

SKRIPSI

KUALITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN NATTO DENGAN VARIASI JENIS KACANG

Disusun oleh:
Albert
NPM: 140801506



UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2020

**KUALITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN NATTO DENGAN
VARIASI JENIS KACANG**

SKRIPSI

**Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi syarat untuk memperoleh
derajat sarjana S-1**

Disusun oleh:
Albert
NPM: 140801506



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2020**

PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Albert
NPM : 140801506
Judul Skripsi : Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi
Jenis Kacang

Menyatakan bahwa skripsi dengan judul tersebut di atas adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan saya susun dengan sejujurnya berdasarkan norma akademik dan bukan merupakan hasil plagiat. Adapun semua kutipan di dalam skripsi ini telah saya sertakan nama penulisnya dan telah saya cantumkan ke dalam Daftar Pustaka

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila ternyata di kemudian hari ternyata terbukti melanggar pernyataan tersebut, saya bersedia menerima sanksi akademik yang berlaku (dicabut predikat kelulusan dan gelar kesarjanaan saya).

Yogyakarta, 3 Juli 2020
Yang menyatakan

Meterei Rp.6000

Albert
140801506

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul:

KUALITAS DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN NATTO DENGAN VARIASI JENIS KACANG

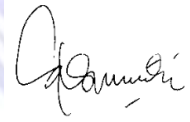
yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Albert
NPM: 140801506

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada hari Selasa, 14 Juli 2020
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

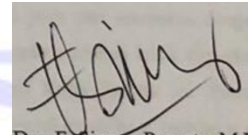
SUSUNAN TIM PENGUJI

Dosen Pembimbing Utama,



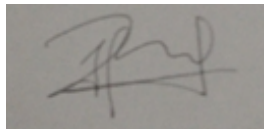
(Ekawati Purwijantiningsih S.Si, M.Si.)

Anggota Tim Penguji,



(Drs. F. Sinung Pranata M.P.)

Dosen Pembimbing Pendamping,



(Dr. rer. nat. Y. Reni Swasti, S.TP., M.P.)

Yogyakarta, 22 Juli 2020

UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI

Dekan Fakultas,



Dr. Drs, E. Mursyanti, M.Si.

GUNAKAN WAKTU KALIAN SEBAIK-BAIKNYA
KARENA ZAMAN SEKARANG INI JAHAT
EFESUS 5: 16

JUST DO IT! NOTHING IS IMPOSSIBLE
JUST DO IT!
SHIA LABEOUF, 2017

KEPUASAN ITU TERLETAK PADA USAHA, BUKAN PADA
PENCAPAIAN HASIL, BERUSAHA KERAS
ADALAH KEMENANGAN BESAR
MAHATMA GANDHI



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada-Nya atas berkat dan rahmat Tuhan yang Maha Esa bahwa penulis bisa menyelesaikan skripsi yang berjudul *Kualitas dan Aktivitas Antioksidan Natto dengan Variasi Jenis Kacang* sesuai dengan yang direncanakan. Penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Kedua orang tua penulis Bapak Setyawan dan Ibu Liana Kurniawati yang selalu mendukung dan mendoakan penulis setiap hari.
2. Ibu L. M. Eka Purwijantiningsih S.Si, M.Si. selaku dosen pembimbing utama, dan ibu Dr.rer.nat. Y. Reni Swasti, S.TP., M.P. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah membimbing penulis dalam skripsi ini.
3. Ibu Drs E. Mursyanti, M.Si. selaku Dekan Program Studi Biologi Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.
4. Kakak penulis Michael Setyawan yang mengingatkan penulis untuk selalu berjuang menyelesaikan skripsi ini
5. Keluarga besar Antono dan keluarga besar Santosa yang selalu mendukung penulis dalam menyemangati penulisan skripsi ini
6. Teman-teman penulis dalam lab teknobio-pangan yang membantu penulis dalam melakukan penelitian
7. Teman-teman CYF yang melindungi penulis dalam hidup beriman dan semangat menjalani hidup
8. Teman-teman Rotaract Jogja Tugu yang membantu penulis dalam mendukung penulisan skripsi ini
9. Teman-teman SEPex Muda 2 yang mendukung penulis dalam menghibur dan dukungan dalam pengerjaan skripsi ini
10. Teman-teman Vinea Dei yang selalu setia mendukung penulis dalam bertumbuh dalam iman

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna dengan

seegara kekurangannya. Untuk itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan dari skripsi ini. Penulis berharap semoga hasil dari skripsi ini ada manfaatnya bagi pembaca dan rekan-rekan mahasiswa demi menambah pengetahuan tentang Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang.

