Chemical Characteristics and Antioxidant Activity of Peanut Tempeh Flour Fermented with *Rhizopus* sp. After Ultrasonic Pre-Treatment

Karakteristik Kimia dan Aktivitas Antioksidan Tepung Tempe Kacang Tanah Fermentasi *Rhizopus* sp. Setelah Pra-Perlakuan Ultrasonik

Reza Astika Wahyu Pramesti[1], Sutrisno Adi Prayitno[2], Dwi Retnaningtyas Utami[3], Amalia Rahma[4]

[1]Program Studi Teknologi Pangan, Universitas Muhammadiyah Gresik, Jl. Sumatra No. 101 Gresik Kota Baru (GKB), Randuagung, Kebomas, Jawa Timur 61121, Indonesia
[2]Program Studi Ilmu Gizi, Universitas Muhammadiyah Gresik, Jl Proklamasi No 54 Terate – Gresik, Jawa Timur

Abstract. Peanuts (*Arachis hypogaea* L.) are a valuable source of plant-based protein and bioactive compounds, offering considerable potential for the development of functional foods. Ultrasonic pretreatment followed by fermentation using *Rhizopus* sp. represents a promising processing approach for producing peanut flour with distinctive chemical characteristics and antioxidant activity. This study aimed to characterize the chemical composition and antioxidant activity of peanut flour subjected to ultrasonic pretreatment and subsequent fermentation with *Rhizopus* sp. The study used a single-treatment experimental design with five replicates and no control group. The parameters analyzed included antioxidant activity, total phenolic content, protein content, fat content, and carbohydrate content. Data were analyzed using descriptive statistics and expressed as mean ± standard deviation. The results revealed an antioxidant activity of 99.86 ± 11.37%, a total phenolic content of 99.91 ± 11.12 mg GAE/g, a protein content of 30.54 ± 1.16%, a fat content of 34.24 ± 0.52%, and a carbohydrate content of 18.73 ± 0.51%. The measured protein and phenolic contents highlight the potential of the resulting flour as a promising ingredient for legume-based food development. Overall, peanut flour produced through ultrasonic pretreatment and *Rhizopus* sp. fermentation demonstrated promising characteristics for potential functional food applications, although further investigation is required. Future studies should incorporate untreated controls, investigate different processing conditions, and evaluate product stability and safety to provide a more comprehensive understanding of its technological potential. This approach may contribute to the development of value-added peanut-based food ingredients.

Keywords: peanuts, tempeh, flour, ultrasonic, fermentation

Abstrak. Kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) merupakan sumber protein nabati yang mengandung senyawa bioaktif dan berpotensi dikembangkan sebagai pangan fungsional. Pengolahan melalui pra-perlakuan ultrasonik dan fermentasi menggunakan *Rhizopus* sp. berpotensi menghasilkan tepung dengan karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi karakteristikl kimia dan aktivitas antioksidan tepung kacang tanah yang diberi pra-perlakuan ultrasonik dan difermentasi menggunakan *Rhizopus* sp. Penelitian menggunakan satu perlakuan dengan lima ulangan tanpa kelompok kontrol. Parameter yang dianalisis meliputi aktivitas antioksidan, total fenol, kadar protein, kadar lemak, dan kadar karbohidrat. Data dianalisis secara statistik deskriptif dan disajikan sebagai rata-rata ± standar deviasi. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 99,86 ± 11,37%, total fenol 99,91 ± 11,12 mg GAE/g, kadar protein 30,54 ± 1,16%, kadar lemak 34,24 ± 0,52%, dan kadar karbohidrat 18,73 ± 0,51%. Kandungan protein dan fenolik yang terukur menunjukkan bahwa tepung ini memiliki karakteristik yang relevan bagi pengembangan pangan berbasis legum. Tepung kacang tanah hasil pengolahan tersebut menunjukkan potensi sebagai bahan baku pangan fungsional yang masih memerlukan pengujian lebih lanjut. Penelitian berikutnya perlu menyertakan pembanding tanpa perlakuan, menguji variasi kondisi proses, dan mengevaluasi stabilitas serta keamanan produk agar manfaat teknologinya dapat dinilai lebih menyeluruh. Pendekatan ini diharapkan mendukung pemanfaatan kacang tanah secara lebih bernilai tambah.

Kata kunci: kacang tanah, tempe, tepung, ultrasonik, fermentasi

OPEN ACCESS

ISSN 2541-5816 (online)

Correspondence:

Sutrisno Adi Prayitno
sutrisnoadi2007@umg.ac.id

Received: 15-09-2026

Accepted: 10-11-2026

Published: 20-11-2026

Ciation: Pramesti RAW, Prayitno SA, Utami DR, and Rahma A. (2027). Chemical Characteristics and Antioxidant Activity of Rhizopus sp. Fermented Peanut Flour after Ultrasonic Pre-treatment Journal of Tropical Food and Agroindustrial Technology 08:01

doi: 10.21070/5jkw4469

PENDAHULUAN

Kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) merupakan salah satu komoditas legum yang memiliki kandungan protein, asam lemak tidak jenuh, vitamin, mineral, serta senyawa bioaktif seperti polifenol yang berpotensi dikembangkan sebagai bahan pangan fungsional karena memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Asen *et al*., 2021). Selain berperan sebagai sumber zat gizi, kacang tanah juga memiliki prospek yang besar sebagai bahan baku produk fermentasi karena kandungan protein dan karbohidratnya dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme selama proses fermentasi (Singh *et al*., 2021). Fermentasi menggunakan kapang *Rhizopus* sp. telah lama diterapkan dalam produksi tempe dan terbukti mampu meningkatkan nilai gizi, memperbaiki daya cerna protein, serta menghasilkan berbagai senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan (Ahnan-Winarno *et al*., 2021). Proses fermentasi juga diketahui dapat meningkatkan kandungan senyawa fenolik bebas dan aktivitas antioksidan melalui degradasi komponen kompleks oleh enzim yang dihasilkan mikroorganisme (Romulo & Surya, 2021). Oleh karena itu, pemanfaatan kacang tanah sebagai bahan baku fermentasi menjadi salah satu alternatif yang potensial dalam pengembangan pangan fungsional berbasis sumber daya lokal (Dini *et al*., 2022).

Seiring dengan perkembangan teknologi pengolahan pangan, pra-perlakuan ultrasonik mulai dikembangkan untuk memodifikasi struktur bahan dan meningkatkan karakteristik fungsionalnya melalui fenomena kavitasi. Gelombang ultrasonik dapat memengaruhi struktur jaringan dan komponen bahan, sehingga berpotensi mengubah karakteristik fisikokimia serta ketersediaan senyawa bioaktif. Rodríguez *et al.* (2025) melaporkan bahwa perlakuan ultrasonik intensitas tinggi pada isolat protein kacang tanah mampu meningkatkan kapasitas menahan minyak sebesar 73,54%, indeks stabilitas emulsi sebesar 226,25%, dan kapasitas pembentukan busa sebesar 216% dibandingkan sampel tanpa perlakuan ultrasonik. Sementara itu, Harahap *et al.* (2026) mengkaji kombinasi pra-perlakuan ultrasonik dan fermentasi menggunakan *Rhizopus oligosporus* pada kedelai untuk mengetahui perubahan karakteristik fitokimia dan aktivitas antioksidan produk yang dihasilkan. Temuan tersebut menunjukkan potensi penerapan ultrasonik dalam memodifikasi karakteristik bahan pangan. Namun, pengaruh kombinasi pra-perlakuan ultrasonik dan fermentasi terhadap profil kimia serta kapasitas antioksidan tepung kacang tanah masih perlu dikaji lebih lanjut.

Secara mekanistik, penerapan ultrasonik sebelum fermentasi memiliki dasar yang relevan untuk dikaji karena fenomena kavitasi dapat mengubah organisasi jaringan bahan dan aksesibilitas komponen terhadap air maupun enzim, sementara kapang Rhizopus sp. menghasilkan enzim hidrolitik yang berpotensi memodifikasi protein, lipid, dan senyawa fenolik selama fermentasi (Arruda et al., 2021). Kajian mengenai teknologi ultrasonik menunjukkan bahwa respons bahan sangat dipengaruhi oleh intensitas, suhu, waktu, dan karakteristik matriks (Umego et al., 2021). Pada kacang tanah, fermentasi Rhizopus oryzae telah dilaporkan mengubah profil proteomik tepung (Mattison et al., 2024), sedangkan ultrasonik dapat memodifikasi sifat struktural protein kacang tanah (Zhang et al., 2024). Oleh sebab itu, karakterisasi secara bersamaan terhadap aktivitas antioksidan, total fenol, makronutrien, dan bilangan asam penting untuk memperoleh gambaran yang lebih utuh mengenai mutu produk akhir.

