



Pengaruh suplementasi isolat bakteri asam laktat penghasil enzim beta glukosidase asal growol terhadap nilai gizi dan flavonoid total tempe *Effect of beta-glucosidase-producing lactic acid bacteria isolated from growol on the nutrients and total flavonoid contents in tempeh*

Rio Jati Kusuma^{1,2}

¹ Departemen Gizi Kesehatan,
Fakultas Kedokteran, Kesehatan
Masyarakat dan Keperawatan,
Universitas Gadjah Mada;
² Pusat Studi Kedokteran Herbal,
Fakultas Kedokteran, Kesehatan
Masyarakat dan Keperawatan,
Universitas Gadjah Mada

* Corresponding Author:
Rio Jati Kusuma, Jalan Farmako
Sekip Utara Yogyakarta, phone/
fax: (0274)547775, email:
riojatikusuma@ugm.ac.id

Article History:

Received: 09/10/2025
Reviewed: 11/10/2025
Published: 31/10/2025

Publisher:



Universitas
Respati
Yogyakarta
respati.ac.id

© The Author(s). 2023 Open Access
This article has been distributed under
the terms of the License Internasional
Creative Commons Attribution 4.0



Abstrak

Latar Belakang: Tempe merupakan salah satu makanan fungsional khas Indonesia yang memiliki efek kesehatan karena kandungan aglikon isoflavon. Aglikon isoflavon merupakan senyawa flavonoid yang dihasilkan oleh enzim beta-glukosidase seperti pada jamur *Rhizopus* maupun bakteri asam laktat yang berasal dari makanan fermentasi seperti growol. **Tujuan:** Menganalisis pengaruh penambahan isolat bakteri asam laktat penghasil beta glukosidase asal growol terhadap nilai gizi dan flavonoid total tempe. **Metode:** Bakteri asam laktat diisolasi dari growol pada media MRS yang disuplementasi dengan *Esculin iron* agar. Aktivitas beta-glukosidase dihitung menggunakan kit *beta-glucosidase activity*. Isolat bakteri asam laktat kemudian ditambahkan 5% (b/b) pada fermentasi kedelai dengan ragi tempe (Raprima) untuk menghasilkan tempe modifikasi. Analisis nilai gizi (kadar air, kadar abu, protein total, lemak total, dan karbohidrat) dan flavonoid total dianalisis dengan metode AOAC serta aluminium klorida pada tempe modifikasi dan tempe kontrol. Data dianalisis menggunakan uji t-beda dan ANOVA dengan alfa ditetapkan pada 95%. **Hasil:** Aktivitas beta glukosidase tertinggi terdapat pada isolat 1 ($14,70 \pm 1,74$ U/L) dibandingkan isolat lainnya. Identifikasi molekuler menunjukkan bahwa isolat 1 masih belum murni karena terdiri dari bakteri asam laktat. Terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada kadar air, abu, protein, dan karbohidrat antara tempe kontrol dengan tempe modifikasi namun tidak pada kadar lemak ($p > 0,05$). Kadar flavonoid berbeda signifikan ($p < 0,05$) antara kedua jenis tempe dengan kandungan tertinggi terdapat pada kelompok tempe modifikasi ($0,14 \pm 0,02$ vs $0,26 \pm 0,01$ mg/g). **Kesimpulan:** Modifikasi pembuatan tempe melalui penambahan bakteri asam laktat asal growol mampu meningkatkan kadar flavonoid dan memengaruhi nilai gizi pada produk tempe yang dihasilkan.

Kata Kunci: bakteri asam laktat; beta-glukosidase; flavonoids; growol; nilai gizi tempe

Abstract

Introduction: Tempeh is a traditional functional food from Indonesia that has health-promoting activity due to high aglycon isoflavone content. Aglycon isoflavone is a flavonoid substance that was produced by beta-glucosidase enzyme from *Rhizopus* mold or indigenous lactic acid bacteria from fermented food, such as from growol. **Objective:** To analyze the impact of lactic acid bacteria producing beta-glucosidase from growol supplementation during tempeh production on nutrients and total flavonoids of tempeh. **Method:** Lactic acid bacteria producing beta-glucosidase were isolated from growol using MRS supplemented with Esculin Iron Agar. The beta-glucosidase activity from each isolate was analyzed using beta-glucosidase activity kit. Modified tempeh was developed by adding 5% (w/w) lactic acid bacteria isolates during tempeh mold (Raprima) addition. Nutrients (moisture, ash, protein, fat, and carbohydrate) as well as total flavonoids were analyzed according to AOAC method and aluminum chloride between two groups of tempeh. Data were analyzed using the independent t-test and ANOVA, with alpha was set at 95%. **Result:** Isolate 1 shows the highest beta-glucosidase activity (14.70 ± 1.74 U/L) compared with other isolates. Molecular identification indicated a mixed colony of lactic acid bacteria in isolate 1. There is a significant difference ($p < 0.05$) on moisture, ash, protein, and carbohydrate contents among modified and control group tempeh. However, no significant difference ($p > 0.05$) was observed in fat content. Significant difference was also observed in total flavonoid contents, with modified tempeh has the highest level of total flavonoids (0.14 ± 0.02 vs 0.26 ± 0.01 mg/g). **Conclusion:** Modification of tempeh development through supplementation of beta-glucosidase-producing lactic acid bacteria increases nutrients and flavonoid contents of tempeh.

