

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tempe Kedelai Hitam

Tempe merupakan bahan makanan hasil fermentasi kacang kedelai atau jenis kacang-kacangan lainnya menggunakan jamur *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae*. Tempe umumnya dibuat secara tradisional dan merupakan sumber protein nabati. Tempe mengandung berbagai nutrisi yang diperlukan oleh tubuh seperti protein, lemak, karbohidrat, dan mineral. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa zat gizi tempe lebih mudah dicerna, diserap, dan dimanfaatkan tubuh. Proses fermentasi menyebabkan tempe memiliki beberapa keunggulan dibandingkan kacang kedelai yang dapat dilihat dari komposisi zat gizi secara umum, daya cerna protein dan kandungan asam amino esensial yang lebih tinggi, zat antigizi yaitu antitripsin dan asam fitat yang jauh lebih rendah dibandingkan kedelai.

Pada tempe terdapat enzim-enzim pencernaan yang dihasilkan oleh kapang tempe, sehingga protein, lemak dan karbohidrat menjadi lebih mudah dicerna. Kapang yang tumbuh pada tempe mampu menghasilkan enzim protease untuk menguraikan protein menjadi peptida dan asam amino bebas (Astawan, 2008). Kedelai hitam tergolong bahan pangan yang bersifat fungsional. Kedelai hitam mempunyai komponen isoflavon dan antosianin. Isoflavon terdapat pada kotiledon biji kedelai, sedangkan antosianin terdapat pada kulit kedelai. Bersama dengan vitamin E dan β -karoten, isoflavon dan antosianin berkontribusi terhadap nilai aktivitas antioksidan. Aktivitas enzim antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase dan glutathion peroksidase secara signifikan meningkat oleh genistein (Rimbach *et al.*, 2008). Nurrahman (2015) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan kedelai hitam varietas Mallika lebih tinggi dibanding kedelai kuning import.

Bentuk dari tempe berupa padatan yang tersusun oleh kacang kedelai yang dibungkus oleh miselia berwarna putih yang merupakan hifa dari jamur spesies *Rhizopus*. Aktivitas fisiologis jamur pada proses fermentasi tempe dimulai sejak diinokulasikannya inokulum pada kedelai yang telah siap difermentasi. Spora jamur tersebut mulai tumbuh berkembang dengan membentuk benang-benang hifa yang tumbuh makin memanjang, membalut dan menembus biji kotiledon kedelai.

Kedelai kuning impor banyak digunakan sebagai bahan baku tempe. Demikian pula dengan kedelai hitam, dilihat dari potensi zat gizi dan produksi tidak jauh dari kedelai kuning, bahkan sifat fungsional lebih tinggi. Menurut Nurrahman (2015) kedelai hitam memiliki kandungan glutamat, serin dan tirosin lebih tinggi dibanding kedelai kuning varietas Grobogan dan impor meskipun perbedaannya tidak signifikan. Glutamat merupakan asam amino yang berperan dalam membentuk citarasa makanan terutama dalam bentuk mono sodium glutamat (MSG). Keberadaannya dalam makanan menyebabkan rasa makanan menjadi gurih. Menurut Nurrahman (2015) tempe yang terbuat dari kedelai hitam memiliki rasa lebih disukai dibandingkan tempe kedelai kuning. Hal ini mungkin disebabkan kandungan glutamat pada kedelai hitam lebih tinggi dibanding kedelai kuning.

Tabel 1. Komposisi Kimia Kedelai Hitam Varietas Malika

No.	Komposisi	Kadar
1.	Kadar air (%)	10,57
2.	Kadar protein (%)	39,09
3.	Kadar lemak (%)	14,47
4.	Kadar abu (%)	4,12
5.	Kadar antosianin (mg/100 gr)	222,49
6.	Kadar lemak (mg/100 gr)	
	a. Asam palmitat	2,77
	b. Asam stearat	509,67
	c. Asam oleat	1586,85
	d. Asam linoleat	1984,92
	e. Asam linolenat	238,67
7.	Kadar isoflavon	
	a. Genistein (mg/g)	0,65
	b. Daidzein (mg/g)	3,67

Sumber : Nurrahman (2015)

Proses fermentasi tempe dapat mereduksi tingkat 3-N-oxalyl-L-2,3-diaminopropionic acid (ODAP), trypsin inhibitors dan asam phitat masing-masing sebanyak 93, 99 dan 22%, dan meningkatkan ketersediaan protein sekitar 25%. Ketersediaan protein dari pengolahan konvensional seperti perebusan lebih besar dibandingkan dari biji-bijian yang difermentasi, tetapi pada analisa in vitro lebih banyak protein larut (10%) yang dilepaskan pada saat pengolahan (Stodolak dan Anna, 2008).

