

PENGARUH JENIS INOKULUM TERHADAP KANDUNGAN ASAM FOLAT PADA FERMENTASI TEMPE KEDELAI HITAM VARIETAS MALLIKA

Novian Wely Asmoro¹⁾

¹⁾Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Veteran Bangun Nusantara, Sukoharjo

Jl. Letjen Sudjono Humardhani, No.1, Jombor, Sukoharjo, Indonesia

Telp. +6285652174944, E-mail: novianwelyasmoro@gmail.com

Abstrak

Asam folat merupakan salah satu vitamin yang sangat penting bagi tubuh. Asam folat dapat diperoleh dari biji-bijian, telur, hati, sayuran hijau dan produk makanan fermentasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh inokulum tempe terhadap kandungan asam folat pada fermentasi tempe kedelai hitam var. Mallika. Pelaksanaan penelitian dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu: 1). Pembuatan inokulum tempe yang berasal dari biakan murni *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710, *Rhizopusoryzae* TKA and *Rhizopusstolonifer* L-153; 2). Analisis viabilitas spora pada inokulum yang telah dibuat; 3). Pembuatan tempe dari kedelai hitam varietas Mallika masing-masing menggunakan inokulum murni kemudian dilakukan analisis kandungan asam folatnya menggunakan metode *Trienzyme-Microbiological Assay* (AOAC 2004.05). Hasil penelitian menunjukkan kedelai hitam varietas Mallika memiliki kandungan asam folat: 3,1 mg/kg kedelai. Perlakuan perendaman, perebusan dan pengukusan pada proses pembuatan tempe menurunkan kandungan asam folat menjadi 0,1 mg/kg kedelai, kemudian fermentasi tempe kedelai hitam selama 48 jam dengan menggunakan inokulum *R. oryzae* TKA, *R. stolonifer* L-153 dan *R. oligosporus* NRRL 2710 masing-masing meningkatkan kandungan asam folat sebesar 0,9 mg/kg tempe; 1,7 mg/kg tempe dan 2,0 mg/kg tempe. Kandungan asam folat pada tempe kedelai hitam tertinggi diperoleh dari fermentasi menggunakan inokulum *R. oligosporus* NRRL 2710 yaitu sebesar 2,0 mg/kg tempe.

Kata kunci :Asam folat, inokulum, fermentasi, tempe, kedelai hitam

Abstract

Folic acid deficiency will increase the risks of megaloblastic anemia, neural tube defects (NTDs), coronary heart diseases and cancers. The main sources of folic acid from bean, egg, liver, green vegetables, milk and fermentation products. Raw soybean is one of the richest sources of folic acids. Soaking, boiling, and steaming soybean cause significant loss of folate during tempe preparation, but Rhizopus spp. fermentation has been reported to increase the folic acid content of boiled soybean. The aim of the study was to investigate the effects of tempe inoculum on changing in folic acid content from black soybean tempe (Var. Mallika). The research was conducted in three phases, the first step was making of inoculum tempe from Rhizopus oligosporus NRRL 2710, Rhizopusoryzae TKA and Rhizopusstolonifer L-153. The second analysis to calculate the viable spore inoculum. The third was making tempe from black soybean (Var. Mallika) with different inoculum and analysis to determine the folic acid content. Research found indicate that black soybeans (Var. Mallika) have 3,1 mg/kg folic acid content, soaking and boiling soybean caused loss of folic acid become 0,1 mg/kg in soybean ready for fermentation. Fermentation of tempe during 48hr used R.oryzae TKA, R. stolonifer L-153 and R. oligosporus NRRL 2710 caused an increase of boiled soybean contains folic acid subsequently 0,9 mg/kg; 1,7 mg/kg; and 2,0 mg/kg. The highest folic acid content from tempeh fermentation using inoculum R. oligosporus NRRL 2710.