Keywords: beta-glucosidase; flavonoids; growol; lactic acid bacteria; nutrients of tempeh

PENDAHULUAN

Tempe merupakan salah satu makanan fermentasi asli Indonesia yang memiliki efek menguntungkan bagi kesehatan. Beberapa studi menunjukkan peran penting tempe sebagai anti-obesitas, anti-diabetes hingga anti-kanker (1–3). Aktivitas tersebut tidak lepas dari aktivitas antioksidan yang tinggi serta kandungan serat dan senyawa bioaktif yang meningkat selama proses fermentasi (4–7). Salah satu senyawa bioaktif penting yang terdapat dalam tempe yang memiliki efek bagi kesehatan adalah isoflavon.

Isoflavon merupakan salah satu senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan serta fitoestrogen karena memiliki struktur yang mirip dengan hormon estrogen (8). Di alam, terutama pada kedelai, isoflavon terdapat dalam bentuk isoflavon glukosida yang dicirikan dengan adanya gugus karbohidrat pada senyawa isoflavon (9). Adanya senyawa karbohidrat ini menurunkan bioavailabilitas serta fungsi kesehatan dari senyawa isoflavon pada kedelai karena memiliki bentuk ikatan beta yang tidak tercerna oleh enzim pencernaan manusia (10).

Fermentasi merupakan salah satu upaya dalam meningkatkan bioavailabilitas serta nilai fungsional dari isoflavon. Hal ini disebabkan karena enzim beta-glukosidase yang terdapat pada jamur *Rhizopus* maupun bakteri asam laktat mampu memotong senyawa karbohidrat pada isoflavon menghasilkan aglikon isoflavon (11–13). Studi menunjukkan bahwa penambahan bakteri asam laktat penghasil beta-glukosidase pada proses fermentasi tempe mampu meningkatkan nilai fungsional dari tempe seperti anti-disbiosis dan anti-diabetes (3,14,15).

Indonesia merupakan negara dengan kekayaan makanan fermentasi. Growol merupakan salah satu makanan fermentasi khas Kulonprogo yang mengandung bakteri asam laktat dari golongan *L. plantarum* dan *L. rhamnosus* (16). Meskipun upaya dalam isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat yang menghasilkan beta-glukosidase asal makanan fermentasi khas Yogyakarta telah dilakukan (17), namun hingga saat ini belum ada penelitian yang mengidentifikasi bakteri asam laktat asal growol yang mampu menghasilkan beta-glukosidase. Selain itu, pengaruh suplementasi bakteri asam laktat penghasil beta-glukosidase asal growol dalam proses pembuatan tempe terhadap nilai gizi dan kandungan flavonoid total tempe masih terbatas. Melalui studi ini, modifikasi pembuatan tempe diharapkan mampu meningkatkan nilai fungsional dari tempe.

METODE

Isolasi Bakteri Asam Laktat Growol

Growol mentah, berupa air rendaman singkong, diperoleh dari pengrajin growol di Kulonprogo, dibawa ke laboratorium menggunakan kotak es. Sebanyak 1 ml air rendaman hasil pembuatan growol dipindahkan ke dalam 9 ml media MRS steril yang pH nya telah diturunkan menjadi 4 menggunakan HCl 0,5 M. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu 37°C semalaman (*overnight*). Campuran kemudian diencerkan hingga 10^{-5} dan dipindahkan ke dalam media MRS yang disuplementasi dengan agar *esculin iron* dengan perbandingan MRS dan agar *esculin iron* 1:1 dengan teknik *pour plate*. Agar *esculin iron* digunakan untuk mengidentifikasi atau skrining koloni bakteri penghasil beta-glukosidase yang ditunjukkan dengan perubahan

warna hitam pada media disekitar koloni (18). Warna hitam terbentuk akibat reduksi feri oleh esculetin, yang merupakan produk hidrolisis esculin oleh enzim beta-glukosidase (19). Koloni bakteri berwarna hitam kemudian dimurnikan dengan teknik *streak plate* sebanyak tiga kali sebelum dipindahkan ke dalam media MRS pH 4.

Uji Aktivitas Beta-Glukosidase

Isolat bakteri asam laktat yang diperoleh kemudian diuji aktivitas beta-glukosidase menggunakan kit *beta-glucosidase assay* dari Solarbio. Secara umum, sebanyak 10^4 isolat bakteri asam laktat disentrifugasi pada kecepatan 5000xg selama 5 menit untuk mendapatkan endapan bakteri. Sebanyak 500 μ l *extract solution* ditambahkan ke dalam endapan bakteri dan disonikasi selama 15 menit suhu 37°C . Campuran kemudian disentrifugasi pada 15000xg selama 20 menit. Supernatan diambil dan diuji aktivitas beta-glukosidase sesuai protokol dalam kit.