Yogyakarta, 3 Juli 2020

Penulis



DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|----------------|
| HALAMAN JUDUL..... | i |
| PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME..... | ii |
| LEMBAR PENGESAHAN | iii |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI..... | vii |
| DAFTAR GAMBAR..... | ix |
| DAFTAR TABEL..... | x |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xiii |
| INTISARI..... | xiv |
| I. PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| B. Perumusan Masalah | 3 |
| C. Tujuan Penelitian | 3 |
| D. Manfaat penelitian..... | 3 |
| E. Keaslian Penelitian..... | 3 |
| II. TINJAUAN PUSTAKA..... | 5 |
| A. Natto secara umum..... | 5 |
| B. Kandungan penting dalam natto | 8 |
| C. Kacang-kacangan | 10 |
| D. Antioksidan dan Isoflavon | 15 |
| E. Amonia..... | 20 |

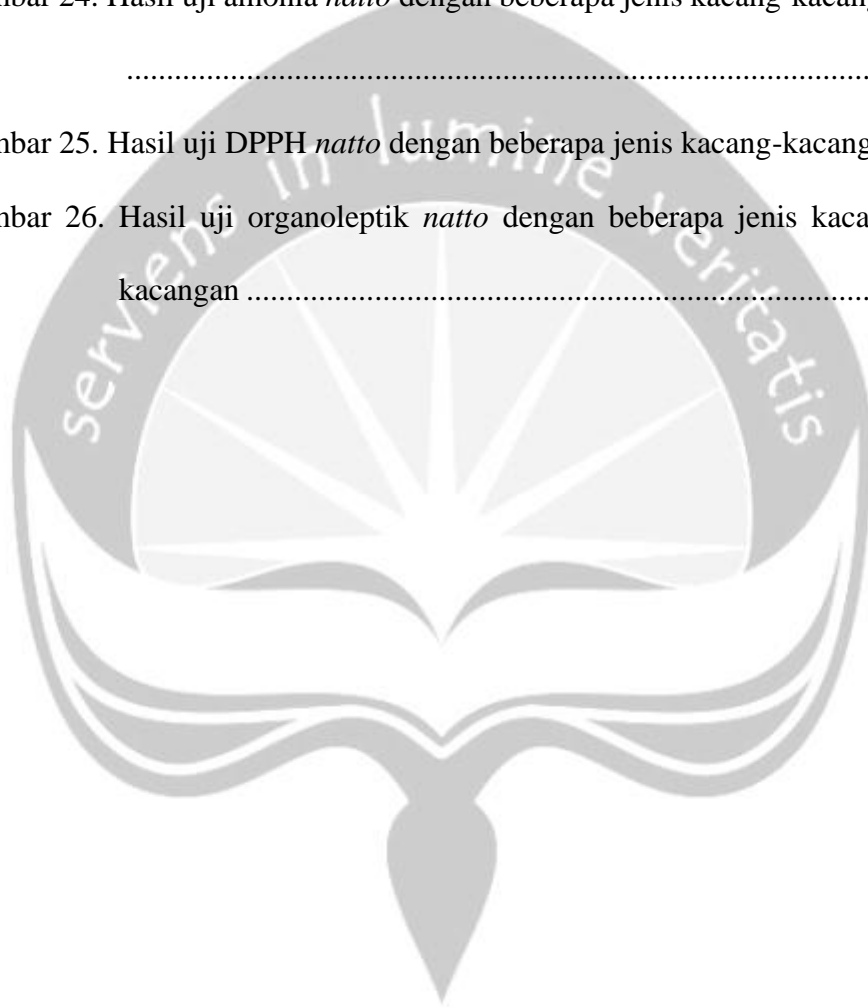
| | |
|--|-----------|
| F. Hipotesis..... | 20 |
| III.METODOLOGI PENELITIAN | 21 |
| A. Lokasi dan Waktu Penelitian | 21 |
| B. Bahan Habis Pakai | 21 |
| C. Alat..... | 21 |
| D. Rancangan Percobaan | 22 |
| E. Cara Kerja | 22 |
| F. Teknik Analisis Data..... | 25 |
| III.HASIL DAN PEMBAHASAN | 33 |
| A. Hasil Uji Kemurnian Starter | 33 |
| B. Hasil Uji Fisika <i>Natto</i> | 35 |
| C. Hasil Uji Kimia <i>Natto</i> | 38 |
| D. Hasil Uji Mikrobiologi..... | 45 |
| E. Hasil Uji Amonia | 47 |
| F. Hasil Uji DPPH..... | 48 |
| G. Hasil Uji Organoleptik | 51 |
| III. SIMPULAN DAN SARAN | 54 |
| A. Simpulan | 54 |
| B. Saran..... | 54 |
| DAFTAR PUSTAKA | 55 |
| LAMPIRAN..... | 61 |

