Yoshiara, L. Y., Madeira, T. B., De Camargo, A. C., Shahidi, F., & Ida, E. I. (2018). Multistep optimization of  $\beta$ -glucosidase extraction from germinated soybeans (*Glycine max* L. Merrill) and recovery of isoflavone aglycones. *Foods*, 7(7). <https://doi.org/10.3390/foods7070110>.
- Yoshiara, L. Y., Mandarino, J. M. G., Carrão-Panizzi, M. C., Madeira, T. B., Silva, J. B. da, Camargo, A. C. de, Shahidi, F., & Ida, E. I. (2018). Germination changes the isoflavone profile and increases the antioxidant potential of soybean. *Journal of Food Bioactives*, 3, 144–150. <https://doi.org/10.31665/jfb.2018.3157>.