Isoflavon terutama daidzein dan genistein merupakan komponen kimia yang diduga memiliki sifat fungsional dari kedelai dan produknya menurut beberapa penelitian. Menurut Nurrahman (2015) tempe kedelai hitam mengandung genestin 0,73 mg/g dan daidzein 1,82 mg/g. Pengujian sifat antioksidan tempe kedelai hitam secara biologis dimana tikus yang mendapatkan diit yang ditambah tepung tempe kedelai hitam semakin

meningkat aktivitas SOD-nya (Nurrahman *et al.*, 2012). Aktivitas tersebut lebih tinggi dibandingkan diet yang mengandung kasein (kontrol). Dalam laporan yang sama tikus yang diberi tepung tempe kedelai hitam memiliki limfosit yang lebih tahan terhadap paparan hidrogen peroksida. Senyawa antioksidan (isoflavon) pada tempe mungkin juga berkontribusi pada ekspresi gen (Rimbach *et al.*, 2008).

B. Cookies

Cookies (kue kering) adalah makanan ringan yang terbuat dari tepung protein rendah. Proses pembuatan *cookies* dengan cara dipanggang hingga keras namun masih renyah dimakan. Biasanya dalam proses pembuatannya *cookies* ditambah lemak atau minyak yang berfungsi melembutkan atau membuat renyah (Astawan, 2009).

Pembuatan *cookies* menggunakan metode *creaming*, yaitu telur dan gula diaduk hingga setengah mengembang, supaya gula larut dalam telur dan telur mengikat udara (adonan pertama) disisi lain margarin, butter dan *baking powder* diaduk hingga homogen dengan ditandai berwarna pucat (adonan kedua), kemudian adonan tersebut tercampur rata beserta tepung susu bubuk hingga homogen. Pembuatan *cookies* ini menggunakan butter untuk bertujuan menambah aroma serta untuk memudahkan pemisahan *cookies* dari loyang (tidak lengket) (Pratiwi, 2008) dan *baking powder* berperan dalam mengembangkan produk serta kerenyahan produk (Faridah, 2008).

Mutu *cookies* harus diperhatikan agar *cookies* dapat diterima dimasyarakat. Faktor penyebab mutu *cookies* dipengaruhi oleh komposisi yang digunakan dan proses pembuatannya. Komposisi yang tidak sesuai menyebabkan penyimpangan pada produk *cookies* yang dihasilkan. Proses pembuatan yang tidak baik seperti pencampuran yang tidak merata atau pemanggangan yang terlalu cepat dapat menghasilkan *cookies* yang tidak baik (Widjayanti, 2005).

Reaksi maillard non enzimatis terjadi akibat adanya gugus karbonil dari karbohidrat dan asam amino dengan suhu tinggi. Pencoklatan pada *cookies* biasanya diinginkan namun apabila terlalu banyak terbentuk dikhawatirkan dapat mereduksi protein dalam jumlah yang besar (Darwindra *et al.*, 2009).

Menurut SNI 2973-2011, *cookies* merupakan salah satu jenis biskuit yang dibuat dari adonan lunak, berkadar lemak tinggi, relatif renyah bila dipatahkan dan penampang potongannya bertekstur kurang padat. *Cookies* terbuat dari bahan dasar tepung, gula, margarin dan telur. Ciri-ciri *cookies* yaitu warna kuning kecoklatan atau sesuai dengan warna bahannya, tektur renyah, aroma harum ditimbulnya adanya kesesuaian bahan yang

digunakan, rasa manis ditimbulkan dari banyak sedikitnya penggunaan dan juga dari karakteristik rasa bahan yang digunakan (Fajiaringsih, 2013).