DAFTAR GAMBAR

Halaman

| | |
|---|----|
| Gambar 1. <i>Natto</i> di Jepang..... | 6 |
| Gambar 2. Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> | 11 |
| Gambar 3. Kacang kedelai | 13 |
| Gambar 4. Kacang hijau..... | 15 |
| Gambar 5. Kacang tanah..... | 16 |
| Gambar 6. Kacang tunggak..... | 17 |
| Gambar 7. Aktivitas antioksidan berdasarkan IC ₅₀ dengan metode DPPH beberapa kacang-kacangan di Indonesia | 15 |
| Gambar 8. Bentuk koloni dari starter <i>natto</i> | 34 |
| Gambar 9. Hasil uji motilitas | 34 |
| Gambar 10. Hasil uji katalase | 34 |
| Gambar 11. Hasil uji gram..... | 35 |
| Gambar 12. Hasil uji tekstur <i>natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan | 36 |
| Gambar 13 <i>Natto</i> kacang kedelai | 37 |
| Gambar 14. <i>Natto</i> kacang tunggak..... | 37 |
| Gambar 15 <i>Natto</i> kacang hijau..... | 37 |
| Gambar 16. <i>Natto</i> kacang tanah..... | 37 |
| Gambar 17. Hasil uji kadar air <i>natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan | 39 |
| Gambar 18. Hasil uji kadar abu <i>natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan..... | 40 |
| Gambar 19. Hasil uji lemak <i>natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan.. | 42 |
| Gambar 20. Hasil uji protein <i>natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan | 43 |

| | |
|--|----|
| Gambar 21. Hasil uji karbohidrat <i>natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan | 44 |
| Gambar 22. Hasil uji ALT <i>Natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan | 46 |
| Gambar 23. Hasil uji ALT <i>natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan..... | 47 |
| Gambar 24. Hasil uji amonia <i>natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan | 49 |
| Gambar 25. Hasil uji DPPH <i>natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan ... | 44 |
| Gambar 26. Hasil uji organoleptik <i>natto</i> dengan beberapa jenis kacang-kacangan | 53 |