Keywords: Folic acid, inoculum, fermentation, tempeh, black soybean

1. PENDAHULUAN

Asam folat merupakan kelompok vitamin larut air, nama lain dari asam folat yaitu asam *pteroylmonoglutamic* yang merupakan kelompok vitamin B. Asupan asam folat yang dianjurkan menurut FAO/WHO (2002), yaitu 400 µg/hari untuk dewasa, bahkan akan lebih tinggi untuk ibu hamil dan menyusui. Defisiensi asam folat yang dapat menyebabkan resiko penyakit jantung, anemia megaloblastik, *neural tube defect* (NTD) dan hiperhomosistemia (Tangkilisan, *et al.*, 2002, Iyer & Tomar, 2009, Wang, *et al.*, 2012). Sumber utama asam folat berasal dari sayuran hijau, hati, biji-bijian atau legum, kuning telur, gandum, susu, produk

fermentasi dan produk-produk sereal yang difortifikasi asam folat. Kandungan asam folat pada bahan makanan tersebut bervariasi hingga 400 µg/100g. Asam folat berperan sebagai koenzim dalam reaksi metabolisme asam amino dan nukleotida (Arcot, *et al.*, 2005, Burgess, *et al.*, 2009, Bailey, 2010).

Kandungan asam folat pada biji-bijian berkisar antara 100–600 µg/100 g. Kedelai merupakan salah satu biji-bijian yang menjadi sumber asam folat dan beberapa vitamin, kedelai memiliki kandungan asam folat 1,38 mg/kg–4,5 mg/kg (Arcot, *et al.*, 2002; Ginting, *et al.*, 2003; Bailey, 2010; Witthoft, 2011; Chew, *et al.*, 2012). Kedelai banyak diolah menjadi produk olahan seperti

tempe, kecap, dan tahu. Tempe merupakan salah satu produk fermentasi yang secara umum dibuat dari kedelai kuning, tetapi tempe juga dapat dibuat dari bahan baku lainnya seperti kedelai hitam.

Secara alami Asam folat memiliki struktur yang labil dan mudah putus serta teroksidasi pada ikatan strukturnya. Kondisi tersebut dapat menyebabkan kehilangan kandungan asam folat selama pemasakan dan penyiapan makanan. Proses perebusan sayuran hijau dan pengolahan kacang-kacangan menyebabkan kehilangan asam folat hingga 50% sampai 80%. Susu fermentasi, sayuran, wine, bir, roti dan makanan yang dihasilkan dari proses fermentasi, merupakan sumber makanan kaya asam folat. Peningkatan asam folat pada berbagai produk fermentasi terjadi karena adanya sintesis asam folat oleh kultur yang digunakan (Lin & Young, 2000; Burgess, *et al.*, 2009). Penelitian Crittenden, *et al.*, (2003) melaporkan pemilihan spesies dan strain bakteri memungkinkan dalam peningkatan kandungan asam folat pada produk susu fermentasi. Kombinasi menggunakan berberapa jenis strain seperti *S. thermophilus*, *Bifidobacterium spp.* dan *E. faecium* juga dapat meningkatkan kandungan asam folat pada susu hingga 6 kali lipat. Pada fermentasi kedelai menjadi tempe penggunaan jamur *R. oligosporus* dapat meningkatkan kandungan asam folat 4-5 kali dibandingkan kedelai sebelum difermentasi dengan lama waktu fermentasi 48 jam (Murata, *et al.*, 1970; Lin & Young, 2000).

Penelitian tentang tempe dari kedelai kuning telah banyak dipublikasikan, berbeda dengan tempe yang dibuat dari kedelai hitam masih sangat sedikit. Penelitian yang dilakukan oleh Nurrahman, (2008) Fermentasi tempe kedelai hitam menggunakan jamur *Rhizopus spp* yaitu *R. oligosporus*, *R. oryzae*, *R. stolonifer* memiliki karakter dan kecepatan fermentasi tempe yang berbeda-beda serta menghasilkan sifat organoleptik yang berbeda. Tempe kedelai hitam memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan tempe kedelai kuning, selain itu konsumsi tempe kedelai hitam juga dapat meningkatkan sistem imun selular Berdasarkan uraian tersebut diatas maka penelitian ini dimaksudkan untuk memberikan gambaran perubahan kandungan asam folat pada proses fermentasi tempe kedelai hitam.