Isolasi DNA dan *Amplicon Sequencing*

Isolasi DNA dilakukan menggunakan kit *FavorPrep Stool DNA extraction* dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 10^4 CFU isolat bakteri asam laktat ditambah dengan 500 μ l *lysis buffer* (SDE1) dan 25 μ l proteinase K. Campuran kemudian disonikasi selama 15 menit suhu 37°C sebelum diinkubasi pada suhu 60°C selama 20 menit. Campuran divorteks dan diinkubasi kembali pada suhu 95°C selama 5 menit kemudian diinkubasi pada es selama 5 menit. Sebanyak 150 μ l SDE2 ditambahkan, dicampur dengan divorteks, diinkubasi pada es selama 5 menit dan disentrifugasi pada kecepatan 13.000 RPM selama 3 menit. Supernatan

diambil dan DNA diendapkan dengan menambahkan isopropanol dingin dan larutan SDE4. Campuran yang berisi DNA kemudian diekstrak menggunakan kolom DNA. Kuantitas dan kualitas dari ekstraksi DNA diukur menggunakan nanodrop.

Identifikasi secara molekuler isolat bakteri asam laktat dilakukan dengan menggunakan *amplicon sequencing* pada *platform* Illumina. Secara umum, daerah V3-V4 pada 16s rDNA diamplifikasi menggunakan teknik PCR. *Amplicon* hasil PCR dipurifikasi dan diukur kuantitasnya menggunakan *Qubit Fluorometer*. *Amplicon* kemudian di-sequencing pada *platform* Illumina miseq.

Pembuatan Tempe Modifikasi

Tempe dibuat berdasarkan penelitian sebelumnya dengan sedikit modifikasi (20). Secara umum, kacang kedelai (merk bola) dicuci bersih. Kacang kedelai direndam selama semalam kemudian direbus selama 5 menit. Kulit ari kedelai dikupas dan kacang kedelai tanpa kulit ari kemudian direndam kembali selama 8 jam untuk menurunkan pH kedelai kemudian direbus selama 3 menit. Kacang kedelai kemudian dikeringkan dan ditambah dengan ragi (*Raprima*) 1 gram/kg kedelai serta 5 gram/kg isolat bakteri asam laktat 10^9 CFU/gram yang telah dikeringbekukan. Campuran kemudian dimasukkan ke dalam plastik yang telah dilubangi dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Tempe yang terbentuk kemudian dimasukkan ke dalam plastik, dikemas vakum, dan disimpan pada kulkas suhu 4°C sebelum digunakan untuk analisis lebih lanjut.

Analisis Proksimat dan Flavonoid Tempe

Analisis proksimat dilakukan pada tempe modifikasi dan tempe kontrol menggunakan metode dari AOAC berdasarkan penelitian sebelumnya (20). Analisis kadar abu dan kadar air dilakukan melalui thermogravimetri. Analisis protein dilakukan dengan metode *Kjehdahl* dan analisis lemak dilakukan menggunakan *Soxhlet*.

Analisis flavonoid total pada tempe dilakukan menurut penelitian sebelumnya (7). Secara umum, sebanyak 5 gram tempe dilarutkan dengan 5 ml etanol. Campuran kemudian dihomogenisasi dengan *beads beater homogenizer* kecepatan 4000 RPM selama 1 menit sebanyak 3x pengulangan. Campuran kemudian disentrifugasi pada kecepatan 15.000 RPM selama 5 menit dengan suhu 4°C. Supernatan diambil untuk analisis total flavonoid. Supernatan diencerkan 100 kali untuk mendapatkan ekstrak etanol 100 mg/ml. Sebanyak 50 µl supernatan ditambah dengan 10 µl larutan aluminium klorida 10% dan 150 µl etanol. Pencampuran supernatan dilakukan dalam sumuran ELISA melalui pemipetan berulang sebelum ditambahkan 10 µl 1 M sodium asetat. Larutan blanko disiapkan menggunakan 50 µl etanol atau standar *quercetin* dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 µg/ml dalam etanol. Sumuran atau ELISA *plate* kemudian diinkubasi pada ruang gelap selama 40 menit suhu ruang. Setelah itu, absorbansi sampel dibaca pada spektrofotometer *Multiskan Sky High Thermo Scientific* dengan panjang gelombang 415 nm.

Analisis Data Penelitian

Analisis fragmen data *amplicon* dilakukan menggunakan perangkat lunak FLASH, UCHIME dan UPARSE untuk menghasilkan *clean reads*. Urutan DNA atau *sequence* kemudian dicocokkan dengan *database* Silva untuk menghasilkan tabel *operation taxonomic unit* (OTU). Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan perangkat lunak *microbiome analyst* (www.microbiomeanalyst.ca). Analisis statistik nilai gizi (kadar air, abu, karbohidrat, protein, lemak) dan flavonoid dilakukan menggunakan uji *t-independent* karena data terdistribusi normal. Uji ANOVA satu jalur dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan pada aktivitas beta-glukosidase antar-isolat. Uji Tukey dipilih sebagai uji perbandingan antar kelompok (*post-hoc test*). Nilai signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$.