Perkembangan mutakhir penelitian menunjukkan bahwa teknologi fermentasi kapang dan ultrasonik mampu memodifikasi komponen legum, tetapi besar dan arah responsnya bergantung pada bahan serta kondisi proses. Pada biji Zamnè (Senegalia macrostachya), Drabo et al. (2023) melaporkan bahwa fermentasi menggunakan Rhizopus oryzae meningkatkan derajat hidrolisis protein sebesar 155%, fenolik larut sebesar 46%, dan serat pangan larut sebesar 315%, tetapi aktivitas antioksidannya justru menurun sebesar 24%. Sementara itu, Yu et al. (2024) mengidentifikasi 74 metabolit polifenol selama perkecambahan kacang hijau, dengan 50 metabolit menunjukkan perbedaan sebagai respons terhadap pra-perlakuan ultrasonik dan ion kalsium. Penelitian Levent dan Aktaş (2024) pada lentil hitam juga menunjukkan bahwa pra-perlakuan ultrasonik dapat meningkatkan fenolik total dan aktivitas antioksidan dibandingkan perkecambahan tanpa pra-perlakuan. Temuan-temuan tersebut menegaskan bahwa peningkatan komponen fenolik tidak selalu sejalan dengan aktivitas antioksidan, dan hasil pada suatu legum belum tentu berlaku pada legum lain. Oleh karena itu, karakterisasi langsung pada tepung kacang tanah setelah pra-perlakuan ultrasonik dan fermentasi tetap diperlukan, terutama untuk memotret secara bersamaan indikator antioksidan, komposisi kimia, dan kondisi lipid produk akhirnya.

Saat ini, kajian terkait fermentasi kacang tanah dan penerapan ultrasonik semakin berkembang, bukti yang tersedia masih terfragmentasi menurut jenis bahan, bentuk produk, dan keluaran analisis. Mattison et al. (2024) menitikberatkan pada karakterisasi proteomik tepung kacang tanah hasil fermentasi Rhizopus oryzae, sedangkan Rodríguez Rivera et al. (2025) mengevaluasi pengaruh ultrasonik terhadap isolat protein kacang tanah. Harahap et al. (2026) meneliti kombinasi ultrasonik dan fermentasi pada tempe dengan fokus pada fitokimia, aktivitas antioksidan, dan bioaksesibilitas mineral. Namun, informasi yang secara terpadu mendeskripsikan aktivitas penangkapan radikal DPPH, total fenol, komposisi makronutrien, dan bilangan asam pada tepung kacang tanah utuh yang memperoleh pra-perlakuan ultrasonik sebelum fermentasi Rhizopus sp. masih terbatas. Kesenjangan ini penting karena respons ekstrak protein atau matriks kedelai tidak dapat langsung digeneralisasikan pada tepung kacang tanah yang mengandung protein, lipid, dan komponen bioaktif secara bersamaan.

Kontribusi khusus penelitian ini terletak pada karakterisasi terintegrasi enam indikator mutu kimia dan potensi antioksidan pada satu produk tepung kacang tanah varietas Kancil yang diproses melalui urutan pra-perlakuan ultrasonik (40 kHz, 120 W, 45°C, 15 menit), fermentasi Rhizopus sp., dan pengeringan. Pendekatan ini menyediakan profil deskriptif produk akhir yang menjembatani kajian sifat protein, senyawa fenolik, dan mutu lipid dalam satu matriks pangan. Penelitian bertujuan mengkarakterisasi aktivitas DPPH, total fenol, kadar protein, lemak, karbohidrat, serta

bilangan asam. Karena digunakan satu perlakuan dengan lima ulangan analitik tanpa kelompok kontrol, kebaruan yang diklaim bersifat karakterisasi produk. Pengujian kausal memerlukan kelompok pembanding pada penelitian berikutnya.

METODE PENELITIAN

BAHAN

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) varietas Kancil yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi (Balitkabi), Kota Malang, serta ragi tempe merk Raprima yang mengandung kapang *Rhizopus sp*. Bahan kimia yang digunakan meliputi 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) merk Sigma Aldrich, methanol p.a (Merck), etanol p.a (Merck), reagen Folin-Ciocalteu p.a (Merck), natrium karbonat (Na_2CO_3) (Merck), asam galat (Sigma-Aldrich), asam sulfat (H_2SO_4) (Merck), katalis Kjeldahl (Merck), NaOH (Merck), asam borat (Merck), HCl 0,1N (Merck), n-heksana (Merck), reagen Luff-Schoorl (Merck), kaium iodide (Merck), natrium tiosulfat ($Na_2S_2O_3$) (Merck), indicator pati (Merck), kertas saring Whatman, serta akuades.

ALAT

Peralatan yang digunakan meliputi ultrasonic bath merk Faithful Ultrasonic Cleaner, timbangan analitik merk OHAUS Analytical Balance PR224/E dengan kapasitas maksimum 220 g, oven pengering merk Wirastar Food Dehydrator 10 Tray, blender merk Miyako, ayakan, spektrofotometer UV–Vis merk Thermo Scientific GENESYS, dan DLAB Vortex Mixer dengan kecepatan hingga 2.500 rpm. Peralatan lain yang digunakan meliputi alat destruksi dan destilasi Kjeldahl, alat Soxhlet, hot plate, labu ukur, pipet volume, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, serta peralatan gelas laboratorium lainnya.

DESAIN PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif eksperimental dengan satu perlakuan (*single treatment*) yang bertujuan mengkarakterisasi profil kimia dan aktivitas antioksidan tepung kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang diberi pra-perlakuan ultrasonik dan difermentasi menggunakan *Rhizopus* sp. Penelitian dilakukan tanpa kelompok pembanding sehingga data yang diperoleh digunakan untuk mendeskripsikan karakteristik sampel berdasarkan parameter yang diamati.

Setiap parameter dianalisis sebanyak lima kali ulangan menggunakan sampel tepung yang sama. Ulangan tersebut merupakan ulangan analitik (pengulangan pengukuran) dan bukan ulangan pengolahan yang independen, sehingga standar deviasi yang dilaporkan menggambarkan keterulangan pengukuran. Parameter yang dianalisis meliputi aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (Prayitno et al., 2025), total fenol dengan metode Folin-Ciocalteu (Singleton *et al*., 1999), kadar protein dengan metode Kjeldahl (AOAC International, 2023), kadar lemak dengan metode Soxhlet (AOAC International, 2023), serta kadar karbohidrat dengan metode Luff-Schoorl (SNI 01-2892-1992). Data dianalisis secara statistik deskriptif menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics versi 26 dan disajikan dalam bentuk nilai rata-rata (mean), standar deviasi (SD), nilai minimum, dan nilai maksimum.

TAHAPAN PENELITIAN

Tahapan Pelaksanaan Penelitian

Penelitian diawali dengan menimbang 675 g kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.), yang kemudian disortasi untuk memisahkan biji yang rusak, kotor, atau terkontaminasi. Kacang tanah dicuci menggunakan air mengalir sebanyak dua kali, direndam selama 2 jam, direbus selama 1 jam, dan dikupas kulit arinya. Bobot kacang tanah setelah pengupasan adalah 914 g. Peningkatan bobot dari 675 g menjadi 914 g diduga berkaitan dengan penyerapan air selama proses pencucian, perendaman, dan perebusan.

Kacang tanah selanjutnya diberi pra-perlakuan ultrasonik menggunakan *ultrasonic bath* (Faithful) dengan frekuensi 40 kHz dan daya 120 W. Bahan ditempatkan di dalam gelas beaker yang diletakkan di dalam tangki berisi air, sehingga sonikasi berlangsung secara tidak langsung. Pengaturan alat terbatas pada suhu dan waktu, yaitu suhu air bath 45°C selama 15 menit dengan mode semiwave. Bahan kemudian didinginkan hingga mencapai suhu ruang, diinokulasi dengan ragi tempe sebanyak 1% (b/b), dan difermentasi selama 72 jam pada suhu ruang hingga terbentuk tempe kacang tanah.

Tempe kacang tanah yang diperoleh dipotong dengan ukuran seragam dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 6 jam. Sampel kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan berukuran 100 mesh untuk memperoleh tepung dengan ukuran partikel yang seragam. Tepung disimpan dalam wadah kedap udara pada suhu ruang hingga dilakukan analisis.