2. METODE

2.1. Bahan & Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kedelai hitam varietas Mallika, strain *Rhizopus oryzae*TKAA, *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 dan *Rhizopus stolonifer* L-153 (Diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi PAU UGM). Bahan analisis asam folat meliputi reagen-reagen pengujian metode *Trienzyme-Microbiological Assay* sesuai dengan standar AOAC 2004.05. Peralatan pembuatan tempe meliputi :

kompor gas, pengukus, baskom, dan nampan. Peralatan yang digunakan dalam analisis antara lain : *Spectrofotometer uv vis*, oven listrik Memmert, FUW220PA *Electric Muffle Furnace Advantec*, eksikator, 2100 *Kjeltec Distillation Unit Foss Tecator*, alat Micro Soxhlet, timbangan analit Fujitsu, Vortex, sentrifuse *Eppendorf*, *hotplate*, Inkubator, alat-alat gelas, *Autoclave*, mikro pipet dan beberapa alat gelas lainnya.

2.2. Metode Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa tahap antara lain: 1). Pembuatan inokulum tempe dari 3 strain murni *R. oligosporus* NRRL 2710, *R. stolonifer* L-153, dan *R. oryzae* TKAA; 2). Pembuatan tempe kedelai hitam dengan jenis inokulum tempe yang berbeda; 3). Analisis proksimat dan kandungan asam folat pada kedelai hitam dan tempe kedelai hitam.

2.3. Pembuatan Inokulum Tempe & Tempe Kedelai Hitam

Inokulum tempe dibuat menjadi bentuk tepung dengan menggunakan bahan baku beras dan mikroorganisme yang digunakan adalah strain murni *R. oligosporus* NRLL 2710, *R. stolonifer* L-153, dan *R. oryzae* TKAA. Beras dicuci dan direbus menggunakan aquadest dengan perbandingan 2:1 (b/v) kemudian dimasukan kedalam erlenmeyer dan disterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, setelah disterilisasi bahan dibiarkan dingin hingga suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ lalu dipindahkan kedalam nampan steril ukuran 25x15x5cm. Media nasi yang telah dipindahkan kedalam nampan diinokulasi dengan suspensi spora sebanyak 1% dari 10^6 spora/ml, masing-masing dari *R. oligosporus* NRLL 2710 atau *R. stolonifer* L-153 atau *R. oryzae* TKAA. Inkubasi dilakukan selama 6 hari pada suhu kamar lalu dikeringkan menggunakan kabinet dryer pada suhu 45°C selama 24 jam kemudian dihancurkan dengan blender kecepatan sedang.

2.4. Analisis Kandungan Asam Folat

Analisis kandungan asam folat dilakukan dengan menggunakan metode *Trienzyme-Microbiological Assay* menggunakan bakteri *Enterococcus hirae* ATCC 8043 (AOAC, 2006; Chew, *et al.*, 2012). Pengujian dilakukan dengan melakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer $\alpha : 575 \text{ nm}$. Tahap-tahap analisis asam folat pada meliputi: 1). Ekstraksi sampel dengan metode *Trienzyme* untuk melepaskan asam folat dari matrik bahan makanan menggunakan panas dan bantuan enzim pemecah karbohidrat enzim α -amilase, pemecah protein enzim protease dan enzim konjugase untuk memotong rantai struktur asam folat. 2). Inkubasi mikrobial *Enterococcus hirae* ATCC 8043 pada ekstrak sebagai teknik untuk penentuan kadar folat. 3). Pengukuran pertumbuhan bakteri yang ditandai adanya kekeruhan media dengan

menggunakan spektrofotometer *uv vis* menggunakan absorbansi 575 nm.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Viabilitas Spora Inokulum Tempe