HASIL

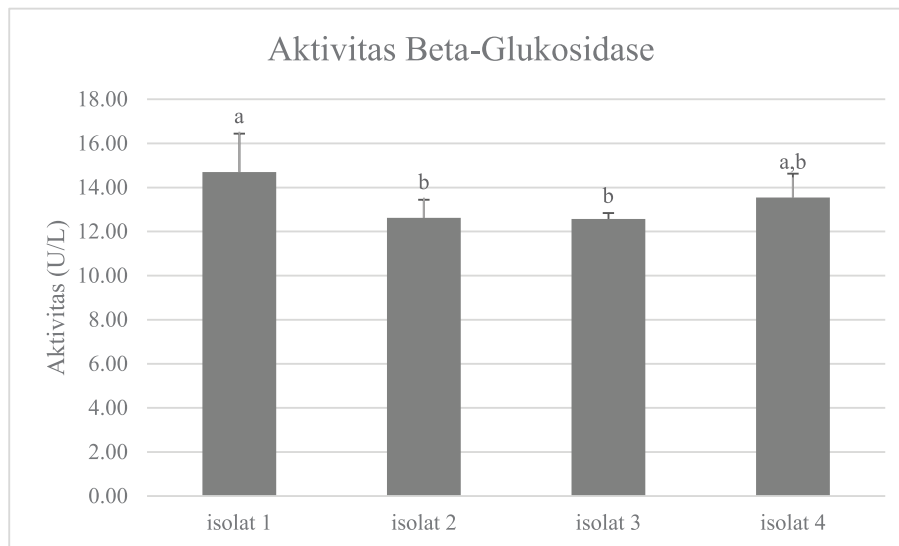
Aktivitas Enzim Beta-Glukosidase Komposisi Isolat Bakteri Asam Laktat Asal Growol

Terdapat empat isolat bakteri asam laktat penghasil beta-glukosidase pada growol yang ditunjukkan dengan koloni hitam pada media agar MRS yang disuplementasi dengan *esculin iron*. Hasil analisis aktivitas beta-glukosidase dari keempat isolat menunjukkan perbedaan yang signifikan antar-isolat bakteri asam laktat ($p=0,02$). Aktivitas enzim beta-glukosidase paling tinggi terdapat pada isolat bakteri asam laktat 1 ($14,70 \pm 1,74$ U/L) diikuti dengan isolat 4 ($13,55 \pm 1,08$ U/L). Hasil analisis *post-hoc* menunjukkan bahwa aktivitas beta-glukosidase isolat 1 tidak berbeda dengan isolat 4, namun berbeda signifikan dengan isolat 2 dan isolat 3 (**Gambar 1**).

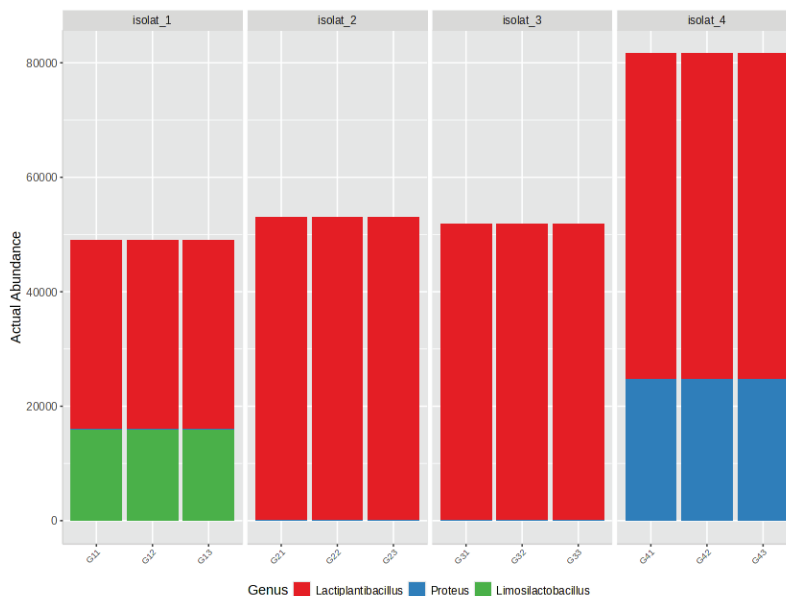
Selanjutnya, dilakukan identifikasi molekuler isolat bakteri asam laktat asal growol menggunakan *amplicon sequencing*. Hasil analisis metagenomik dari keempat isolat bakteri tersebut menunjukkan bahwa isolat 2 dan isolat 3 sudah murni karena hanya terdiri dari 1 jenis bakteri asam laktat dari genus *Lactiplantibacillus*. Hasil ini sesuai dengan hasil analisis aktivitas beta-glukosidase yaitu tidak terdapat perbedaan yang nyata antara isolat 2 dan isolat 3. Akan tetapi, isolat 1 dan isolat 4 masih belum murni karena masih mengandung bakteri lain. Pada isolat 1, genus bakteri *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus* dan *Limosilactobacillus* terdeteksi berdasarkan *amplicon sequencing*. Genus bakteri *Lactiplantibacillus* dan *Proteus* terdeteksi pada isolat 4 (**Gambar 2**).