DAFTAR TABEL

Halaman

| | |
|--|----|
| Tabel 1. Standar Mutu <i>Natto</i> | 6 |
| Tabel 2. Kedudukan Taksonomi Kacang Kedelai | 9 |
| Tabel 3. Kedudukan Taksonomi Kacang Hijau..... | 11 |
| Tabel 4. Kedudukan Taksonomi Kacang Tanah..... | 12 |
| Tabel 5. Kedudukan Taksonomi Kacang Tunggak | 13 |
| Tabel 6. Kandungan gizi per 100 gram beberapa kacang-kacangan di Indonesia..... | 14 |
| Tabel 7. Kandungan antioksidan beberapa kacang-kacangan di Indonesia . | 14 |
| Tabel 8. Rancangan Percobaan Kualitas <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang..... | 17 |
| Tabel 9. Hasil uji tekstur Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 32 |
| Tabel 10. Hasil uji warna Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 33 |
| Tabel 11. Hasil uji kadar air Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang..... | 33 |
| Tabel 12. Hasil uji kadar abu Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang..... | 34 |
| Tabel 13. Hasil uji lemak Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 35 |
| Tabel 14. Hasil uji Protein Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 35 |
| Tabel 15. Hasil uji karbohidrat Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang..... | 36 |
| Tabel 16. Hasil uji ALT Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 37 |

| | |
|--|----|
| Tabel 17. Hasil uji <i>Basillus subtilis natto</i> Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 38 |
| Tabel 18. Hasil uji amonia Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 38 |
| Tabel 19. Hasil uji DPPH Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 40 |
| Tabel 20. Hasil uji organoleptik Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 41 |
| Tabel 21. Hasil Uji Tekstur <i>natto</i> | 49 |
| Tabel 22. Hasil Uji Tekstur <i>presto</i> | 49 |
| Tabel 23. Hasil Uji L <i>natto</i> | 49 |
| Tabel 24. Hasil Uji a <i>natto</i> | 49 |
| Tabel 25. Hasil Uji b <i>natto</i> | 49 |
| Tabel 26. Hasil Uji L <i>presto</i> | 50 |
| Tabel 27. Hasil Uji a <i>presto</i> | 50 |
| Tabel 28. Hasil Uji b <i>presto</i> | 50 |
| Tabel 29. Hasil Uji L <i>mentah</i> | 50 |
| Tabel 30. Hasil Uji a <i>mentah</i> | 50 |
| Tabel 31. Hasil Uji b <i>mentah</i> | 51 |
| Tabel 32. Hasil Uji Kadar Air <i>natto</i> | 51 |
| Tabel 33. Hasil Uji Kadar Air <i>rebus</i> | 51 |
| Tabel 34. Hasil Uji Kadar Air <i>mentah</i> | 51 |
| Tabel 35. Hasil Uji Kadar abu <i>mentah</i> | 51 |
| Tabel 36. Hasil Uji Kadar abu <i>presto</i> | 51 |
| Tabel 37. Hasil Uji Kadar abu <i>natto</i> | 52 |

| | |
|---|----|
| Tabel 38. Hasil Uji Lemak mentah | 52 |
| Tabel 39. Hasil Uji Lemak presto | 52 |
| Tabel 40. Hasil Uji Lemak natto | 52 |
| Tabel 41. Hasil Uji Protein mentah..... | 52 |
| Tabel 42. Hasil Uji Protein presto..... | 53 |
| Tabel 43. Hasil Uji Protein natto | 53 |
| Tabel 44. Hasil Uji karbohidrat mentah..... | 53 |
| Tabel 45. Hasil Uji Karbohidrat presto | 53 |
| Tabel 46. Hasil Uji Karbohidrat natto..... | 53 |
| Tabel 47. Hasil Uji DPPH mentah | 54 |
| Tabel 48. Hasil Uji DPPH natto..... | 54 |
| Tabel 49. Hasil Uji Amonia | 54 |
| Tabel 50. Hasil Uji ALT | 54 |
| Tabel 51. Hasil Uji Subtillis..... | 54 |
| Tabel 52. Analisis Anova Tekstur Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 55 |
| Tabel 53. Analisis duncan Tekstur Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 55 |
| Tabel 54. Analisis duncan Tekstur <i>Natto</i> Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 55 |
| Tabel 55. Analisis Anova Kadar Air Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 56 |
| Tabel 56. Analisis Duncan Kadar Air Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 56 |
| Tabel 57. Analisis Duncan Kadar Air Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 56 |