Metode Analisis

Analisis Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Prinsip analisis aktivitas antioksidan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk mereduksi radikal

bebas DPPH yang berwarna ungu menjadi bentuk yang lebih stabil dengan warna kuning pucat. Perubahan warna tersebut menyebabkan penurunan absorbansi yang diukur menggunakan spektrofotometer UV–Vis pada panjang gelombang sekitar 517 nm. Besarnya penurunan absorbansi menunjukkan kemampuan ekstrak sampel dalam meredam radikal DPPH pada kondisi pengujian, yang dinyatakan sebagai persentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) mengacu pada metode yang dilakukan Prayitno et al., (2025). Sampel tepung ditimbang sebanyak 10 g kemudian diekstraksi menggunakan 60 mL metanol dan dihomogenkan. Setelah dihomogenkan, sampel didiamkan selama 1 jam, kemudian disaring mneggunakan kain saring dan kertas saring. Kemudian dibuat seri pengenceran sebanyak 5 konsentrasi, yaitu 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, dan 250 ppm. Sebanyak 2 mL sampel dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH 200 µM, kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap pada suhu ruang. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 519 nm. Larutan blanko dibuat dari campuran 2 mL metanol dan 1 mL larutan DPPH. Persentase aktivitas penangkapan radikal dihitung berdasarkan perbedaan absorbansi blanko dan sampel. Data presentase inhibisi yang diperoleh, selanjutnya disajikan sebagai nilai rata-rata ± standar deviasi dari 5 kali pengulangan. Persentase inhibisi dihitung dengan rumus:

$$\%\ Penghambatan = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}}\ x\ 100\%$$

Untuk perhitungan aktivitas antioksidan berdasarkan kurva dari DPPH dengan persamaan Y=ax+b. Dari rumus ini kemudian akan diperoleh nilai satuan dalam aktivitas antioksidan adalah satuan ppm.

Analisis Total Fenol Metode Folin-Ciocalteu

Prinsip analisis total fenol metode Folin–Ciocalteu didasarkan pada kemampuan senyawa fenolik mereduksi reagen Folin–Ciocalteu dalam suasana basa sehingga menghasilkan kompleks berwarna biru. Intensitas warna diukur menggunakan spektrofotometer UV–Vis pada panjang gelombang sekitar 760–765 nm. Kadar total fenol ditentukan berdasarkan kurva standar asam galat dan dinyatakan dalam mg GAE/g sampel. Kadar total fenol ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu mengacu pada Prayitno *et al*. (2025). Sebanyak 0,4 mL ekstrak sampel dicampurkan dengan 0,4 mL reagen Folin-Ciocalteu dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 7% dan campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dalam kondisi gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 760 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kurva standar dibuat menggunakan asam galat sehingga hasil dinyatakan sebagai mg *Gallic Acid Equivalent* (mg GAE/g sampel).

Analisis Kadar Protein Metode Kjeldahl

Prinsip analisis kadar protein metode Kjeldahl didasarkan pada penentuan kandungan nitrogen total dalam sampel melalui tiga tahapan utama, yaitu destruksi, distilasi, dan titrasi. Senyawa nitrogen organik diubah menjadi amonium selama destruksi menggunakan asam sulfat, kemudian dibebaskan sebagai amonia melalui penambahan basa. Amonia yang terbentuk ditangkap dalam larutan asam borat dan ditentukan jumlahnya melalui titrasi. Kadar nitrogen yang diperoleh selanjutnya dikonversi menjadi kadar protein kasar menggunakan faktor konversi yang sesuai dengan jenis bahan pangan. Kadar protein dianalisis menggunakan metode Kjeldahl sesuai AOAC (2023). Sampel sebanyak ±0,5 g didestruksi menggunakan asam sulfat pekat (H_2SO_4) dengan penambahan katalis hingga larutan berubah jernih. Hasil destruksi didinginkan, kemudian ditambahkan larutan NaOH 40% dan dilakukan proses destilasi. Destilat ditampung menggunakan larutan asam borat yang telah ditambahkan indikator campuran, kemudian dititrasi menggunakan larutan HCl 0,1 N. Kandungan nitrogen total dihitung berdasarkan volume titrasi dan dikonversi menjadi kadar protein menggunakan faktor konversi 6,25.

$$Protein\ (\%) = \frac{(Vs-Vb)x\ NHCL\ x\ 14{,}007\ x\ 6{,}25\ x\ 100}{WSW\ x\ 1000}\ x100\%$$

Keterangan: Vs= volume HCl untuk titrasi sampel (mL); Vb= volume HCl untuk titrasi blanko (mL); NHCL= normalitas larutan HCl (N); 14,007= massa atom relatif nitrogen (g/mol).; W= berat sampel (g).; dan 1000= faktor konversi mL menjadi L.

Analisis Kadar Lemak Metode Soxhlet

Prinsip analisis kadar lemak metode Soxhlet didasarkan pada ekstraksi komponen lipid menggunakan pelarut organik nonpolar, seperti n-heksana, melalui proses penguapan, kondensasi, dan sirkulasi pelarut secara berulang. Lemak yang terlarut dipisahkan dari pelarut melalui penguapan, kemudian residunya dikeringkan hingga mencapai bobot konstan. Kadar lemak ditentukan secara gravimetri berdasarkan selisih bobot sebelum dan sesudah ekstraksi, sehingga menggambarkan jumlah lemak yang dapat diekstraksi dari sampel.. Penentuan kadar lemak dilakukan menggunakan metode Soxhlet sesuai AOAC (2023). Sampel sebanyak ±2 g dibungkus

menggunakan kertas saring kemudian diekstraksi menggunakan pelarut n-heksana selama ±6 jam. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut diuapkan dan labu ekstraksi dikeringkan di dalam oven hingga berat konstan. Kadar lemak dihitung berdasarkan selisih bobot labu sebelum dan sesudah ekstraksi dan dinyatakan dalam persen (%).

$$Kadar\ lemak\ (\%) = \frac{W2 - W1}{WS}\ x100\%$$

Keterangan: W1= bobot labu ekstraksi kosong (g); W2= bobot labu beserta lemak setelah ekstraksi dan pengeringan (g); dan Ws= bobot sampel yang dianalisis

Analisis Kadar Karbohidrat Metode Luff-Schoorl

Prinsip analisis karbohidrat metode Luff–Schoorl didasarkan pada kemampuan gula pereduksi mereduksi ion tembaga (Cu^{2+}) menjadi tembaga(I) oksida (Cu_2O) dalam suasana basa dan pemanasan. Sisa ion tembaga yang tidak bereaksi ditentukan secara iodometri menggunakan larutan natrium tiosulfat ($Na_2S_2O_3$). Selisih volume titrasi blanko dan sampel digunakan untuk menentukan kadar gula berdasarkan tabel Luff–Schoorl. Untuk analisis karbohidrat setelah hidrolisis, hasil dinyatakan sebagai gula ekuivalen glukosa. Kadar karbohidrat dianalisis menggunakan metode Luff-Schoorl berdasarkan SNI 01-2892-1992. Sampel dihidrolisis untuk mengubah karbohidrat menjadi gula pereduksi, kemudian direaksikan dengan larutan Luff-Schoorl dan dipanaskan hingga reaksi reduksi berlangsung sempurna. Setelah didinginkan, larutan ditambahkan kalium iodida (KI) dan asam sulfat (H_2SO_4), kemudian dilakukan titrasi menggunakan larutan natrium tiosulfat ($Na_2S_2O_3$) dengan indikator pati hingga titik akhir titrasi. Kadar karbohidrat dihitung menggunakan tabel konversi Luff-Schoorl dan dinyatakan sebagai persen (%).

$$\triangle V = Vb - Vs \text{ -------(i)}$$

$$Vk = \triangle V - \frac{N}{0{,}1}\ x100\% \text{ --------(ii)}$$

$$Kadar\ Karbihidrat\ (\%) = \frac{G\ x\ FP}{W\ x\ 1000}\ x100\% \text{ ----------(iii)}$$

Keterangan: Vb= volume titrasi blanko (mL); Vs= volume titrasi sampel (mL); Vk= selisih volume titrasi terkoreksi (mL); N= normalitas larutan natrium tiosulfat.; G= massa glukosa berdasarkan tabel Luff–Schoorl (mg); FP= faktor pengenceran atau faktor aliquot; W= berat sampel (g); 1000= konversi miligram menjadi gram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

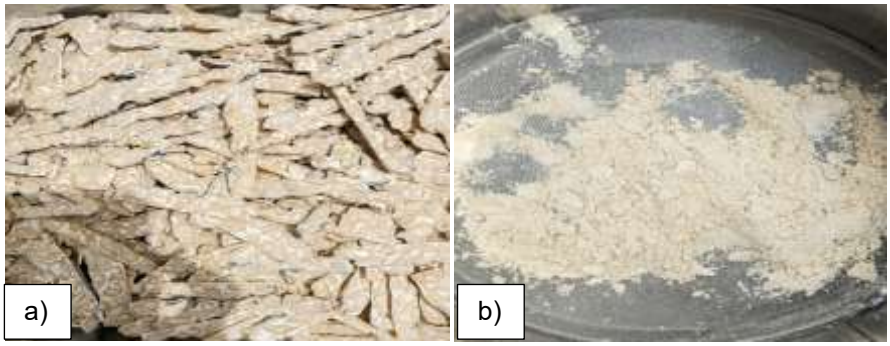
Karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan merupakan aspek penting dalam menentukan potensi suatu bahan pangan sebagai sumber gizi sekaligus komponen fungsional. Kacang tanah (Arachis hypogaea L.) dikenal sebagai bahan pangan yang kaya protein, lipid, dan berbagai senyawa bioaktif yang dapat mengalami perubahan selama proses pengolahan. Dalam penelitian ini, penerapan pra-perlakuan ultrasonik yang dilanjutkan dengan fermentasi menggunakan Rhizopus sp. menjadi pendekatan pengolahan yang menarik untuk dikaji karena kedua proses tersebut memiliki mekanisme yang berbeda dalam memengaruhi struktur dan komponen bahan. Gelombang ultrasonik melalui fenomena kavitasi berpotensi mengubah struktur jaringan kacang tanah, sedangkan aktivitas enzimatis selama fermentasi dapat memodifikasi protein, lipid, karbohidrat, serta senyawa fenolik. Interaksi berbagai komponen tersebut penting untuk dipahami karena karakteristik produk akhir tidak hanya ditentukan oleh kandungan zat gizinya, tetapi juga oleh keberadaan senyawa bioaktif dan kestabilan komponen kimia selama pengolahan.