Viabilitas spora diukur dari inokulum tempe yang telah dibuat dari kultur murni jamur *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710, *Rhizopus stolonifer* L-153, dan *Rhizopus oryzae* TKAA dengan menggunakan nasi sebagai media untuk menumbuhkan jamur tersebut. Jumlah spora *Rhizopus spp.* yang digunakan untuk inokulasi media nasi sebanyak $9,7 \times 10^3$ spora/ml *R. stolonifer*, $6,1 \times 10^3$ spora/ml *R. oryzae* dan $1,16 \times 10^4$ spora/ml *R. oligosporus* dengan waktu inkubasi selama 6 hari pada suhu kamar. Pada Tabel 1. dapat dilihat bahwa spora viabel yang dihitung setelah pengeringan inokulum selama 24 jam pada suhu 45°C menggunakan kabinet *dryer* spora viabel sebesar $8,15 \times 10^6$ cfu/g pada inokulum *R. stolonifer*, $4,85 \times 10^6$ cfu/g pada inokulum *R. oryzae* dan $1,4 \times 10^7$ cfu/g pada inokulum *R. oligosporus*. Perhitungan viabilitas spora pada inokulum tempe digunakan untuk menentukan kualitas inokulum tempe yang digunakan dalam proses fermentasi pembuatan tempe. Pada proses pembuatan tempe pertumbuhan kapang yang baik minimal terdapat spora 10^3 - 10^4 cfu/g pada proses inkubasi awal sehingga dapat menekan pertumbuhan bakteri dan jamur yang tidak diinginkan. Wang, *et al.* (2012) dalam penelitiannya juga merekomendasikan penggunaan inokulum untuk pembuatan tempe sebanyak 1×10^6 spora/100 g kedelai. Pertumbuhan miselia jamur *Rhizopus spp.* pada awal inkubasi tempe dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk. Pada tahap selanjutnya dalam penelitian ini, inokulum yang digunakan pada pembuatan tempe sebanyak 0,1% yaitu 1 g inokulum/1 kg kedelai, sehingga total spora awal inkubasi tempe sebanyak 10^3 cfu/g.

Tabel 1. Data Viabilitas Spora Inokulum Tempe

Jenis Inokulum	Spora Viabel Inokulum Tempe (cfu/g)
<i>Rhizopus stolonifer</i>	$8,15 \times 10^6$
<i>Rhizopus oryzae</i>	$4,85 \times 10^6$
<i>Rhizopus oligosporus</i>	$1,4 \times 10^7$

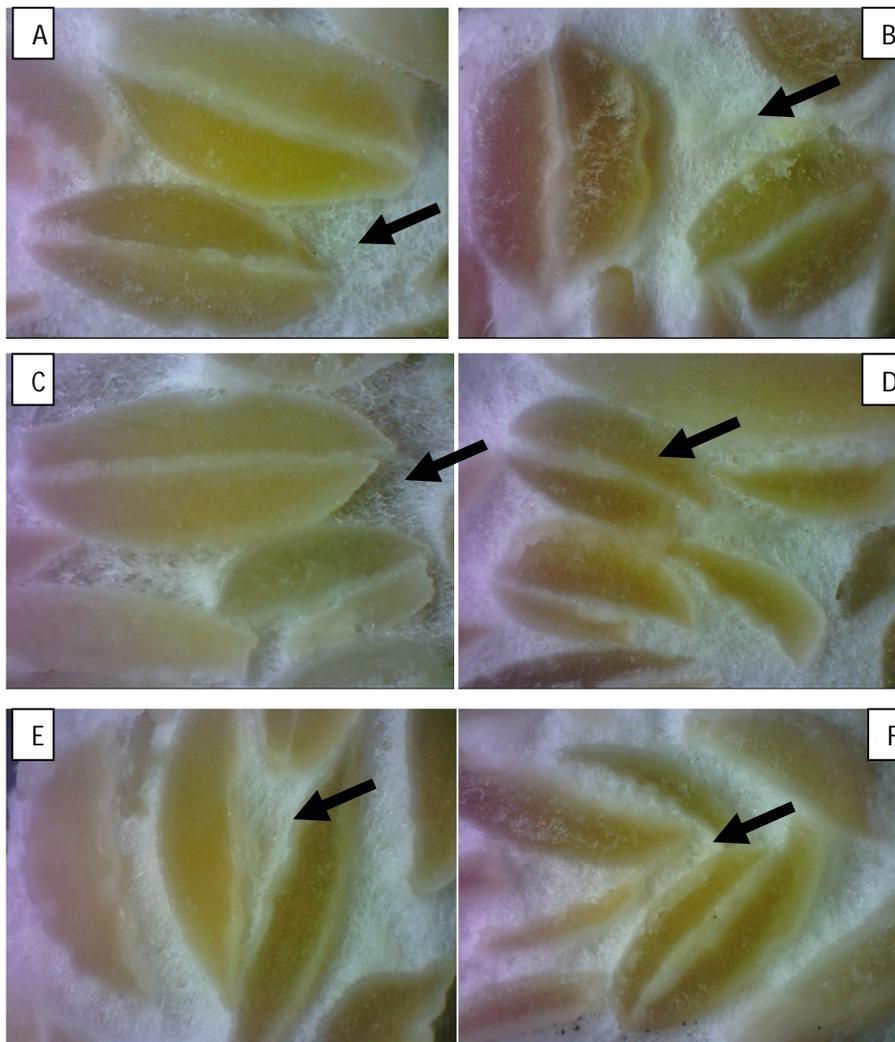
3.2. Gambaran Mikroskopik Jamur Pada Tempe Kedelai Hitam

