

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tempe merupakan salah satu produk bioteknologi tradisional asli Indonesia yang telah dikenal luas sebagai pangan fermentasi dengan nilai gizi tinggi. Tempe tidak hanya berperan sebagai sumber protein nabati yang penting, tetapi juga dikenal sebagai pangan fungsional karena mengandung berbagai komponen bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan. Secara umum, proses pembuatan tempe dilakukan melalui fermentasi biji kedelai menggunakan kapang dari genus *Rhizopus*, terutama *Rhizopus oligosporus*. Kapang ini berperan aktif dalam mengubah struktur biji kedelai menjadi massa kompak yang diselimuti miselia putih, sehingga menghasilkan tekstur padat khas tempe yang mudah dicerna oleh tubuh (Putri *et al.*, 2025).

Di Indonesia, kedelai hitam merupakan salah satu komoditas pangan strategis yang pemanfaatannya terus berkembang, meskipun produksinya masih jauh lebih rendah dibandingkan kedelai kuning. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS), produksi kedelai nasional dalam beberapa tahun terakhir masih mengalami fluktuasi akibat perubahan luas panen, produktivitas lahan, serta alih fungsi lahan pertanian. Kondisi tersebut menyebabkan kebutuhan kedelai, baik untuk konsumsi maupun industri pangan masih banyak dipenuhi melalui impor. Meskipun data produksi nasional umumnya tidak memisahkan antara kedelai kuning dan kedelai hitam, budidaya kedelai hitam di Indonesia terus dikembangkan melalui pelepasan beberapa varietas unggul nasional, seperti Mallika, Cikuray, dan Detam

yang memiliki kandungan protein dan senyawa bioaktif relatif tinggi. Pengembangan varietas lokal tersebut menjadi penting sebagai upaya meningkatkan diversifikasi pangan berbasis kedelai sekaligus mendukung kemandirian bahan baku industri fermentasi di Indonesia (Ramadhani & Sumanjaya, 2014).

Fermentasi merupakan tahap yang sangat penting dalam pembentukan karakteristik fisik, kimia, dan nutrisi tempe. Selama fermentasi berlangsung, terjadi berbagai transformasi biokimia yang melibatkan aktivitas metabolik mikroorganisme fermentatif. Transformasi ini ditandai dengan penguraian senyawa kompleks yang terdapat dalam kedelai, seperti protein, karbohidrat, dan lipid, menjadi molekul yang lebih sederhana dan lebih mudah diserap oleh tubuh manusia. Dalam proses ini, kapang *Rhizopus* menghasilkan berbagai enzim hidrolitik yang berperan dalam proses degradasi makromolekul, di antaranya enzim amilase yang menghidrolisis karbohidrat, enzim lipase yang menguraikan lipid, serta enzim protease yang berperan dalam degradasi protein (Rahayu *et al.*, 2019).

Enzim protease merupakan kelompok enzim hidrolitik yang mampu memutus ikatan peptida pada molekul protein, sehingga menghasilkan fragmen protein yang lebih sederhana. Aktivitas protease selama fermentasi tempe berperan penting dalam meningkatkan daya cerna protein (Rahayu *et al.*, 2019). Protein kompleks yang terkandung dalam kedelai hitam, seperti globulin dan albumin, secara bertahap diuraikan menjadi peptida dan asam amino bebas melalui aktivitas proteolitik kapang fermentatif. Selain itu, produk hasil hidrolisis protein, seperti peptida bioaktif diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antihipertensi, serta

berperan dalam meningkatkan nilai fungsional pangan fermentasi (Wulandari *et al.*, 2023).

Aktivitas enzim protease sangat dipengaruhi oleh lamanya waktu fermentasi. Aktivitas enzim mulai meningkat pada fase awal pertumbuhan miselia, kemudian mencapai kondisi optimum seiring dengan meningkatnya pertumbuhan kapang, sebelum akhirnya menurun pada fase fermentasi lanjut atau pembusukan. Penelitian yang dilakukan oleh Rahayu *et al.* (2019) menunjukkan bahwa aktivitas enzim protease terdeteksi mulai meningkat tajam sejak awal pertumbuhan miselia (sekitar 12-24 jam) dan mencapai puncaknya seiring dengan kepadatan pertumbuhan kapang *Rhizopus* pada media, sebelum akhirnya menurun ketika fermentasi memasuki fase lanjut atau fase pembusukan. Penelitian lainnya oleh Putri *et al.* (2025) menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas protease selama fermentasi oleh *Rhizopus* berkaitan erat dengan perubahan kadar protein terlarut dalam tempe. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar protein tertinggi dicapai pada fermentasi 48 jam dengan nilai 2.650 µg/mL dan ditandai dengan munculnya pita protein mayor pada berat molekul 40 kDa berdasarkan analisis SDS-PAGE. Proses fermentasi yang berlangsung terlalu lama dan melewati batas waktu optimum dapat menyebabkan degradasi protein lebih lanjut menjadi senyawa nitrogen sederhana, seperti amonia (NH_3) yang menimbulkan aroma tidak sedap dan menandakan terjadinya fase pembusukan pada tempe. Penelitian yang dilakukan oleh Lusihanne *et al.* (2023) melaporkan bahwa aktivitas enzim protease pada fermentasi koji kedelai dengan *Aspergillus oryzae* meningkat seiring berlangsungnya fermentasi. Aktivitas protease netral mencapai puncaknya pada fermentasi 48 jam sebesar 84,38 unit/g berat

kering, sedangkan aktivitas protease alkali mencapai nilai tertinggi pada 72 jam sebesar 41,35 unit/g berat kering. Temuan tersebut menunjukkan bahwa lama fermentasi merupakan faktor penting yang memengaruhi aktivitas enzim protease selama proses fermentasi.