Berdasarkan hasil penelitian, tepung kacang tanah yang diberi pra-perlakuan ultrasonik dan difermentasi menggunakan Rhizopus sp. menunjukkan aktivitas antioksidan sebesar 99,86 ± 11,37%, total fenol 99,91 ± 11,12 mg GAE/g, kadar protein 30,54 ± 1,16%, kadar lemak 34,24 ± 0,52%, kadar karbohidrat 18,73 ± 0,51%, dan bilangan asam 42,98 ± 0,22 mg KOH/100 g. Hasil tersebut memberikan gambaran mengenai komposisi gizi, potensi antioksidan secara in vitro, serta karakteristik kimia lipid pada tepung yang dihasilkan. Pembahasan setiap parameter menjadi penting untuk memahami keterkaitan antara komponen penyusun bahan dan kemungkinan mekanisme biokimia yang berlangsung selama pengolahan. Meskipun demikian, hasil penelitian ini perlu diinterpretasikan secara hati-hati karena tidak melibatkan kelompok kontrol, sehingga kontribusi spesifik ultrasonik maupun fermentasi belum dapat dipastikan. Adapun hasil penelitian adalah berikut:

Hasil Fermentasi Kacang Tanah untuk Tepung

Pembuatan tepung tempe kacang tanah (Arachis hypogaea L.) dilakukan melalui serangkaian tahapan pengolahan yang meliputi persiapan bahan, pra-perlakuan ultrasonik, fermentasi menggunakan Rhizopus sp., pengeringan, dan penepungan. Proses diawali dengan menimbang 675 g kacang tanah varietas Kancil, kemudian dilakukan sortasi untuk memisahkan biji yang rusak, kotor, atau tidak memenuhi kriteria mutu. Kacang tanah selanjutnya dicuci menggunakan air mengalir sebanyak dua kali untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada permukaan biji. Setelah itu, dilakukan perendaman selama 2 jam dan perebusan selama 1 jam untuk meningkatkan hidrasi, melunakkan jaringan biji, serta mempersiapkan substrat bagi pertumbuhan kapang selama fermentasi. Kulit ari kemudian dipisahkan sehingga diperoleh kacang tanah dengan bobot 914 g. Peningkatan bobot tersebut berkaitan dengan penyerapan air selama proses perendaman dan perebusan. Tahap persiapan ini penting karena kondisi fisik dan kadar air bahan dapat memengaruhi keberhasilan fermentasi serta karakteristik tepung yang dihasilkan.

Kacang tanah yang telah dipersiapkan selanjutnya diberi pra-perlakuan ultrasonik menggunakan ultrasonic bath pada frekuensi 40 kHz, daya 120 W, dan suhu air penangas 45°C selama 15 menit dengan mode semiwave. Perlakuan dilakukan secara tidak langsung dengan menempatkan bahan dalam gelas beker yang berada di dalam tangki ultrasonik berisi air. Secara ilmiah, gelombang ultrasonik menghasilkan fenomena kavitasi yang berpotensi memengaruhi struktur jaringan bahan dan meningkatkan aksesibilitas komponen terhadap air maupun enzim. Setelah perlakuan ultrasonik, kacang tanah didinginkan hingga mencapai suhu ruang, kemudian diinokulasi menggunakan ragi tempe yang mengandung Rhizopus sp. sebanyak 1% (b/b). Fermentasi dilakukan selama 72 jam pada suhu ruang hingga terbentuk tempe kacang tanah. Selama proses tersebut, pertumbuhan miselium kapang disertai aktivitas enzim hidrolitik berpotensi memodifikasi komponen protein, lipid, karbohidrat, dan senyawa fenolik dalam bahan. Tempe yang diperoleh kemudian dipotong dengan ukuran relatif seragam dan dikeringkan menggunakan food dehydrator pada suhu 50°C selama 6 jam untuk mengurangi kadar air dan mempermudah proses penepungan. Bahan kering selanjutnya dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan berukuran 100 mesh untuk memperoleh tepung yang lebih seragam. Tepung tempe kacang tanah kemudian disimpan dalam wadah kedap udara pada suhu ruang hingga dilakukan analisis kimia dan aktivitas antioksidan. Secara keseluruhan, rangkaian pengolahan tersebut menghasilkan tepung kacang tanah terfermentasi yang selanjutnya dikarakterisasi untuk mengetahui komposisi kimia, kandungan fenolik, aktivitas antioksidan, dan indikator mutu lipidnya. Gambar tempe kacang tanah yang telah dikeringkan dan gambar tepung tempe kacang tanah dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. a) Tempe kacang tanah yang sudah mengalami pengeringan; b) Tepung tempe kacang tanah dengan ayakan mesh 90

Karakteristik Kimia Tepung Tempe Kacang Tanah

Karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan merupakan aspek penting dalam mengevaluasi nilai gizi, mutu, stabilitas, serta potensi pengembangan suatu bahan pangan fungsional. Pada kacang tanah (Arachis hypogaea L.), keberadaan protein, lipid, karbohidrat, dan senyawa fenolik membentuk matriks pangan yang kompleks, dengan setiap komponen memiliki peran dan karakteristik yang saling berkaitan. Protein berkontribusi terhadap nilai gizi dan sifat fungsional bahan, lipid berperan dalam menentukan komposisi energi serta karakteristik fisikokimia, sedangkan karbohidrat menjadi salah satu komponen yang dapat dimanfaatkan mikroorganisme selama fermentasi. Di sisi lain, senyawa fenolik memiliki kemampuan berinteraksi dengan radikal bebas dan berpotensi berkontribusi terhadap kestabilan oksidatif komponen pangan. Interaksi antarkomponen tersebut menjadi penting karena perubahan struktur protein, hidrolisis lipid, maupun transformasi karbohidrat dapat memengaruhi distribusi, kelarutan, dan keterukuran senyawa bioaktif dalam bahan.

Dalam penelitian ini, penerapan pra-perlakuan ultrasonik yang dilanjutkan dengan fermentasi menggunakan Rhizopus sp. merupakan pendekatan pengolahan yang menggabungkan proses fisik dan aktivitas biologis mikroorganisme. Gelombang ultrasonik melalui fenomena kavitasi berpotensi menghasilkan perubahan mikrostruktur jaringan bahan, sehingga dapat memengaruhi aksesibilitas komponen terhadap air dan enzim selama proses fermentasi. Selanjutnya, pertumbuhan Rhizopus sp. disertai aktivitas enzim hidrolitik, seperti protease, lipase, dan enzim pendegradasi karbohidrat, berpotensi memodifikasi makromolekul menjadi senyawa dengan karakteristik kimia

yang berbeda. Proses tersebut juga dapat memengaruhi senyawa fenolik, baik melalui pelepasan fraksi yang sebelumnya berasosiasi dengan komponen matriks maupun melalui transformasi dan degradasi selama fermentasi. Perubahan tersebut tidak selalu menghasilkan peningkatan seluruh komponen gizi atau aktivitas antioksidan karena responsnya bergantung pada karakteristik bahan, kondisi proses, serta stabilitas senyawa yang terlibat. Selain itu, tahapan perendaman, perebusan, pengeringan, dan penepungan juga dapat memberikan kontribusi terhadap karakteristik kimia produk akhir. Adapun hasil analisi dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan dan Profil Kimia Tepung Tempe Kacang Tanah

Parameter	Mean ± SD	Min	Max
Aktivitas antioksidan (% Inhibisi DPPH)	99,86 ± 11,37	83,85	114,77
Total fenol (mg GAE/g)	99,91 ± 11,12	84,82	114,72
Protein (%)	30,54 ± 1,16	29,41	32,11
Lemak (%)	34,24 ± 0,52	33,67	34,76
Karbohidrat (%)	18,73 ± 0,51	18,11	19,26
Bilangan Asam (mg KOH/100g)	42,98 ± 0,22	42,78	43,30

Keterangan: Data disajikan sebagai nilai rata-rata ± standar deviasi (n = 5)

1. Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Tepung kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang diberi pra-perlakuan ultrasonik dan difermentasi menggunakan *Rhizopus* sp. memiliki aktivitas antioksidan sebesar 99,86 ± 11,37% (Tabel 1). Nilai tersebut menggambarkan kemampuan ekstrak tepung dalam meredam radikal bebas DPPH pada kondisi pengujian yang digunakan. Aktivitas antioksidan pada kacang tanah berkaitan dengan keberadaan komponen bioaktif, seperti resveratrol dan senyawa fenolik, yang dapat berperan sebagai donor elektron maupun atom hidrogen (Xu *et al*., 2024). Sebagai pembanding, aktivitas antioksidan tepung kacang tanah fermentasi dengan ragi tempe dilaporkan berkisar antara 12,87% dan 41,61% pada variasi konsentrasi ragi 3-7% dan lama fermentasi 24-36 jam (Martina *et al*., 2022). Perbedaan nilai tersebut tidak dapat langsung diinterpretasikan karena kondisi pengolahan dan pengujian berbeda, antara lain lama fermentasi, konsentrasi ragi (1%), suhu pengeringan, serta adanya pra-perlakuan ultrasonik dan perendaman yang tidak sama.