Pertumbuhan jamur *Rhizopus spp.* pada tempe dapat dilihat secara detail pada Gambar 1. Gambaran mikroskopik jamur digunakan untuk melihat perbedaan pertumbuhan miselia pada masing-masing inokulum dari ketiga jenis jamur *Rhizopus spp.*

Secara umum pada waktu inkubasi 36 jam tempe, miselia jamur *Rhizopus spp.* sudah tumbuh menyebar dan mengikat biji kedelai satu sama lainnya, tetapi rongga-rongga udara pada miselia masih tampak. Hal tersebut berbeda bila dibandingkan dengan pertumbuhan miselia pada waktu inkubasi 48 jam, miselia sudah tumbuh menyebar dan rapat tanpa ada rongga-rongga yang terlihat, selain itu sudah terlihat adanya penetrasi miselia kedalam biji kedelai. Pada waktu inkubasi yang sama yaitu 36 jam, tempe yang menggunakan inokulum *R. oligosporus* terlihat memiliki miselia yang lebih rapat bila dibandingkan dengan inokulum *R. oryzae*, dan *R. stolonifer*. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan pertumbuhan *R. oligosporus* pada tempe selama inkubasi 36 jam lebih cepat dibandingkan dengan kedua inokulum yang lain. Pertumbuhan jamur *Rhizopus spp.* pada tempe dengan waktu inkubasi 36 dan 48 jam diikuti pula dengan peningkatan kandungan asam folat pada tempe kedelai hitam.

3.3. Nilai Gizi Pada Kedelai Hitam dan Tempe

Hasil analisis gizi kedelai hitam dan tempe disajikan pada Tabel 2. nilai gizi tempe kedelai hitam yang ditampilkan yaitu tempe dengan inokulum *R. oligosporus* NRLL 2710 dengan waktu inkubasi 48 jam. Proses fermentasi kedelai menjadi tempe menyebabkan perubahan biokimia yang dapat meningkatkan nilai gizi pada tempe. Perubahan tersebut terjadi karena adanya aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikrobia selama fermentasi tempe berlangsung. Jamur *Rhizopus spp.* dapat memproduksi enzim amilase, lipase dan protease. Enzim-enzim tersebut dapat mendegradasi makronutrien menjadi substansi molekul yang lebih kecil dengan kelarutannya lebih tinggi. Kandungan abu pada kedelai hitam sebesar 5,49% menurun setelah proses fermentasi pada tempe menjadi sebesar 2,70%, penurunan mineral tersebut. Menurut Astuti, *et al* (2000) penurunan mineral diduga karena kalsium terikat pada ikatan kompleks jembatan protein-fitat. Kalsium tersebut sebagian akan hilang dibebaskan bersama ikatan air selama fermentasi berlangsung. Kandungan protein pada tempe sebesar 63,01% lebih tinggi dibandingkan dengan protein pada kedelai hitam sebesar 45,93%. Selama proses fermentasi jamur *R. oligosporus* dapat menghasilkan enzim-enzim proteolitik sehingga dapat memecah protein menjadi asam-asam amino.



Gambar 1. Mikroskopi pertumbuhan jamur *Rhizopus spp.* pada tempe inkubasi 36 jam dan 48 jam. (A : Tempe inokulum *R. oryzae* inkubasi 36 jam; B : Tempe *R. oryzae* inkubasi 48 jam; C : Tempe inokulum *R. stolonifer* inkubasi 36 jam; D : Tempe *R. stolonifer* inkubasi 48 jam; E : Tempe inokulum *R. oligosporus* inkubasi 36 jam; F : Tempe *R. oligosporus* inkubasi 48 jam).