| | |
|--|----|
| Tabel 58. Analisis Duncan Kadar Air <i>Natto</i> Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 56 |
| Tabel 59. Analisis Anova Kadar Abu Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 57 |
| Tabel 60. Analisis Duncan Kadar Abu Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 57 |
| Tabel 61. Analisis Duncan Kadar Abu Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 57 |
| Tabel 62. Analisis Duncan Kadar Abu <i>Natto</i> Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 58 |
| Tabel 63. Analisis Anova Kadar Lemak Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 58 |
| Tabel 64. Analisis Duncan Kadar Lemak Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 58 |
| Tabel 65. Analisis Duncan Kadar Lemak Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 58 |
| Tabel 66. Analisis Duncan Kadar Lemak <i>Natto</i> Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 59 |
| Tabel 67. Analisis Anova Kadar Protein Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 59 |
| Tabel 68. Analisis Duncan Kadar Protein Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 59 |
| Tabel 69. Analisis Duncan Kadar Protein Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 60 |
| Tabel 70. Analisis Duncan Kadar Protein <i>natto</i> Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 60 |
| Tabel 71. Analisis Anova Karbohidrat Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 60 |
| Tabel 72. Analisis Duncan Kadar Karbohidrat Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 61 |

| | |
|---|----|
| Tabel 73. Analisis Duncan Kadar Karbohidrat Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 61 |
| Tabel 74. Analisis Duncan Kadar Karbohidrat <i>natto</i> Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 61 |
| Tabel 75. Analisis Anova DPPH Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 61 |
| Tabel 76. Analisis Duncan DPPH Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 62 |
| Tabel 77. Analisis Duncan DPPH <i>Natto</i> Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 62 |
| Tabel 78. Analisis Anova Amonia Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 62 |
| Tabel 79. Analisis Duncan Amonia Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 62 |
| Tabel 80. Analisis Anova ALT Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 63 |
| Tabel 81. Analisis Duncan ALT Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 63 |
| Tabel 82. Analisis Anova Penentuan jumlah <i>Basillus subtilis natto</i> Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 63 |
| Tabel 83. Analisis Duncan Penentuan jumlah <i>Basillus subtilis natto</i> Kualitas dan Aktivitas Antioksidan <i>Natto</i> dengan Variasi Jenis Kacang | 63 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|----------------------------------|----------------|
| Lampiran 1. Data Mentah | 49 |
| Lampiran 2. Hasil Uji SPSS | 55 |



INTISARI

Produk pangan berbasis kacang banyak sekali digunakan di negara-negara Asia, salah satunya adalah Jepang. Jepang membuat produk fermentasi sejak lama dan salah satunya adalah *natto*. *Natto* adalah produk hasil fermentasi dari bakteri *Bacillus subtilis* var *natto* berbasis kacang kedelai yang memiliki tekstur empuk dan berlendir. Penelitian ini memanfaatkan biji-bijian di Indonesia yang jarang digunakan, yaitu kacang tunggak, kacang hijau, dan kacang tanah menjadi produk serupa *natto*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh variasi jenis kacang terhadap kualitas *natto*, jenis kacang yang menghasilkan *natto* dengan kualitas terbaik, dan jenis kacang yang menghasilkan *natto* dengan aktivitas antioksidan tertinggi. Rancangan percobaan pada penelitian ini dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) berupa variasi kacang-kacangan yaitu kacang tunggak, kacang hijau, dan kacang tanah dan diulang sebanyak 3 kali. Setelah dijadikan produk, penulis menguji bentuk fisiknya, nilai proksimatnya berupa protein, lemak, karbohidrat, kadar air, dan kadar abu, mikrobiologis, kandungan ammonia, dan aktivitas antioksidan dari senyawa bioaktif dalam *natto*. Penulis juga menguji organoleptik dari responden yang mengenal tentang *natto* di Indonesia. Hasil dari penelitian tersebut bahwa terdapat perbedaan perubahan tekstur dan warna yang dihasilkan pada semua sampel dibandingkan dengan kontrol. Kadar air, kadar abu Protein, lemak, dan karbohidrat kacang tunggak, kacang hijau, dan kacang tanah memiliki perbedaan dibanding kontrol. Jumlah *Bacillus subtilis natto* yang dihasilkan lebih besar dibanding ALT dikarenakan prosedur yang berbeda. Aktivitas Antioksidan pada kacang kedelai lebih baik dibanding sampel lainnya. Organoleptik menunjukkan bahwa kacang tunggak lebih disukai dibanding yang lain. Penulis memberi kesimpulan bahwa terjadi perubahan kualitas pada kacang hijau, kacang tunggak, dan kacang tanah. *Natto* Kacang tunggak memiliki kualitas terbaik diantara *natto* kacang hijau dan kacang tanah. *Natto* Kacang tunggak memiliki aktivitas antioksidan terbaik diantara *natto* kacang hijau dan kacang tanah. Penulis menyarankan dalam membuat *natto* untuk mengganti kacang kedelai dengan kacang tunggak, kacang hijau, atau kacang tanah. Penulis juga menyarankan perlu diteliti jenis antioksidan yang terkandung dalam hasil *natto* kacang tunggak, kacang hijau, dan kacang tanah