Aktivitas antioksidan yang diperoleh berkaitan dengan rangkaian tahapan pengolahan, yaitu perendaman, perebusan, pra-perlakuan ultrasonik, fermentasi *Rhizopus* sp., dan pengeringan. Secara teoretis, fenomena kavitasi akibat gelombang ultrasonik dapat merusak struktur jaringan sehingga senyawa bioaktif lebih mudah dilepaskan dari matriks bahan (Arruda *et al*., 2021). Fermentasi oleh *Rhizopus oryzae* menghasilkan enzim hidrolitik yang memodifikasi protein menjadi peptida dengan ukuran lebih kecil (Mattison *et al*., 2024). Fermentasi kapang pada legum juga dilaporkan berkaitan dengan potensi antioksidan bahan (Toor *et al*., 2021).

Aktivitas antioksidan tersebut diperoleh bersamaan dengan kadar total fenol sebesar 99,91 ± 11,12 mg GAE/g. Senyawa fenolik dapat berperan sebagai antioksidan melalui penangkapan radikal bebas dan pemutusan reaksi oksidasi berantai. Hubungan antara total fenol dan aktivitas antioksidan pada penelitian ini belum dianalisis secara statistik, sehingga keterkaitan keduanya belum dapat dipastikan. Selain itu, karena lima ulangan berasal dari sampel yang sama, nilai standar deviasi hanya menggambarkan keterulangan pengukuran dan tidak mewakili variasi antar pengolahan.

Selain dipengaruhi oleh kandungan senyawa bioaktif, aktivitas antioksidan tepung kacang tanah juga perlu dipahami dalam kaitannya dengan karakteristik matriks pangan, terutama interaksi antara senyawa fenolik, protein, dan lipid. Kacang tanah merupakan bahan pangan kaya asam lemak tidak jenuh yang relatif rentan mengalami oksidasi selama pengolahan dan penyimpanan. Oleh karena itu, keberadaan senyawa antioksidan berpotensi berperan dalam menjaga stabilitas oksidatif produk, meskipun kemampuan tersebut tidak dapat ditentukan hanya melalui pengujian DPPH. Interaksi senyawa fenolik dengan protein dapat memengaruhi kelarutan, stabilitas, dan ketersediaan senyawa antioksidan, sedangkan komponen lipid dapat membentuk lingkungan yang berbeda bagi aktivitas senyawa bioaktif. Selain itu, tingginya aktivitas penangkapan radikal bebas tidak selalu mencerminkan banyaknya senyawa antioksidan, karena respons DPPH juga dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak, jenis pelarut, waktu reaksi, dan karakteristik senyawa yang terlarut. Nilai aktivitas antioksidan yang mendekati 100% perlu diperhatikan karena berpotensi menunjukkan bahwa pengujian dilakukan pada konsentrasi ekstrak yang telah mendekati respons maksimum, sehingga kemampuan metode untuk membedakan aktivitas antarperlakuan menjadi terbatas. Penentuan nilai IC_{50} melalui pengujian berbagai konsentrasi, disertai metode ABTS dan FRAP, diperlukan untuk memberikan gambaran kapasitas antioksidan yang lebih menyeluruh. Aspek lain yang tidak kalah penting adalah bioaksesibilitas senyawa antioksidan selama pencernaan, karena senyawa yang menunjukkan aktivitas tinggi secara in vitro belum tentu memiliki stabilitas dan ketersediaan yang sama dalam sistem pencernaan.

Dengan demikian, potensi tepung kacang tanah sebagai bahan pangan fungsional sebaiknya tidak hanya didasarkan pada aktivitas penangkapan radikal bebas, tetapi juga mempertimbangkan stabilitas oksidatif, karakteristik senyawa bioaktif, serta kemampuannya mempertahankan aktivitas selama pengolahan, penyimpanan, dan pencernaan.

2. Total Fenol

Kadar total fenol tepung kacang tanah hasil pra-perlakuan ultrasonik dan fermentasi *Rhizopus* sp. sebesar 99,91 ± 11,12 mg GAE/g (Tabel 1). Penelitian Górska *et al*. (2025), kandungan polifenol total tempe dari berbagai bahan baku dilaporkan berkisar antara 2,0 dan 137,5 mg GAE/g bahan kering. Nilai pada penelitian ini berada dalam kisaran tersebut, namun perbandingan bersifat indikatif karena bahan baku, kondisi pengolahan, dan metode ekstraksi pada tiap penelitian berbeda. Senyawa fenolik merupakan metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antioksidan alami karena kemampuannya mendonorkan proton atau elektron untuk menstabilkan radikal bebas. Fermentasi kacang tanah dengan *Rhizopus microsporus* dilaporkan berkaitan dengan peningkatan total fenol sekitar 2,6 kali dibandingkan sebelum fermentasi (Srakaew *et al*., 2024).

Kadar fenol yang diperoleh diduga berkaitan dengan rangkaian tahapan pengolahan, yaitu perendaman, perebusan, pra-perlakuan ultrasonik, fermentasi, dan pengeringan. Ultrasonik dilaporkan mempercepat ekstraksi flavonoid dari kulit kacang tanah (Liao *et al*., 2021). Fermentasi dengan *Rhizopus oligosporus* pada kedelai dilaporkan memperbaiki sifat nutrisi bahan melalui aktivitas enzim mikroba (Zhang *et al*., 2022). Pada tempe, pra-perlakuan ultrasonik dan suhu fermentasi dilaporkan berkaitan dengan perbaikan kandungan fitokimia dan kapasitas antioksidan (Harahap *et al*., 2026). Penelitian tersebut membandingkan kondisi perlakuan, sedangkan penelitian ini tidak, sehingga hasilnya tidak dapat dibandingkan secara langsung.

Kandungan total fenol yang diperoleh dalam penelitian ini memberikan gambaran bahwa tepung tempe kacang tanah memiliki potensi sebagai sumber senyawa bioaktif yang bernilai bagi pengembangan pangan fungsional. Keberadaan senyawa fenolik menjadi penting karena perannya tidak hanya berkaitan dengan kemampuan menangkal radikal bebas, tetapi juga berpotensi membantu menjaga kestabilan komponen pangan, terutama lipid yang rentan mengalami oksidasi. Dalam matriks kacang tanah yang kaya protein dan lemak, senyawa fenolik dapat berinteraksi dengan komponen lain sehingga memengaruhi aktivitas dan kestabilannya selama pengolahan maupun penyimpanan. Namun, besarnya kandungan total fenol belum tentu mencerminkan kekuatan aktivitas antioksidan secara langsung, karena setiap senyawa memiliki struktur dan kemampuan biologis yang berbeda. Oleh karena itu, hasil penelitian ini menjadi dasar yang penting untuk memahami potensi senyawa fenolik dalam tepung tempe kacang tanah, sekaligus membuka peluang penelitian lebih lanjut mengenai jenis, stabilitas, dan kontribusi senyawa tersebut terhadap mutu serta karakteristik fungsional produk pangan.

Penelitian ini tidak memiliki kelompok pembanding, sehingga kontribusi ultrasonik terhadap kadar fenol tidak dapat dipisahkan dari perebusan, fermentasi, dan pengeringan pada suhu 50°C. Metode Folin-Ciocalteu juga dapat bereaksi dengan senyawa pereduksi non-fenolik, sehingga nilai yang diperoleh belum menggambarkan senyawa fenolik spesifik.