Tabel 2. Kandungan Nilai Gizi Pada Kedelai Hitam dan Tempe kedelai Hitam

Komposisi	Kedelai hitam	Tempe
Kadar air (%)	13,35 ± 0,16	61,68 ± 0,51
Kadar abu (%) bk	5,49 ± 0,09	2,70 ± 0,17
Kadar protein (%) bk	45,93 ± 0,56	63,01 ± 1,48
Kadar lemak (%) bk	16,49 ± 0,89	8,69 ± 0,91
Karbohidrat (%) bk (by different)	32,09 ± 1,20	25,65 ± 2,10

Keterangan: analisis berdasarkan kandungan bahan kering (%bk), rerata dari 3 ulangan

Kandungan lemak pada kedelai hitam sebesar 16,49% menurun akibat fermentasinya menjadi tempe sebesar 8,69%, hal tersebut karena sebagian lemak dari kedelai terhidrolisis oleh enzim lipase yang diproduksi selama fermentasi oleh *R. oligosporus* menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Asam lemak bebas digunakan sebagai sumber energi pada pertumbuhan jamur selama fermentasi tempe. Penelitian Pawiroharsono (1997), melaporkan bahwa komponen lemak dimetabolisme selama fermentasi tempe oleh mikroorganisme, sekitar 40-50% asam lemak dibebaskan sehingga menyebabkan perubahan kandungan lemak pada tempe.

3.4. Kandungan Asam Folat Pada Tempe Kedelai Hitam

Kandungan asam folat pada tempe dengan berbagai jenis dapat dilihat pada tabel 3. Pada fermentasi tempe dengan waktu inkubasi 48 jam menunjukkan berbeda nyata masing-masing penggunaan jenis inokulum *Rhizopus spp.* Dari hasil analisa, kedelai hitam varietas Mallika yang digunakan memiliki kandungan asam folat sebesar 3,1 mg/kg. Menurut Arcott, *et al.* (2002); Ginting & Arcott, (2004) & Ginting, *et al.* (2003) bahwa kandungan asam folat pada kedelai kering berkisar antara 1,38 mg/kg – 4,5 mg/kg. Perbedaan kandungan asam folat pada kedelai dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain varietas, kondisi tumbuh, kondisi penyimpanan serta metode yang digunakan untuk analisis (Mo, *et al.*, 2013).

Proses perendaman dan perebusan kedelai sebelum mengalami fermentasi kandungan asam folat turun menjadi 0,1 mg/kg kedelai, hal tersebut terlihat pada jam ke-0 fermentasi. Dari hasil analisa kandungan asam folat tertinggi ada pada tempe dengan inokulum *R. oligosporus*, inkubasi 48 jam yaitu 2,0 mg/kg. Sedangkan kandungan asam folat pada tempe dengan inokulum *R. oryzae* sebesar 0,9 mg/kg dan pada tempe dengan menggunakan inokulum *R. stolonifer* sebesar 1,1 mg/kg. Hal ini menunjukkan bahwa inokulum *R. oligosporus* yang digunakan untuk fermentasi kedelai menjadi tempe dapat meningkatkan kandungan asam folat lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan jenis inokulum yang lain. Menurut Murata, *et al.* (1970), peningkatan kandungan asam folat selama fermentasi tempe kemungkinan disebabkan oleh pelepasan komponen folat pada kedelai oleh aktivitas enzim yang dihasilkan oleh jamur *Rhizopus spp* dan mikroorganisme lain. Selain keterlibatan jamur, peningkatan asam folat juga kemungkinan karena disintesis oleh bakteri. Bakteri asam laktat yang diteliti pada beberapa produk makanan dan minuman fermentasi seperti yoghurt oleh Crittenden, *et al.* (2003) asam folat dominan diproduksi dan meningkat selama fermentasi

berlangsung karena dapat disintesis oleh beberapa bakteri seperti *S. thermophilus*, *bifidobacteria*, dan *E. faecium*. Sejalan dengan penelitian yang dilaporkan oleh Wiesel & Bisping (1997) terhadap perubahan vitamin pada tempe, salah satunya yaitu asam folat pada kedelai sebelum fermentasi sebesar 0,2 µg/g *dry weight* kemudian kandungan asam folat berubah pada tempe yang menggunakan inokulum *R. oryzae* menjadi sebesar 0,30 µg/g *dry weight* dan 0,55 µg/g *dry weight* pada tempe dengan inokulum *R. oligosporus*.