Syarat mutu *cookies* yang berlaku secara umum diIndonesia yaitu berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI 2973-2011), seperti pada Tabel 2 berikut ini:

Tabel 2. SNI *Cookies* 2973-2011

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan Uji
1.	Kedaaan		
1.1	Bau	-	Normal
1.2	Rasa	-	Normal
1.3	Warna	-	Normal
2.	Kadar air (b/b)	%	Maks. 5
3.	Serat kasar	%	Maks. 0.5
4.	Protein (Nx6,25) (b/b)	%	Maks.5
5.	Asam lemak bebas (sebagai asam oleat) (b/b)	%	Maks.1.0
6.	Cemaran logam		
6.1	Timbal (Pb)	Mg/kg	Maks. 0.5
6.2	Cadmium (Cd)	Mg/kg	Maks. 0.2
6.3	Timah (Sn)	Mg/kg	Maks. 40
6.4	Merkuri (Hg)	Mg/kg	Maks. 0.05
6.5	Arsen (As)	Mg/kg	Maks. 0.5
7.	Angka lempeng total	Koloni/g	Maks. 1×10^4
7.1	Koliform	APM/g	20
7.2	<i>Eschericia coli</i>	APM	<3
7.3	<i>Salmonella sp</i>	-	Negatif /25g
7.4	<i>Stahylococcus aureus</i>	Koloni/g	Maks. 1×10^2
7.5	<i>Bacillus cereus</i>	Koloni/g	Maks. 1×10^2
7.6	Kapang dan kamir	Koloni/g	Maks. 2×10^2

Sumber : BSN (2011)

C. Protein

Tepung terigu yang digunakan untuk pembuatan *cookies* adalah jenis tepung terigu rendah protein yang mengandung kadar protein 8-9,5%. Tepung terigu tersebut termasuk golongan *soft flour* berdasarkan kadar protein (Suprapti, 2005). Karakteristik tepung terigu kadar protein rendah ini adalah daya serap air rendah, lengket, dan tidak elastis. Fungsi tepung terigu dalam pembuatan *cookies* adalah sebagai kerangka pada adonan dan kerenyahan produk (Syarbini, 2013). Kadar protein dalam *cookies* akan mempengaruhi daya kembang dari *cookies*. Hal ini karena

protein akan mengalami denaturasi sehingga mengurangi daya kembang *cookies* (Visita, 2014).

Menurut Sumarjo (2009) sumber protein nabati yang baik dan mudah didapat berasal dari kacang-kacangan dan sereal. Kedelai merupakan sumber protein yang tinggi tetapi tidak sebaik protein susu sapi dan telur ayam, terutama dalam hal kadar asam amino metionin dan sistein (Cahyono, 2007). Pratiwi *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa pada pembuatan *cookies* yang disubstitusikan ubi jalar, tempe dan kedelai berpotensi untuk dijadikan sebagai program makanan tambahan anak sekolah (PMT-AS) yang merupakan salah satu langkah untuk mengatasi kekurangan gizi.

Tempe kedelai hitam juga memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan kedelai. Proses fermentasi menyebabkan tempe memiliki beberapa keunggulan dibandingkan kedelai, yang dapat dilihat dari komposisi zat gizi secara umum, daya cerna protein dan kandungan asam amino esensial yang lebih tinggi, zat antigizi yaitu antitripsin dan asam fitat yang jauh lebih rendah dibandingkan kedelai. Kelompok tikus yang mengkonsumsi formula mengandung tepung tempe kedelai hitam selama satu bulan menunjukkan adanya tingkat proliferasi sel T lebih tinggi dibanding kelompok kontrol (Nurrahman *et al.*, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Nurrahman *et al.* (2011) terhadap tikus yang mengkonsumsi pakan yang mengandung tempe kedelai hitam 50 persen, 100 persen dan ekstrak tempe kedelai hitam dengan etanol, tikus yang pakannya mengandung tempe dan ekstrak tempe kedelai hitam mengalami pertumbuhan lebih tinggi dibanding pakan standar. Ada kecenderungan konsumsi tempe kedelai hitam mempunyai pertumbuhan yang paling tinggi. Hal ini menunjukkan protein yang terdapat di dalam tempe kedelai hitam berperan pada pertumbuhan tikus.

D. Aktivitas Antioksidan

Antioksidan adalah yang dalam kadar tertentu mampu menghambat kerusakan akibat proses oksidasi. Antioksidan adalah zat yang mampu mencegah atau memperlambat oksidasi molekul lain. Antioksidan di dalam makanan dapat berasal dari senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama pengolahan, dan senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Kumalaningsih 2006).

Ada banyak bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami, misalnya rempah-rempah, teh, coklat, dedaunan, biji-bijian, sereal, sayur-sayuran, enzim dan protein. Kebanyakan sumber antioksidan alami adalah tumbuhan dan umumnya merupakan senyawa fenolik yang tersebar di seluruh bagian tumbuhan baik kayu, biji, daun, buah, akar, bunga maupun serbuk sari (Sarastani *et al.*, 2002).