3. Kadar Protein

Kadar protein tepung kacang tanah hasil pra-perlakuan ultrasonik dan fermentasi *Rhizopus* sp. sebesar 30,54 ± 1,16% (Tabel 1). Sebagai pembanding, kadar protein tempe dari berbagai bahan baku dilaporkan berkisar antara 2,8 dan 47,1% bahan kering, dengan rata-rata sekitar 23,3% (Górska *et al*., 2025). Nilai pada penelitian ini berada dalam kisaran tersebut, namun perbandingan bersifat indikatif karena bahan baku dan kondisi pengolahan pada tiap penelitian berbeda. Protein kacang tanah didominasi fraksi penyimpanan arachin dan conarachin yang menentukan nilai gizi serta sifat fungsionalnya, seperti emulsifikasi, pembentukan gel, dan kemampuan mengikat air (Singh *et al*., 2021).

Kadar protein yang diperoleh diduga dipengaruhi oleh rangkaian tahapan pengolahan, yaitu perendaman, perebusan, pra-perlakuan ultrasonik, fermentasi, dan pengeringan. Perlakuan ultrasonik dikombinasikan dengan pH shift dilaporkan memengaruhi sifat struktural dan fungsional protein kacang tanah (Zhang *et al*., 2024). Fermentasi tepung kacang tanah oleh *Rhizopus oryzae* dilaporkan mengubah profil protein melalui aktivitas enzim kapang (Mattison *et al*., 2024). Fermentasi kacang tanah dengan *Rhizopus microsporus* juga dilaporkan berkaitan dengan peningkatan kadar protein kasar sekitar 17% berat kering (Srakaew *et al*., 2024).

Selain mencerminkan nilai gizi bahan, kandungan protein sebesar 30,54 ± 1,16% pada tepung tempe kacang tanah juga menjadi karakteristik penting dalam pengembangan pangan berbasis protein nabati. Protein kacang tanah tersusun atas berbagai fraksi, terutama arachin dan conarachin, yang memiliki karakteristik struktur dan sifat fungsional berbeda. Selama fermentasi oleh Rhizopus sp., aktivitas enzim proteolitik berpotensi menghidrolisis sebagian protein menjadi peptida berukuran lebih kecil dan asam amino bebas. Perubahan tersebut dapat memengaruhi kelarutan, kemampuan berinteraksi dengan air, serta aksesibilitas protein terhadap enzim pencernaan. Namun, proses hidrolisis tidak selalu meningkatkan kadar protein total karena hasil pengukuran juga dipengaruhi oleh perubahan komposisi bahan selama pengolahan. Kandungan protein yang diperoleh dalam penelitian ini lebih tepat dipahami sebagai gambaran komposisi gizi tepung setelah melalui rangkaian proses ultrasonik dan fermentasi. Nilai tersebut menunjukkan bahwa tepung tempe kacang tanah memiliki potensi sebagai bahan baku kaya protein yang dapat dimanfaatkan untuk memperkaya formulasi pangan berbasis legum.

Manfaat protein dalam bahan pangan tidak hanya ditentukan oleh jumlahnya, tetapi juga oleh struktur molekul, komposisi asam amino, dan kemampuannya berinteraksi dengan komponen pangan lainnya. Pra-perlakuan ultrasonik berpotensi memodifikasi konformasi protein melalui perubahan interaksi antarmolekul, sedangkan fermentasi dapat menghasilkan fragmen peptida dengan karakteristik yang berbeda dari protein asalnya. Kombinasi perubahan tersebut secara teoritis dapat memengaruhi sifat fungsional protein, termasuk kemampuan mengikat air, membentuk emulsi, dan berinteraksi dengan lipid maupun senyawa fenolik. Dalam tepung kacang tanah yang mengandung protein dan lemak relatif tinggi, interaksi ini menjadi penting karena turut menentukan perilaku bahan selama pengolahan dan penyimpanan. Meskipun demikian, kandungan protein yang tinggi belum dapat digunakan sebagai dasar untuk menyimpulkan peningkatan nilai biologis atau daya cerna protein akibat perlakuan. Selain itu, kacang tanah mengandung protein alergen yang sifat alergenisitasnya tidak dapat dipastikan hanya melalui pengukuran protein total.

Penelitian ini tidak memiliki kelompok pembanding sehingga kontribusi ultrasonik dan fermentasi terhadap kadar protein tidak dapat dipisahkan dari tahapan pengolahan lainnya. Metode Kjeldahl dengan faktor konversi 6,25 mengukur protein kasar, termasuk nitrogen non-protein seperti peptida kecil dan asam amino hasil hidrolisis, sehingga kualitas protein tidak dapat dinilai dari parameter ini. Data ini memberikan informasi awal mengenai kadar protein produk, sedangkan kualitas protein masih perlu dievaluasi melalui analisis seperti kecernaan protein dan profil asam amino.

4. Kadar Lemak

Kadar lemak tepung kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) hasil pra-perlakuan ultrasonik dan fermentasi *Rhizopus* sp. sebesar 34,24 ± 0,52% (Tabel 1), dengan rentang 33,67-34,76%. Di antara tiga komponen makro yang dianalisis, lemak memiliki proporsi terbesar dibandingkan protein (30,54%) dan karbohidrat (18,73%). Lemak kacang tanah dilaporkan didominasi asam lemak tidak jenuh, terutama asam oleat dan linoleat, yang berkaitan dengan nilai gizi dan stabilitas oksidatif produk (Peng *et al*., 2024). Nilai pada penelitian ini belum dapat dinyatakan tinggi atau rendah karena belum dibandingkan dengan data literatur pada bahan dan kondisi pengolahan yang setara. Standar deviasi yang kecil hanya menggambarkan keterulangan pengukuran, karena kelima ulangan berasal dari sampel tepung yang sama.

Kandungan lemak sebesar 34,24 ± 0,52% pada tepung tempe kacang tanah menunjukkan bahwa lipid masih menjadi salah satu komponen utama yang menentukan karakteristik kimia dan potensi pemanfaatan bahan tersebut dalam pengembangan produk pangan. Lemak kacang tanah umumnya didominasi oleh asam lemak tidak jenuh, terutama asam oleat dan linoleat, yang memiliki peran penting dalam menentukan karakteristik gizi maupun sifat fisikokimia produk. Akan tetapi, keberadaan asam lemak tidak jenuh juga menjadikan lipid relatif rentan mengalami oksidasi, khususnya selama proses pemanasan, pengeringan, dan penyimpanan. Dalam penelitian ini, rangkaian pra-perlakuan ultrasonik dan fermentasi menggunakan Rhizopus sp. berpotensi memengaruhi struktur serta karakteristik lipid melalui mekanisme yang berbeda. Fenomena kavitasi akibat ultrasonik dapat mengubah struktur jaringan bahan sehingga memengaruhi aksesibilitas lipid, sedangkan aktivitas enzim lipase selama fermentasi berpotensi menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Perubahan tersebut tidak selalu diikuti penurunan kadar lemak total karena hidrolisis lipid lebih berkaitan dengan perubahan bentuk dan komposisi senyawanya.

Kadar lemak berkaitan dengan rangkaian tahapan pengolahan, yaitu perendaman, perebusan, pra-perlakuan ultrasonik, fermentasi, dan pengeringan. Secara teoretis, kavitasi ultrasonik dapat memengaruhi struktur jaringan bahan (Arruda *et al*., 2021), dan *Rhizopus* sp. diketahui menghasilkan lipase yang dapat menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Selain itu, pengolahan pada kacang tanah dilaporkan dapat memengaruhi pembentukan senyawa hasil oksidasi lipid (Störmer *et al*., 2022).

Hubungan antara kandungan lemak dan keberadaan senyawa bioaktif dalam tepung tempe kacang tanah. Kandungan total fenol dan aktivitas antioksidan yang terukur menunjukkan adanya komponen yang berpotensi berkontribusi terhadap perlindungan lipid dari reaksi oksidasi. Senyawa fenolik tertentu dapat membantu menghambat reaksi berantai oksidasi melalui kemampuannya mendonorkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas. Efektivitas perlindungan tersebut sangat dipengaruhi oleh struktur senyawa fenolik, distribusinya dalam matriks pangan, serta kondisi pengolahan dan penyimpanan. Di sisi lain, hidrolisis lipid selama fermentasi dapat meningkatkan jumlah asam lemak bebas yang dalam kondisi tertentu lebih mudah mengalami perubahan oksidatif. Sehingga, keberadaan senyawa antioksidan yang tinggi belum tentu menjamin kestabilan lipid pada produk akhir. Interaksi antara lipid, protein, dan senyawa fenolik menjadi aspek penting karena ketiganya dapat saling memengaruhi karakteristik kimia, cita rasa, dan mutu produk selama penyimpanan.