Menurut Roubos (2010), mikroflora yang terlibat dalam proses fermentasi tempe sangat kompleks karena selama pembuatan tempe dapat menghasilkan kultur campuran dari jamur, yeast, bakteri asam laktat maupun bakteri yang lain. Bakteri asam laktat selama fermentasi tempe dapat tumbuh hingga 10⁹ cfu/g dan yeast juga dapat tumbuh hingga 10⁵ cfu/g. Kompleksnya kultur selama fermentasi berlangsung tersebut yang memungkinkan peningkatan nilai gizi pada tempe salah satunya asam folat karena asam folat dapat disintesis oleh jamur, yeast dan bakteri asam laktat. Analisis keterlibatan bakteri selama fermentasi tempe kedelai hitam pada penelitian ini tidak dilakukan, tetapi sebagai asumsi tempe yang dibuat dari jenis inokulum jamur yang berbeda memiliki kondisi aktivitas bakteri yang sama sehingga yang membedakan hanya jenis jamur dari kelompok *Rhizopus spp.* yang digunakan. Perbedaan kandungan asam folat pada tempe kedelai hitam dengan jenis inokulum yang berbeda dapat diasumsikan bahwa asam folat dapat disintesis oleh jamur tempe.

Selama fermentasi perubahan asam folat kemungkinan juga terkait dengan aktivitas enzim protease karena enzim protease dapat memecah protein sehingga pembebasan komponen asam folat dari komponen protein kedelai dapat terjadi selama fermentasi berlangsung. Kaitan yang erat antara asam folat dan aktivitas enzim protease karena asam folat merupakan asam pteroylmonoglutamat yang dapat terdiri atas residu monoglutamat atau poliglutamat. Aktivitas enzim protease selama fermentasi dapat menghidrolisis ikatan polipeptida protein dan memecah protein menjadi asam amino-asam amino termasuk asam glutamat merupakan salah satu asam amino penyusun protein (Murata, *et al.*, 1970; Lin & Young, 2000). Menurut Burgess, *et al.* (2009) sintesis asam folat membutuhkan prekursor GTP, p-aminobenzoate (pABA) dan glutamat serta melibatkan beberapa enzim. Asam folat dapat disintesis oleh jamur, yeast dan bakteri asam laktat tersebut.

Tabel. 3. Asam Folat Pada Kedelai Hitam dan Tempe Kedelai Hitam

Lama Inkubasi (Jam)	AsamFolat (mg/kg) (inokulum)		
	<i>R. oryzae</i>	<i>R. stolonifer</i>	<i>R. oligosporus</i>
Kedelai	3,1		
0	0,1 ^a	0,1 ^a	0,1 ^a
48	0,9 ^b	1,1 ^b	2,0 ^c

Keterangan : *Superskript* berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada masing-masing kelompok ($\alpha = 0,05 \%$)

4. SIMPULAN

Kedelai hitam varietas Mallika dan tempe inkubasi 0 jam masing-masing memiliki kandungan asam folat sebesar 3,1 mg/kg dan 0,1 mg/kg; pada kondisi fermentasi yang sama tetapi menggunakan inokulum berbeda, yaitu masing-masing *R. oryzae* TKA, *R. stolonifer* L-153 dan *R. oligosporus* NRRL 2710 dengan inkubasi 48 jam kandungan asam folat tempe kedelai hitam meningkat menjadi sebesar 0,9 mg/kg; 1,7 mg/kg dan 2,0 mg/kg dibandingkan tempe inkubasi 0 jam. Tempe kedelai hitam yang difermentasi menggunakan inokulum *R. oligosporus* menghasilkan kandungan asam folat yang tertinggi sebesar 2,0 mg/kg.

5. DAFTAR PUSTAKA

AOAC International 2006. International AOAC Official Method 2004.05. *Total Foliates In Cereals And Cereals Foods. Microbiological Assay-Trienzyme Procedure*. Official Methods of Analysis of AOAC International, AOAC International: Arlington, VA.

Arcot, J. dan Ashok, S., 2005. "Folate: Methods of Analysis". *Trends in Food Science & Technology*, 16:253-266.