Antioksidan mampu melindungi biomolekul baik secara *in vivo* maupun *in vitro* (Flora, 2009). Nurrahman (2015), melaporkan bahwa satu-satunya varietas kedelai yang memiliki kandungan antosianin dalam kulitnya sebagai antioksidan adalah kedelai hitam yaitu sebesar 222,49mg/100 g sedangkan varietas kedelai lain tidak memilikinya. Kandungan antioksidan yakni antosianin dan isoflavon pada kedelai hitam bermanfaat bagi penderita Diabetes Mellitus.

Selain isoflavon senyawa yang bekerja sebagai antioksidan dalam kedelai hitam ialah polifenol dan antosianin. Menurut Nurrahman *et al.*, 2012 tempe kedelai hitam memiliki aktivitas antioksidan 28,48 % RSA (*Radical Scavenging Activity*). Berbagai metode uji aktivitas antioksidan telah digunakan untuk mengetahui dan membandingkan aktivitas antioksidan pada makanan. Beberapa tahun terakhir, pengujian kapasitas absorbansi radikal oksigen telah digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan pada makanan, serum dan cairan biologis.

Metode yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan suatu bahan adalah menggunakan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH). DPPH adalah radikal bebas yang bersifat stabil dan beraktivitas dengan cara mendelokasi elektron bebas pada suatu molekul, sehingga molekul tersebut tidak reaktif sebagaimana radikal bebas yang lain. Proses delokasi ini ditunjukkan dengan adanya warna ungu (violet) pekat yang dapat dikarakterisasi pada pita absorbansi dalam pelarut etanol pada panjang gelombang 520nm (Molyneux, 2004).

Metode uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan radikal bebas DPPH banyak dipilih karena metode ini sederhana, mudah cepat, peka dan hanya membutuhkan sedikit sampel (Hanani *et al.*, 2005). Kapasitas antioksidan pada uji ini tergantung pada struktur kimia dan antioksidan. Pengurangan radikal DPPH tergantung pada jumlah grup hidroksil yang ada pada antioksidan, sehingga metode ini memberikan sebuah indikasi dari ketergantungan struktural kemampuan antioksidan dari antioksidan biologis (Vattem dan Shetty, 2006). Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri.

Senyawa DPPH (dalam metanol) berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 517 nm.

Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya untuk berikatan dengan DPPH membentuk DPPH tereduksi, ditandai dengan semakin hilangnya warna ungu (menjadi kuning pucat) (Molyneux, 2004) antioksidan akan mendonorkan proton atau hidrogen kepada DPPH dan selanjutnya akan terbentuk radikal baru yang bersifat stabil atau tidak reaktif (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) (Wikanta *et al.*, 2005).

E. Sifat Sensori

Pengujian sifat sensori dimaksudkan untuk mengetahui respon panelis terhadap suatu produk. Ada beberapa penilaian pada uji sensorik meliputi warna, aroma dan rasa. Pada umumnya *cookies* berukuran kecil, renyah dan manis (Suarni, 2009). Tekstur *cookies* tergantung pada bahan dan penambahan *baking powder* (Manley, 2000).

Tabel 3. Penyimpangan Produk Akhir Biskuit Dan Penyebabnya

Jenis penyimpangan	Penyebab
Keras	Kurang lemak, kurang air
Pucat	Proporsi bahan kurang tepat, oven kurang panas
Bentuk tidak rata	Pencampuran tidak rata Penanganan tidak hati-hati
Warna coklat tidak merata	Panas tidak merata Bentuk tidak seragam, panas tidak merata
Hambar dan berat	Proporsi bahan tidak seimbang
Keras dan porous	Pencampuran tidak tepat
Kasar dan kering	Pencampuran tidak tepat Adonan terlalu keras dan kenyal
Permukaan keras	Penanganan terlalu lama Pemanggangan terlalu lama
Berminyak dan rapuh	Suhu terlalu tinggi, terlalu banyak lemak

Sumber : Widjayanti (2005)

Menurut Winarno (2002) waktu pemanggangan berpengaruh pada warna *cookies* makin lama pemanggangan produk yang dihasilkan makin coklat karena terjadi reaksi pencoklatan non enzimatik, yaitu karamelisasi dan reaksi *maillard*. Pemanggangan pada suhu tinggi dan waktu terlalu lama akan menyebabkan kelembaban *cookies* menjadi rendah dan warna terlalu gelap. Reaksi *maillard* merupakan reaksi antara

karbohidrat, khususnya gula pereduksi dengan gugus amina primer yang menghasilkan bahan berwarna coklat (Winarno, 2002). Reaksi *Maillard* menghasilkan produk berwarna coklat yang disebut melanoidin. Pengaruh suhu dan lama pemanggangan berkaitan juga dengan reaksi karamelisasi. Menurut Kusnandar (2010) reaksi karamelisasi adalah reaksi yang melibatkan gula sederhana yang dapat menghasilkan pembentukan warna coklat karamel dan komponen *flavor*.