Pengaruh Suplementasi Bakteri Asam Laktat terhadap Nilai Gizi dan Flavonoid Total Tempe

Terdapat hasil yang signifikan ($p < 0,01$) pada kadar air, abu, protein dan karbohidrat (*by difference*) antara kedua jenis tempe. Kadar air, abu, dan protein pada tempe modifikasi lebih tinggi dibandingkan tempe kontrol. Meskipun terdapat perbedaan pada kadar air, abu, protein dan karbohidrat, tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) pada kadar lemak antar kedua jenis tempe. Selain itu, hasil yang signifikan ($p < 0,01$) juga ditemukan pada kadar flavonoid total antar kedua jenis tempe. Pengaruh suplementasi bakteri asam laktat penghasil beta-glukosidase terhadap nilai proksimat dan flavonoid total ditampilkan pada **Tabel 1**.



Gambar 1. Aktivitas enzim beta-glukosidase pada isolat bakteri asam laktat asal growol. Data dinyatakan dalam nilai rata-rata±standar deviasi. Adanya perbedaan huruf mengindikasikan nilai $p < 0,05$ berdasarkan analisis *post hoc Tukey HSD*.



Gambar 2. Komposisi isolat bakteri asam laktat berdasarkan V3-V4 16s rRNA amplicon sequencing. Setiap bar pada gambar merepresentasikan kelimpahan aktual genus bakteri yang terbaca pada alat *Illumina sequencing*.

Tabel 1. Nilai gizi dan kadar flavonoid total tempe

Variabel	Kelompok		p
	Tempe kontrol	Tempe modifikasi	
Kadar air (%)	60,55±0,11	65,82±0,05	<0,001
Kadar abu (%)	1,31±0,05	1,53±0,003	<0,001
Protein (%)	23,02±0,30	25,35±0,12	<0,001
Lemak (%)	12,49±0,10	12,52±0,09	0,993
Karbohidrat (%)	32,07±0,33	33,70±0,32	<0,001
Flavonoid (mg/g)	0,13±0,001	0,25±0,005	<0,001

Data dinyatakan dalam rata-rata±standar deviasi
 Nilai p dihasilkan berdasarkan uji t-independent

PEMBAHASAN

Identifikasi Isolat Bakteri Asam Laktat dan Aktivitas Enzim Beta-Glukosidase

Penelitian ini berhasil mengisolasi empat isolat bakteri asam laktat penghasil beta-glukosidase dari growol, dengan isolat 1 menunjukkan aktivitas enzim tertinggi (14,70±1,74 U/L). Temuan ini konsisten dengan penelitian sebelumnya yang mengidentifikasi growol sebagai sumber bakteri asam laktat potensial,

khususnya dari genus *L. plantarum* dan *L. rhamnosus*. Kemampuan bakteri asam laktat untuk menghasilkan enzim beta-glukosidase merupakan karakteristik penting dalam biokonversi isoflavon, karena enzim ini dapat menghidrolisis ikatan beta-glukosidik pada isoflavon glukosida menjadi bentuk aglikon yang lebih mudah diserap (21,16,22).

Hasil identifikasi molekuler menggunakan amplicon sequencing menunjukkan bahwa isolat 1

mengandung campuran genus bakteri *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus*, dan *Limosilactobacillus*. Meskipun isolat ini belum murni, aktivitas beta-glukosidase yang tinggi mengindikasikan adanya sinergisme antar-spesies bakteri dalam kultur campuran. Fenomena kultur campuran dalam fermentasi tempe telah dilaporkan sebelumnya dapat meningkatkan aktivitas metabolik dan produksi senyawa bioaktif. Genus *Lactiplantibacillus* dikenal memiliki aktivitas beta-glukosidase yang signifikan dan telah banyak digunakan dalam biokonversi isoflavon pada produk kedelai fermentasi (23–25).

Pengaruh Suplementasi terhadap Nilai Gizi dan Flavonoid Total

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada kadar air, abu, protein, dan karbohidrat antara tempe kontrol dan tempe modifikasi. Peningkatan kadar air pada tempe modifikasi ($65,82 \pm 0,05\%$) dibandingkan tempe kontrol ($60,55 \pm 0,11\%$) dapat dikaitkan dengan aktivitas metabolik bakteri asam laktat selama fermentasi. Selama proses fermentasi, mikroorganisme melakukan degradasi molekul kompleks seperti karbohidrat serta menghasilkan air sebagai produk sampingan dari respirasi. Fenomena peningkatan kadar air selama fermentasi telah dilaporkan pada berbagai jenis tempe (26–28) yang menunjukkan aktivitas dari mikroorganisme yaitu jamur dan bakteri asam laktat.