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Populasi total Indonesia yang berumur 65 tahun ke atas adalah 8,58 % dari total populasi, berbeda dengan populasi total Jepang yang berumur 65 tahun ke atas yaitu 27,87 % dari total populasi (CIA, 2018). Di umur mereka yang sudah lansia ini, orang Jepang memiliki kebiasaan yang tidak sebagian besar orang Asia melakukannya, yaitu minum *yoghurt* atau minuman dan makanan fermentasi lainnya setiap hari, salah satunya adalah *natto* (Hitosugi et.al., 2015).

Pangan merupakan sumber utama manusia yang dapat menentukan kelangsungan hidup. Di Indonesia, produk pangan yang berbasis kacang sudah diaplikasikan pada masyarakat seperti tempe, tahu, oncom, dan lain-lain. Di Jepang, produk pangan berbasis kacang yang dimakan memiliki efek kesehatan yang terbukti menyehatkan orang-orang di Jepang karena memiliki senyawa yang membantu kesehatan orang Jepang, salah satu makanan tersebut adalah *natto* (Hitosugi et.al., 2015). Sebagai alternatif produk pangan sehat di Indonesia *natto* dapat dihasilkan dari kacang lokal di Indonesia.

Natto merupakan makanan fermentasi khas Jepang yang sudah ada sejak tahun 1400-an dan merupakan makanan populer hingga saat ini untuk sarapan bergizi tinggi. *Natto* merupakan hasil fermentasi kacang kedelai yang melibatkan bakteri *Bacillus subtilis* var. *natto*. *Natto* memiliki manfaat bagi kesehatan tubuh yaitu dapat melarutkan thrombus dalam tubuh, mencegah osteoporosis, antikanker, dan memiliki antioksidan yang tinggi (Yang et al., 2015).

Natto dapat dihasilkan dari bermacam-macam kacang selain kedelai karena hanya membutuhkan glukosa, sukrosa, fruktosa dan sejenisnya sebagai sumber karbonnya. Sukrosa dibutuhkan tidak hanya untuk pertumbuhan tetapi juga untuk bahan kental yang dihasilkan *natto*. Bakteri tersebut juga membutuhkan biotin untuk pertumbuhan dan germinasi sporanya (Steinkraus, 2005). Biotin dapat ditemukan di kacang-kacangan pada umumnya, termasuk kacang hijau, kacang tunggak, dan kacang tanah (Nauman, 1982)

Kacang kedelai merupakan bahan dasar untuk membuat *natto*. Kedelai di Indonesia banyak digunakan dalam produk fermentasi seperti tempe, oncom, tahu, dan produk lainnya serupa. yang digunakan saat ini sebagian besar merupakan hasil impor dari luar negeri. Kedelai yang diimpor sebanyak 570 ribu kg per bulan (Departemen Pertanian, 2017). Di Indonesia dapat dijumpai jenis kacang-kacangan berupa kacang hijau, kacang tunggak, dan kacang tanah yang merupakan bahan yang berpotensi sebagai alternatif dari kacang kedelai, namun masih jarang digunakan dalam inovasi produk pangan di Indonesia. Produksi kacang hijau sebanyak 234.718 ton, kacang tanah sebanyak 512.198 ton, dan kacang tunggak sebanyak 61.578 ton (Departemen Pertanian, 2017). Masing-masing jenis kacang tersebut memiliki manfaatnya tersendiri.