Antosinan yang terdapat pada kulit kedelai dapat menyebabkan warna hitam (Ito *et al.*, 2013). Warna membuat produk pangan menjadi lebih menarik. Pengukuran warna secara objektif penting dilakukan karena warna merupakan daya tarik utama sebelum konsumen mengenal dan menyukai sifat-sifat lainnya. Aroma pada produk pangan dapat dipengaruhi oleh bahan-bahan yang digunakan dan proses pengolahannya. Menurut SNI 2973-2011 aroma pada biskuit tidak boleh tercium bau asing atau aroma tidak normal. Aroma *cookies* yang disubstitusi tepung kedelai dipengaruhi oleh adanya enzim lipoksigenasi pada kedelai sehingga dapat mempengaruhi tingkat kesukaan panelis (Mervina *et al.*, 2012). Aroma yang timbul disebabkan karena pada saat proses pemanggangan senyawa volatil yang terdapat pada bahan protein dan karbohidrat (Subandoro *et al.*, 2013).

Kerenyahan merupakan salah satu parameter dalam pengujian produk *cookies*. Tekstur makanan ditentukan oleh kadar air dan juga kandungan lemak dan jumlah karbohidrat (selulosa, pati dan dekstrin) serta proteinya. Menurut Manley (2000) tekstur pada *cookies* tergantung pada bahan dan penambahan *baking powder*. Perubahan tekstur dapat disebabkan oleh menurunnya kadar air dan lemak, pecahnya emulsi, hidrolisis karbohidrat dan hidrolisis protein pada proses pemanggangan. Semakin tinggi kadar amilosa pada produk akan menghasilkan tekstur yang baik dan daya lebih tahan pecah, namun pati yang mengandung amilopektin yang lebih tinggi cenderung menghasilkan produk yang mudah pecah (Claudia Dan Widjanarko, 2016).

Sarabhai *et al* (2015) melaporkan bahwa makin tingginya kandungan protein pada adonan *cookies* akan menyebabkan terbentuknya agregat akibat peningkatan jumlah gugus hidrofil pada protein yang berikatan dengan pati sehingga menghalangi ikatan dengan air. Akibatnya, tekstur *cookies* akan makin kerasseiring peningkatan tepung kedelai yang digunakan.

Rasa *cookies* dipengaruhi dari bahan yang digunakan (Dewi, 2006). Rasa ditentukan dengan cecapan, dan rangsangan mulut. Tekstur dan konsistensi suatu bahan akan mempengaruhi cita rasa yang ditimbulkan oleh bahan yang digunakan

pada *cookies* (Winarno, 2002). Beberapa faktor yang mempengaruhi rasa *cookies* yaitu senyawa kimia, suhu, konsentrasi dan interaksi dengan komponen rasa yang lain. Umumnya bahan pangan tidak hanya terdiri dari salah satu rasa saja tetapi merupakan gabungan dari berbagai macam rasa sehingga akan menimbulkan citarasa makanan yang utuh dan padu. Pada proses penepungan kedelai enzim lipoksigenase akan aktif dan mempercepat peroksidasi asam lemak tak jenuh pada kedelai sehingga menghasilkan aroma tengik (Mandal *et al.*, 2014).

Daya kembang *cookies* ditentukan oleh kadar protein kadar amilopektin dan kadar lemak. Protein akan mengalami denaturasi sehingga mengurangi daya kembang kembang *cookies*, karena granula pati sulit mengembang. Hal ini karena granula pati akan lebih banyak sehingga pengembangan pati menjadi meningkat (Visita dan Putri, 2014). Menurut Estiasih (2005), waktu pengadonan, pati akan menyerap air dari bahan dan memerangkap udara sehingga membentuk gelembung pati, pelelehan kristalin, pelarutan pati, penyebaran, pemekaran dan pengembangan. Penambahan margarin (lemak) yang ada pembuatan *cookies* akan mengubah tekstur, rasa dan flavor *cookies*. Lemak tersebut dapat berinteraksi dengan granula pati dan mencegah hidrasi sehingga peningkatan viskositas bahan menjadi rendah.