Peningkatan kadar abu pada tempe modifikasi ($1,53 \pm 0,003\%$) dibandingkan tempe kontrol ($1,31 \pm 0,05\%$) mengindikasikan peningkatan kandungan mineral selama fermentasi. Hal ini sejalan dengan

penelitian sebelumnya yang melaporkan hasil yang serupa (20). Kadar abu yang diperoleh pada tempe modifikasi sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Agustia *et al.* (29). Selain itu, proses modifikasi pembuatan tempe melalui suplementasi bakteri asam laktat juga diharapkan mampu meningkatkan bioavailabilitas dari mineral seperti kalsium, magnesium, fosfor, dan zat besi. Hal ini disebabkan karena adanya degradasi senyawa anti-gizi seperti asam fitat selama proses fermentasi pembuatan tempe (30).

Peningkatan signifikan kadar protein pada tempe modifikasi ($25,35 \pm 0,12\%$) dibandingkan tempe kontrol ($23,02 \pm 0,30\%$) merupakan temuan penting yang menunjukkan efek positif suplementasi bakteri asam laktat dalam produksi tempe. Peningkatan ini dapat dijelaskan melalui beberapa mekanisme. Pertama, aktivitas proteolitik dari bakteri asam laktat dan *Rhizopus* menghasilkan enzim protease yang menghidrolisis protein kompleks menjadi peptida dan asam amino bebas. Proses hidrolisis ini meningkatkan nitrogen terukur dalam metode *Kjeldahl*, sehingga kadar protein terdeteksi lebih tinggi. Kedua, deaminasi asam amino selama fermentasi menghasilkan amonia (NH) yang berkontribusi terhadap peningkatan nitrogen total. Ketiga, kultur campuran bakteri asam laktat dapat meningkatkan aktivitas proteolitik dibandingkan monokultur *Rhizopus* saja (31–34).

Tidak adanya perbedaan signifikan pada kadar lemak ($p > 0,05$) antara tempe kontrol ($12,49 \pm 0,10\%$) dan tempe modifikasi ($12,52 \pm 0,09\%$) mengindikasikan bahwa suplementasi bakteri asam laktat tidak memengaruhi metabolisme lipid secara signifikan. Hal

ini berbeda dengan beberapa penelitian yang melaporkan penurunan kadar lemak selama fermentasi akibat aktivitas lipase yang dihasilkan oleh *Rhizopus oligosporus* (35). Adanya perbedaan ini kemungkinan disebabkan karena aktivitas enzim lipase yang berbeda antar-strain dan hanya diketahui melalui pemeriksaan genomik (36).

Selain itu, pada penelitian ini juga ditemukan perbedaan kadar flavonoid total yang sangat nyata ($p < 0,001$) pada tempe modifikasi ($0,26 \pm 0,01$ mg/g) dibandingkan tempe kontrol ($0,14 \pm 0,02$ mg/g). Peningkatan kadar flavonoid total yang hampir dua kali lipat merupakan bukti langsung dari aktivitas beta-glukosidase yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dalam mengonversi isoflavon glukosida menjadi aglikon isoflavon yang terukur sebagai flavonoid total. Enzim beta-glukosidase akan menghidrolisis ikatan beta-glukosidik pada molekul isoflavon glukosida (genistin, daidzin, glycitin) dan glukosa (22). Proses ini sangat penting karena aglikon isoflavon memiliki bioavailabilitas 2–3 kali lebih tinggi dibandingkan bentuk glukosida (10).

KESIMPULAN DAN SARAN

Suplementasi bakteri asam laktat penghasil beta-glukosidase asal growol memiliki dampak terhadap nilai gizi dan total flavonoid pada produk tempe yang dihasilkan. Optimasi kondisi fermentasi seperti konsentrasi inokulum, waktu fermentasi, dan suhu inkubasi dapat dilakukan untuk memaksimalkan biokonversi isoflavon dan peningkatan nilai gizi. Pengembangan *starter* kultur campuran yang terstandarisasi dengan rasio optimal antara bakteri asam laktat dan *Rhizopus* juga dapat menjadi fokus

penelitian selanjutnya untuk produksi tempe fungsional skala industri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh hibah peningkatan kapasitas doktor Universitas Gadjah Mada dan hibah Dana Masyarakat Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan tahun 2024.