5. Kadar Karbohidrat

Kandungan karbohidrat sebesar 18,73 ± 0,51% pada tepung tempe kacang tanah menunjukkan bahwa karbohidrat tetap menjadi salah satu komponen penyusun yang berperan dalam menentukan karakteristik kimia dan potensi pemanfaatan bahan tersebut. Karbohidrat pada kacang tanah terdiri atas berbagai fraksi, termasuk gula sederhana, pati, dan polisakarida nonpati, yang memiliki karakteristik serta fungsi berbeda selama pengolahan. Dalam proses fermentasi menggunakan Rhizopus sp., sebagian komponen karbohidrat berpotensi mengalami perubahan akibat aktivitas enzim hidrolitik, seperti amilase dan glukoamilase, yang dapat memecah karbohidrat

kompleks menjadi senyawa dengan ukuran molekul lebih kecil. Gula sederhana yang terbentuk selanjutnya dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi untuk mendukung pertumbuhan miselium dan aktivitas metabolismenya. Di sisi lain, pra-perlakuan ultrasonik berpotensi memengaruhi struktur jaringan bahan melalui fenomena kavitasi, sehingga meningkatkan aksesibilitas komponen karbohidrat terhadap air dan enzim selama fermentasi. Akan tetapi, perubahan tersebut tidak selalu menyebabkan penurunan kadar karbohidrat secara langsung karena hasil pengukuran juga dipengaruhi oleh jenis karbohidrat yang dianalisis, perubahan kadar air, serta komposisi relatif komponen lain setelah pengolahan.

Rhizopus sp. mengekspresikan enzim pendegradasi karbohidrat seperti amilase dan glukoamilase, yang menghidrolisis polisakarida menjadi gula sederhana untuk menunjang pertumbuhan miselium. Analisis transkriptomik pada *Rhizopus delemar* menunjukkan ekspresi enzim terkait metabolisme karbohidrat pada berbagai kondisi pH (Liang *et al*., 2024). Fermentasi tepung kacang tanah oleh *Rhizopus oryzae* juga dilaporkan mengubah profil biomolekul bahan (Mattison *et al*., 2024). Peran karbohidrat dalam tepung tempe kacang tanah tidak hanya berkaitan dengan kontribusinya sebagai sumber energi, tetapi juga dengan interaksinya terhadap protein, lipid, dan komponen serat pangan yang membentuk karakteristik keseluruhan matriks. Perubahan struktur karbohidrat selama pengolahan berpotensi memengaruhi kemampuan tepung menyerap air, membentuk viskositas, dan menghasilkan tekstur tertentu ketika diaplikasikan pada produk pangan. Selain itu, aktivitas mikroorganisme selama fermentasi dapat mengubah keseimbangan antara karbohidrat yang mudah dimanfaatkan dan fraksi polisakarida yang lebih sulit didegradasi. Perubahan tersebut menjadi penting karena setiap fraksi karbohidrat memiliki kontribusi berbeda terhadap sifat teknologi maupun karakteristik pencernaan bahan. Metode Luff–Schoorl yang digunakan dalam penelitian ini terutama didasarkan pada pengukuran gula pereduksi setelah tahapan hidrolisis, sehingga belum memberikan informasi menyeluruh mengenai komposisi pati, serat pangan, maupun fraksi karbohidrat yang berbeda tingkat kecernaannya.

6. Bilangan Asam

Bilangan asam tepung kacang tanah hasil pra-perlakuan ultrasonik dan fermentasi *Rhizopus* sp. sebesar 42,98 ± 0,22 mg KOH/100 g (Tabel 1), dengan rentang 42,78-43,30. Bilangan asam menggambarkan jumlah KOH yang diperlukan untuk menetralkan asam lemak bebas dalam sampel, sehingga menjadi salah satu indikator mutu lipid. Kadar asam lemak bebas dilaporkan sebagai indikator penting mutu kacang tanah (Raigar *et al*., 2024). Pembentukan asam lemak bebas dapat dipengaruhi oleh aktivitas lipase, kadar air, kondisi pengolahan, dan aktivitas mikroorganisme. Kandungan bilangan asam sebesar 42,98 ± 0,22 mg KOH/100 g pada tepung tempe kacang tanah memberikan gambaran mengenai karakteristik kimia lipid setelah melalui pra-perlakuan ultrasonik dan fermentasi menggunakan Rhizopus sp. Bilangan asam merupakan salah satu indikator penting dalam penilaian mutu lemak karena berkaitan dengan keberadaan asam lemak bebas yang terbentuk akibat pemutusan ikatan ester pada trigliserida. Dalam proses fermentasi, kapang Rhizopus sp. berpotensi menghasilkan enzim lipase yang mampu menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Proses tersebut merupakan bagian dari aktivitas metabolisme mikroorganisme dalam memanfaatkan komponen bahan sebagai sumber energi. Disisi lain, pra-perlakuan ultrasonik dapat memengaruhi struktur jaringan kacang tanah melalui fenomena kavitasi, sehingga secara teoritis berpotensi mengubah aksesibilitas lipid terhadap aktivitas enzim selama fermentasi. Terbentuknya asam lemak bebas tidak selalu menunjukkan penurunan mutu secara langsung karena hidrolisis lipid juga merupakan bagian dari perubahan biokimia yang umum terjadi selama fermentasi pangan. Akumulasi asam lemak bebas yang berlebihan perlu diperhatikan karena dapat meningkatkan kerentanan lipid terhadap oksidasi dan memengaruhi karakteristik cita rasa produk. Nilai bilangan asam pada penelitian ini adalah sebagai indikator kondisi hidrolitik lipid pada tepung yang dihasilkan.

Nilai tersebut juga berkaitan dengan hidrolisis trigliserida oleh lipase kapang selama fermentasi, dan kavitasi ultrasonik secara teoretis dapat memengaruhi aksesibilitas lipid terhadap enzim. Namun, penelitian ini tidak memiliki sampel sebelum perlakuan maupun kelompok pembanding, sehingga asal asam lemak bebas tersebut tidak dapat ditentukan, apakah dari fermentasi, ultrasonik, perebusan, pengeringan, atau kondisi bahan awal. Penelitian pada kacang tanah juga melaporkan bahwa lipid dapat berubah menjadi senyawa hasil oksidasi selama pengolahan (Störmer *et al*., 2022), sehingga evaluasi mutu lipid sebaiknya tidak bertumpu pada satu parameter.

Aspek lain yang penting untuk diperhatikan adalah hubungan antara bilangan asam, komposisi asam lemak, dan stabilitas oksidatif tepung tempe kacang tanah selama penyimpanan. Kacang tanah secara alami mengandung asam lemak tidak jenuh, terutama asam oleat dan linoleat, yang berkontribusi terhadap karakteristik gizi tetapi juga dapat mengalami reaksi oksidasi ketika terpapar oksigen, panas, dan cahaya. Peningkatan jumlah asam lemak bebas berpotensi memengaruhi kestabilan lipid karena perubahan bentuk lipid dapat mengubah aksesibilitasnya terhadap reaksi oksidatif. Di sisi lain, keberadaan senyawa fenolik dan komponen antioksidan dalam tepung tempe kacang tanah berpotensi membantu menghambat sebagian reaksi oksidasi melalui kemampuannya menangkap radikal bebas. Tingginya aktivitas antioksidan yang terukur dengan metode DPPH belum dapat memastikan bahwa lipid dalam produk memiliki ketahanan oksidatif yang baik selama penyimpanan. Bilangan asam dan aktivitas antioksidan perlu dipahami sebagai dua parameter yang saling melengkapi, tetapi menggambarkan aspek mutu yang berbeda. Bilangan asam terutama berkaitan dengan tingkat hidrolisis lipid, sedangkan ketengikan oksidatif lebih tepat dievaluasi melalui indikator seperti bilangan peroksida dan senyawa hasil oksidasi sekunder.

KESIMPULAN

Tepung kacang tanah (*Arachis hypogaea* L.) yang diberi pra-perlakuan ultrasonik dan difermentasi menggunakan *Rhizopus* sp. menunjukkan karakteristik kimia dan aktivitas antioksidan yang berpotensi mendukung pengembangannya sebagai bahan pangan fungsional. Produk yang dihasilkan memiliki aktivitas antioksidan sebesar 99,86 ± 11,37%, total fenol 99,91 ± 11,12 mg GAE/g, protein 30,54 ± 1,16%, lemak 34,24 ± 0,52%, karbohidrat 18,73 ± 0,51%, dan bilangan asam 42,98 ± 0,22 mg KOH/100 g. Temuan ini memberikan informasi awal mengenai potensi tepung kacang tanah sebagai bahan pangan bernilai tambah. Namun, penelitian dengan kelompok kontrol diperlukan untuk memastikan kontribusi masing-masing perlakuan terhadap karakteristik produk serta mengevaluasi potensi aplikasinya secara lebih menyeluruh.