Selain faktor waktu fermentasi, jenis bahan baku kedelai yang digunakan juga berpengaruh terhadap proses fermentasi. Salah satu jenis kedelai yang mulai banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku tempe adalah kedelai hitam, karena memiliki kandungan protein dan antioksidan yang tinggi, sehingga berpotensi menghasilkan produk tempe dengan nilai nutrisi yang lebih baik (Amalia *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Cho *et al.* (2013) menunjukkan bahwa kadar protein pada kedelai hitam berada pada kisaran 41,38% hingga 44,32% berat kering, sedangkan kedelai kuning memiliki kadar protein yang sedikit lebih rendah, yaitu sekitar 38,97% hingga 41,45% berat kering. Tingginya kandungan protein tersebut menjadikan kedelai hitam berpotensi sebagai substrat yang baik bagi pertumbuhan *Rhizopus* dan produksi enzim protease selama fermentasi.

Meskipun berbagai penelitian mengenai fermentasi tempe telah banyak dilakukan, kajian mengenai dinamika aktivitas enzim protease pada tempe kedelai hitam masih terbatas. Sebagian besar penelitian sebelumnya lebih berfokus pada analisis profil protein atau potensi bioaktivitas tempe, serta lebih banyak menggunakan kedelai kuning sebagai bahan baku utama tempe. Sebagai contoh, penelitian pada tempe mendoan asal Cilacap yang dilakukan oleh Putri *et al.* (2025) lebih berfokus pada analisis profil protein menggunakan metode SDS-PAGE pada

beberapa durasi waktu fermentasi, yaitu 24, 48, dan 72 jam. Penelitian tersebut berfokus pada identifikasi perubahan pola pita protein yang terbentuk selama proses fermentasi, sehingga memberikan gambaran mengenai degradasi protein kedelai secara kualitatif. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Putri *et al.* (2023) mengenai tempe kedelai hitam juga banyak dikaitkan dengan potensi medisnya, seperti aktivitas fibrinolitik yang mampu melisis bekuan darah hingga sebesar 59%. Namun demikian, penelitian yang secara khusus membahas mengenai dinamika aktivitas enzim protease selama fermentasi tempe kedelai hitam masih terbatas.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini difokuskan pada analisis dinamika aktivitas enzim protease selama fermentasi tempe kedelai hitam dengan variasi waktu fermentasi 0–72 jam. Pendekatan ini memungkinkan untuk memperoleh gambaran yang lebih jelas mengenai dinamika aktivitas enzim protease, sehingga dapat diketahui pola peningkatan maupun penurunan aktivitas enzim selama proses fermentasi tempe kedelai hitam berlangsung. Selain itu, penelitian ini juga mengaitkan aktivitas enzim protease dengan perubahan komponen protein selama fermentasi, sehingga dapat memberikan gambaran mengenai peran enzim protease dalam proses hidrolisis protein kedelai. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pola perubahan aktivitas enzim protease dan menentukan waktu fermentasi optimum untuk menghasilkan aktivitas protease tertinggi. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah dalam pengendalian proses fermentasi tempe kedelai hitam, sehingga diperoleh produk dengan kualitas gizi dan karakteristik yang lebih baik.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana dinamika aktivitas enzim protease pada tempe kedelai hitam selama proses fermentasi?
- 1.2.2 Bagaimana pengaruh variasi waktu fermentasi terhadap aktivitas enzim protease pada tempe kedelai hitam?
- 1.2.3 Berapakah waktu fermentasi optimal yang menghasilkan aktivitas enzim protease tertinggi pada tempe kedelai hitam?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Menganalisis dinamika aktivitas enzim protease pada tempe kedelai hitam selama proses fermentasi.
- 1.3.2 Menganalisis pengaruh variasi waktu fermentasi terhadap aktivitas enzim protease pada tempe kedelai hitam.
- 1.3.3 Menentukan waktu fermentasi optimal yang menghasilkan aktivitas enzim protease tertinggi pada tempe kedelai hitam.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah, khususnya terkait dinamika aktivitas enzim protease selama proses fermentasi tempe kedelai hitam. Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah, serta referensi bagi akademisi dan peneliti dalam memahami perubahan aktivitas enzim protease yang dipengaruhi oleh variasi waktu fermentasi. Selain itu, penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat praktis bagi produsen tempe

sebagai dasar dalam menentukan waktu fermentasi yang optimal guna meningkatkan kualitas gizi, mutu, dan konsistensi produk tempe kedelai hitam, serta turut mendukung upaya pelestarian dan pengembangan produk pangan lokal berbasis kedelai hitam.