DAFTAR PUSTAKA

1. Astawan M, Mardhiyyah Y, Wijaya C. Potential of bioactive components in tempe for the treatment of obesity. *Jurnal Gizi dan Pangan*. 2018 July 18;13:79–86.
2. Ahnan-Winarno AD, Cordeiro L, Winarno FG, Gibbons J, Xiao H. Tempeh: A semicentennial review on its health benefits, fermentation, safety, processing, sustainability, and affordability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021;20(2):1717–67.
3. Kusuma R, Widada J, Huriyati E, Julia M. Naturally acquired lactic acid bacteria from fermented cassava improves nutrient and anti-dysbiosis activity of soy tempeh | Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2021 Dec 7;9(A):1148–55.
4. Hashim N, Tai CW, Wen HX, Ismail A, Kong KW. Comparative evaluation of antioxidant properties and isoflavones of tempeh fermented in two different wrapping materials. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 2018 Aug 25;6(2):307–17.
5. Barus T, Titarsole NN, Mulyono N, Prasasty VD. Tempeh antioxidant activity using dpph method: effects

- of fermentation, processing, and microorganisms. *Journal of Food Engineering and Technology*. 2019 Dec 15;8(2):75–80.
6. Surya R, Romulo A, Suryani Y. Tempeh extract reduces cellular ROS levels and upregulates the expression of antioxidant enzymes. *Food Research*. 2021;5(3):121–8
 7. Mio Asni NS, Surya R, Mohmad Misnan N, Lim SJ, Ismail N, Sarbini SR, et al. Metabolomics insights of conventional and organic tempe during in vitro digestion and their antioxidant properties and cytotoxicity in HCT-116 cells. *Food Research International*. 2024 Nov 1;195:114951.
 8. Gómez-Zorita S, González-Arceo M, Fernández-Quintela A, Eseberri I, Trepiana J, Portillo MP. Scientific evidence supporting the beneficial effects of isoflavones on human health. *Nutrients*. 2020;12(12).
 9. Calvo MS, Uribarri J. Perspective: plant-based whole-grain foods for chronic kidney disease: the phytate-phosphorus conundrum. *Adv Nutr*. 2021 Dec 1;12(6):2056–67.
 10. Hsiao YH, Ho CT, Pan MH. Bioavailability and health benefits of major isoflavone aglycones and their metabolites. *Journal of Functional Foods*. 2020 Nov 1;74:104164.
 11. Borges C, Carrão-Panizzi M, Mandarino J, da Silva J, Benedetti S, Ida E. Contents and bioconversion of β -glycoside isoflavones to aglycones in the processing conditions of soybean tempeh. *Pesq agropec bras, Brasília*. 2016;51(3):271–9.
 12. Yuksekdag Z, Cinar Acar B, Aslim B, Tukenmez U. β -Glucosidase activity and bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones by potential probiotic bacteria. *International Journal of Food Properties*. 2017 Dec 31;20(sup3):S2878–86.
 13. Kameda T, Aoki H, Yanaka N, Kumrungsee T, Kato N. Production of Isoflavone Aglycone-enriched Tempeh with *Rhizopus stolonifer*. *Food Science and Technology Research*. 2018;24(3):493–9.
 14. Huang YC, Wu BH, Chu YL, Chang WC, Wu MC. Effects of tempeh fermentation with *Lactobacillus plantarum* and *Rhizopus oligosporus* on streptozotocin-induced type ii diabetes mellitus in rats. *Nutrients*. 2018 Aug 22;10(9):E1143.
 15. Kusuma RJ, Widada J, Huriyati E, Julia M. Therapeutic effects of modified tempeh on glycemic control and gut microbiota diversity in diabetic rats. *Current Nutrition & Food Science*. 2022 Oct 1;18(8):765–74.
 16. Nuraida L. A review: Health promoting lactic acid bacteria in traditional Indonesian fermented foods. *Food Science and Human Wellness*. 2015 June 1;4(2):47–55.
 17. Suhartatik N, Cahyanto MN, Rahardjo S, Miyashita, Rahayu ES. Isolation and identification of lactic acid bacteria producing β glucosidase from Indonesian fermented foods. *International Food Research Journal*. 2014;21(3):973–8.
 18. Lorn D, Nguyen TKC, Ho PH, Tan R, Licandro H, Waché Y. Screening of lactic acid bacteria for their potential use as aromatic starters in fermented vegetables. *International Journal of Food Microbiology*. 2021 July 16;350:109242.
 19. Ahmed A, Aslam M, Ashraf M, ul-Hassan Nasim F, Batool K, Bibi A. Microbial β -Glucosidases:

- Screening, Characterization, Cloning and Applications. JAEM. 2017 Aug 26;5(2):57–73.
20. Kusuma RJ, Ermamilia A. Analisis nilai gizi dan total bakteri asam laktat tempe probiotik. Ilmu Gizi Indonesia. 2024 Oct 31;8(1):15–24.
 21. Hati S, Vij S, Singh BP, Mandal S. β -Glucosidase activity and bioconversion of isoflavones during fermentation of soymilk. J Sci Food Agric. 2015 Jan;95(1):216–20.
 22. Lee SH, Lee NR, Ji J heun, Tak HJ, Lee YQ, Lee M, et al. Evolution-aided enhancement of β -glucosidase activity for improved conversion of isoflavone glucosides to aglycones by *Lactobacillus gasserii*. Food Chemistry. 2025 Nov 30;493:146055.
 23. Peng HT, Yang CY, Fang TJ. Enhanced β -glucosidase activity of *Lactobacillus plantarum* by a strategic ultrasound treatment for biotransformation of isoflavones in okara. Food Science and Technology Research. 2018;24(5):777–84.
 24. Tseng HC, Yang CY. Assessment of ultrasonic stress on survival and β -glucosidase activity of encapsulated *Lactiplantibacillus plantarum* brc 10357 in fermentation of black soymilk. Foods. 2022 Apr 25;11(9):1234.
 25. Ahmed N, Saeed M, Asghar A, Abdullah Butt M, Afzaal M, Saeed F, et al. Utilization of *Lactobacillus rhamnosus* as probiotic adjunct culture for the development of tempeh. International Journal of Food Properties. 2024 Dec 31;27(1):1279–89.
 26. Diniyah N, Windrati WS, Maryanto M, Purnomo BH, Wardani W. Karakterisasi tempe koro pedang (*Canavalia ensiformis* (L)) yang dibuat dengan variasi persentase ragi dan jenis pengemas. JRI. 2014;31(01):1–10.
 27. Milinda IR, Noer ER, Ayustaningwarno F, Dieny FF. Analisis sifat fisik, organoleptik dan kandungan asam lemak pada tempe mete dan tempe kedelai. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan. 2021;10(4):119–26.
 28. Aliyah N. pembuatan tempe kacang tunggak (*vigna unguiculanta*) dengan variasi lama fermentasi menggunakan inokulum tempe. Journal of Comprehensive Science. 2024 Jan;3(1):62–77.
 29. Agustia FC, Winarsi H, Fitriani A, Latifasari N. Impact of packaging variations on the amino acid profile, proximate content, and antinutritional components of tempeh from jack bean sprouts. Prev Nutr Food Sci. 2025 Feb 28;30(1):56–67.
 30. Teoh SQ, Chin NL, Chong CW, Ripen AM, How S, Lim JIL. A review on health benefits and processing of tempeh with outlines on its functional microbes. Future Foods. 2024 June 1;9:100330.
 31. Witono Y, Bambang Widjanarko S, Mujianto M, Tri Rachmawati D. Amino acids identification of over fermented tempeh, the hydrolysate and the seasoning product hydrolysed by calotropin from crown flower (*Calotropis gigantea*). International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology. 2015 Apr 10;5(2):103.
 32. Ishartani D, Sistiani D, Sari AM, Nursiwi A, Zaman MZ. Changes to the chemical and microbiological characteristics of *Leucaena*

- leucocephala seeds during tempeh fermentation in Pacitan, East Java. *Food Res.* 2021 July 4;5(S2):78–83.
33. Parhusip AJN, Layadi JP, Nugroho RDT. Production of protein hydrolysate from overripe tempeh catalyzed by bromelain. *Food Res.* 2024 Dec 27;8(6):386–94.
 34. Wu JY, Wee S, Ler SG, Henry CJ, Gunaratne J. Unraveling the impact of tempeh fermentation on protein nutrients: An in vitro proteomics and peptidomics approach. *Food Chemistry.* 2025 May 15;474:143154.
 35. Martín-Miguélez JM, Bross J, Prado D, Merino E, Perisé Moré R, Otero J, et al. Review: *Rhizopus* sp. beyond tempeh. An Occidental approach to mold-based fermentations. *International Journal of Gastronomy and Food Science.* 2025 Mar 1;39:101090.
 36. Chai Y, Li Z, Zheng W, Yang X, He J, Hu S, et al. Dissecting the high esterase/lipase activity and probiotic traits in *Lactiplantibacillus plantarum* b22: a genome-guided functional characterization. *Foods.* 2025 July 2;14(13):2354.
 37. Lo D, Romulo A, Lin JY, Wang YT, Wijaya CH, Wu MC. Effect of different fermentation conditions on antioxidant capacity and isoflavones content of soy tempeh. *AIMSAGRI.* 2022;7(3):567–79.
 38. Nurmilah S, Frediansyah A, Cahyana Y, Utama GL. Biotransformation and health potential of isoflavones by microorganisms in Indonesian traditional fermented soy products: A review. *Journal of Agriculture and Food Research.* 2024 Dec 1;18:101365.
 39. Lai YC, Chen BY, Hsieh JF, Yeh CC, Huang C, Kuo MI, et al. A Strategy for sustainable production of isoflavones from black soybean okara via solid-state co-fermentation. *fermentation.* 2025 Oct 29;11(11):619.
 40. Seong HJ, Bharti D, Kim SG, Yang KY, Nam SH. Production of soy aglycones as an alternative estrogen via innovative synergy of commercial and novel *Bacillus coagulans* NYO-derived enzymes. *Food Chemistry: X.* 2025 July;29:102732.