UCAPAN TERIMAKASIH

Pertama-tama, kami menyampaikan terima kasih yang tulus kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Muhammadiyah Gresik atas dukungan dan fasilitasi dalam proses pengajuan proposal Hibah Penelitian Fundamental. Kami juga menyampaikan penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi Republik Indonesia atas dukungan pendanaan Program Hibah Penelitian Fundamental Reguler Tahun 2026, berdasarkan Surat Tugas Nomor 280/TGS/II.3UMG/DPPM/A/2026**.**

DAFTAR PUSTAKA

Ahnan-Winarno, A. D., Cordeiro, L., Winarno, F. G., Gibbons, J., & Xiao, H. (2021). Tempeh: A semicentennial review on its health benefits, fermentation, safety, processing, sustainability, and affordability. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *20*(2), 1717–1767. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12710

AOAC International (2023). *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL* (G. W. Latimer, Ed.). Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/9780197610145.001.0001

Arruda, T. R., Vieira, P., Silva, B. M., Freitas, T. D., do Amaral, A. J. B., Vieira, E. N. R., & Leite Júnior, B. R. de C. (2021). What are the prospects for ultrasound technology in food processing? An update on the main effects on different food matrices, drawbacks, and applications. *Journal of Food Process Engineering*, *44*(11). https://doi.org/10.1111/jfpe.13872

Asen, N. D., Badamasi, A. T., Gborigo, J. T., Aluko, R. E., & Girgih, A. T. (2021). Comparative Evaluation of the Antioxidant Properties of Whole Peanut Flour, Defatted Peanut Protein Meal, and Peanut Protein Concentrate. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *5*. https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.765364

Barros Tiburcio, P., de Carvalho Neto, D. P., Soccol, C. R., & Medeiros, A. B. P. (2025). Cocoa Pod Husk Valorization Through Rhizopus stolonifer Solid-State Fermentation: Enhancement in Antioxidant Activity. *Microorganisms*, *13*(4), 716. https://doi.org/10.3390/microorganisms13040716

Dini Rohadatul Aisya, Lini Mulyani, Messy Yulianti, A. A. (2022). Pembuatan Tempe dari Kacang Tanah (Arachis hypogea L.) dengan Variasi Lama Fermentasi terhadap Kualitas Tempe. *Prosiding SEMNAS BIO 2022 UIN Syarif Hidayatullah Jakarta ISSN : 2809-8447 Pembuatan*, (Cahyadi 2007), 398–407.

Drabo, M., Savadogo, A., & Raes, K. (2023). Effects of tempeh fermentation using Rhizopus oryzae on the nutritional and flour technological properties of Zamnè (Senegalia macrostachya seeds): Exploration of processing alternatives for a hard-to-cook but promising wild legume. Food Bioscience, 54, Article 102823. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102823

Harahap, I. A., Sulibarska, J., Weber, D., & Esatbeyoglu, T. (2026). Ultrasound pretreatment and fermentation temperature improve phytochemical, antioxidant capacity, and mineral bioaccessibility in tempeh under simulated digestion. *Ultrasonics Sonochemistry*, *125*, 107738. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2026.107738

Levent, H., & Aktaş, K. (2024). The effect of germinated black lentils on cookie quality by applying ultraviolet radiation and ultrasound technology. Journal of Food Science, 89(5), 2557–2566. https://doi.org/10.1111/1750-3841.17002

Liang, J., Chen, Y., Li, S., Liu, D., Tian, H., Xiang, Q., Zhao, K., Yu, X., Chen, Q., Fan, H., Zhang, L., Penttinen, P., & Gu, Y. (2024). Transcriptomic analysis and carbohydrate metabolism-related enzyme expression across different pH values in Rhizopus delemar. *Frontiers in Microbiology*, *15*. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1359830

Liao, J., Guo, Z., & Yu, G. (2021). Process intensification and kinetic studies of ultrasound-assisted extraction of flavonoids from peanut shells. *Ultrasonics Sonochemistry*, *76*, 105661. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105661

Martina, S., Erminawati, E., & Naufalin, R. (2022). Effect of Tempe Yeast Concentration and Fermentation Time on the Functional Charaktersitics of Fermented Peanut Flour. *Indonesian Journal of Food Technology*, *1*(2), 15. https://doi.org/10.20884/1.ijft.2022.1.2.6268

Mattison, C. P., Dupre, R. A., Clermont, K., Gibbons, J. G., & Yu, J.-H. (2024). Proteomic characterization of peanut flour fermented by Rhizopus oryzae. *Heliyon*, *10*(15), e34793. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34793

Peng, Z., Zhang, Y., Ai, Z., Wei, L., & Liu, Y. (2024). Effect of radio frequency roasting on the lipid profile of peanut oil and the mechanism of lipids transformation: Revealed by untargeted lipidomics approach. *Food Research International*, *190*, 114592. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114592

Prayitno, S. A., Utami, D. R., Dini, K. I., Salsabila, A. T., & Sari, D. K. (2025). Phytochemicals Screening and Antioxidant Potential of Ant Nest Plants From the Nabire Forest With Different Solvents. *Agroindustrial Technology Journal*, *9*(2), 31-41.

Raigar, R. K., Srivastava, S., & Mishra, H. N. (2024). Estimation of peanut quality based on free fatty acids and peroxide value by application of FTNIR and chemometrics approach. *Food Chemistry Advances*, *4*, 100735. https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100735

Rodríguez Rivera, Á. E., Ulloa, J. A., Flores Jiménez, N. T., & Urías-Silvas, J. E. (2025). Effect of high-intensity ultrasound on the physicochemical, nutritional, rheological, microstructural, and techno-functional properties of a groundnut (Arachis hypogaea L.) paste protein isolate. *Sustainable Food Technology*, *3*(5), 1376–1390. https://doi.org/10.1039/D5FB00196J

Romulo, A., & Surya, R. (2021). Tempe: A traditional fermented food of Indonesia and its health benefits. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *26*, 100413. https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100413

Shao, J., Wu, C., Li, Q., He, Y., & Zhu, Z. (2026). Ultrasound-assisted enzymatic extraction and properties of polysaccharide from Nostoc commune. *Food Chemistry: X*, *37*(May), 104084. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2026.104084

Singh, A., Nath Raina, S., Sharma, M., Chaudhary, M., Sharma, S., & Rani Rajpal, V. (2021). Functional Uses of Peanut (Arachis hypogaea L.) Seed Storage Proteins. In *Grain and Seed Proteins Functionality*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.96871

SNI. (1992). *Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-2892-1992*.

Srakaew, S., Preechawattanakorn, P., Niamsup, P., Maneewong, C., Phongthai, S., Ikeda, T., & Yasuda, S. (2024). *Effect of some fermentation factors on the fermented tiger stripe peanut production by Rhizopus microsporus fungus*. https://doi.org/https://doi.org/10.14456/jsat.2024.2

Störmer, L., Globisch, M., & Henle, T. (2022). Glycerol-bound oxidized fatty acids: formation and occurrence in peanuts. *European Food Research and Technology*, *248*(8), 2053–2066. https://doi.org/10.1007/s00217-022-04030-x

Toor, B. S., Kaur, A., & Kaur, J. (2022). Fermentation of legumes with Rhizopus oligosporus : effect on physicochemical, functional and microstructural properties. *International Journal of Food Science & Technology*, *57*(3), 1763–1772. https://doi.org/10.1111/ijfs.15552

Toor, B. S., Kaur, A., Sahota, P. P., & Kaur, J. (2021). Antioxidant Potential, Antinutrients, Mineral Composition and FTIR Spectra of Legumes Fermented with Rhizopus oligosporus. *Food Technology and Biotechnology*, *59*(4), 530–542. https://doi.org/10.17113/ftb.59.04.21.7319

Umego, E. C., He, R., Huang, G., Dai, C., & Ma, H. (2021). Ultrasound-assisted fermentation: Mechanisms, technologies, and challenges. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(6). https://doi.org/10.1111/jfpp.15559

Xu, X., Zhang, D., Liu, X., Zheng, R., & Jiang, T. (2024). Ultrasonic-Assisted Extraction and Antioxidant Evaluation of Resveratrol from Peanut Sprouts. *Processes*, *12*(10), 2295. https://doi.org/10.3390/pr12102295

Yu, S., Zhang, S., Lu, L., Liu, L., Liang, J., Lang, S., Wang, C., Wang, L., & Li, Z. (2024). Effects of combined ultrasound and calcium ion pretreatments on polyphenols during mung bean germination: Exploring underlying mechanisms. Food Research International, 195, Article 114947. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114947

Zhang, X., Yan, D., Qiu, W., Chen, S., Hu, Y., Jin, J., & Udenigwe, C. C. (2024). Effects of ultrasound combined with pH shift modification on functional and structural properties of peanut proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, *283*, 137874. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137874

Zhang, Y., Wei, R., Azi, F., Jiao, L., Wang, H., He, T., Liu, X., Wang, R., & Lu, B. (2022). Solid-state fermentation with Rhizopus oligosporus RT-3 enhanced the nutritional properties of soybeans. *Frontiers in Nutrition*, *9*. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.972860

Conflict of Interest Statements: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2027 Reza Astika Wahyu Pramesti, Sutrisno Adi Prayitno, Dwi Retnaningtyas Utami, and Amalia Rahma. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Licences (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.