Arcot, J., Wong, S., & Ashok, K., S., 2002. "Comparison of Folate Losses In Soybean During The Preparation of Tempeh And Soymilk". *J Sci Food Agric*, 82:1365-1368.

Astuti, M., Meliala, A., Dalais, F. S., & Mark L., 2000. "Tempe, A Nutritious And Healthy Food From Indonesia". *Asia Pacific J Clin Nutr*. 9(4): 322-325.

Bailey, L. B., 2010. "Folate In Health And Disease". CRC Press, New York .

Burgess, C. M., Eddy J. S., & Sinderen, D. V., 2009. "Bacterial Vitamin B2, B11 And B12 Overproduction: An Overview". *International Journal of Food Microbiology*. 133 : 1-7.

Chew, S.C., Loh, S.P., & Khor, G.L., 2012. "Determination of Folate Content In Commonly Consumed Malaysian Foods". *International Food Research Journal* 19(1): 189-197.

Crittenden, R.G., Martinez, N.R. & Playne, M.J., 2003. "Synthesis And Utilisation Of Folate By Yoghurt Starter Cultures And Probiotic Bacteria". *International Journal of Food Microbiology*. 80:217- 222.

Ginting, E., Jayashree Arcot, & Julian M. Cox., 2003. "Determination of Folate Retention During Tofu Preparation Using Trienzyme Treatment And Microbiological Assay". *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 4(1): 12-17.

Ginting, E. & Arcot, J.M., 2004. "High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Naturally Occurring Foliates During Tempe Preparation". *J. Agric. Food Chem*. 52, 7752-7758.

Iyer, R. & Tomar, S.K., 2009. "Folate: A Functional Food Constituent". *Journal of Food Science*. Vol. 74, Nr. 9.

Lin, M.Y. & Young, C.M. 2000. "Folate Levels in Cultures of Lactic Acid Bacteria". *International Dairy Journal*, 10 : 409-413.

Mo, H., Kaliruoto, S., Piironen, V., Zhu, Y., Sanders, M.G., Vincken, J.P., Rooijackers, J.W., & Nout, M.J.R., 2013. "Effect of Soybean Processing on Content and Bioaccessibility of Folate, Vitamin B12 and Isoflavon in Tofu and Tempe". *Journal Food Chemistry*, 141: 2418-2425.

Murata K., Miyamoto, T., Kokufu, E. & Sanke, Y., 1970. "Studies on The Nutritional Value of Tempeh. III. Changes in Biotin And Folic Acid Contents During Tempeh Fermentation". *The Journal of Vitaminology*. 16: 281-284.

Nurrahman., 2012. "Potensi Tempe Kedelai Hitam Dalam Meningkatkan Kadar IgA Sekretori Dan Proliferasi Limfosit in Vivo". Disertasi

- Program Studi Ilmu Pangan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Pawiroharsono, Suyanto., 1997. "*Prospect of Tempe As Functional Food*". Proceedings International Tempe Symposium. Yayasan Tempe Indonesia, Jakarta.
- Roubos-van den Hil dan Petra, J., 2010. "*Bioactive Components of Fermented soya Beans Effective Against Diarrhoea-Associated Bacteria*". Ph.D. thesis, Wageningen University, ISBN 978-90-8585-713-6, Netherlands.
- Tangkilisan, H. Anneke., dan Rumbajan, D., 2002. "Defisiensi Asam Folat". *Sari Pediatri*, Vol. 4, No. 1, Juni: 21 – 25.
- Wang, Z. M., Zhou, Nie, Gaoa, W., Wang, Y.S., Zhao, H., Zhu, Yan, J.J., Yang, Z.J., & Wang, L.S., 2012. "Folate And Risk of Coronary Heart Disease: A Meta-Analysis of Prospective Studies". *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 22: 890-899.
- Wiesel, Rehm dan Bisping, B., 1997. "*Improvement of Tempe Fermentations By Application of Mixed Cultures Consisting of Rhizopus Sp. And Bacterial Strains*". *Appl Microbiol Biotechnol*. 47: 218-225
- Witthoft, C.M., 2011. "*Folates*". Elsevier Ltd. All rights reserved. p: 678-686.