Kacang kedelai, kacang hijau, kacang tunggak, dan kacang tanah memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. Kacang kedelai memiliki flavonoid sebesar 4,56 g QE /100g ,fenol sebanyak 0,36 g GAE/100g, dan karotenoid sebanyak 0,75 g BE/100g. Kacang tunggak memiliki flavonoid sebesar 8,32 g QE /100g , fenol sebanyak 1,5 g GAE/100g, dan karotenoid

sebanyak 0,15 g BE/100g. Kacang hijau memiliki flavonoid sebesar 4,35 g QE /100g ,fenol sebanyak 0,76 g GAE/100g, dan karotenoid sebanyak 0,17 g BE/100g. Kacang tanah memiliki flavonoid sebesar 3,22 g QE /100g ,fenol sebanyak 1,38 g GAE/100g, dan karotenoid sebanyak 0,09 g BE/100g (Ruslan *et al.*, 2016).

Kacang hijau memiliki antioksidan yang tinggi yang berguna untuk tubuh, yaitu menurunkan kolesterol, mencegah dan mengobati kanker payudara, mengobati penyakit diabetes, menjaga kesehatan jantung, dan meningkatkan vitalitas pria (Arianto, 2018). Kacang tunggak memiliki manfaat bagi tubuh yaitu mencegah penyakit neurodegeneratif seperti penyakit Parkinson dan Alzheimer dan sebagai agen pencegah inflamasi (Murray dan Pizzorno, 2005). Kacang tanah memiliki manfaat kesehatan yaitu memiliki tinggi lemak tak jenuh, menurunkan kolesterol, tinggi vitamin E dan Magnesium serta tinggi antioksidan (Lim, 2012). Diharapkan dengan dibuatkan produk *natto*, manfaat yang ada dalam kacang hijau, kacang tunggak, dan kacang tanah bisa lebih baik.

B. Keaslian Penelitian

Sebuah penelitian telah dilakukan tentang substitusi substrat *natto* kacang kedelai dengan kacang tanah atau *cowpea*. Telah dibuktikan dengan pergantian dengan substrat kacang tanah atau *cowpea*, memberikan hasil yang serupa dengan *natto* dengan substrat kacang kedelai. Hal tersebut dibuktikan dengan jumlah gula terlarut dan nitrogen terlarut meningkat, dan asam lemak bebas dan trigliserida tidak berubah banyak selama masa fermentasi. Penelitian ini masih belum lengkap dengan adanya uji organoleptik (Beuchat *et al.*, 1985).

Natto Kacang hijau pernah diteliti kadar nattokinase dan vitamin K nya. *Natto* kacang hijau yang dihasilkan diubah menjadi miso kacang hijau terlebih dahulu lalu diukur nattokinase dan vitamin K nya. Hasil yang diperoleh yaitu *Natto* kacang hijau memiliki nattokinase sebesar 44,1 mikrogram dari 100 gram *natto* yang dihasilkan serta vitamin K sebesar 3,97 mg dari 100 gram *natto*. Penelitian ini masih belum lengkap karena tidak adanya uji kualitas serta organoleptik (Yatagai *et al.*, 2005).

Natto kacang tunggak pernah diteliti manfaatnya dengan mengekstrak sarinya terhadap hamster dalam menurunkan level hiperlipidemia. Prosedur yang telah dilakukan adalah mengekstrak 50 % dari kacang tunggak yang telah difermentasi menjadi *natto* untuk diuji kandungan lemak dan kolesterol pada hamster. Hasil yang diperoleh yaitu *natto* kacang tunggak dapat meningkatkan metabolisme lemak dengan menurunnya berat lemak dalam hamster. Penelitian ini masih belum lengkap karena tidak adanya uji kualitas serta organoleptik (Lin *et al.*, 2016)

C. Perumusan Masalah

Masalah yang ditimbulkan dalam penelitian ini adalah:

- a. Apakah variasi jenis kacang berpengaruh terhadap kualitas *natto*?
- b. Jenis kacang apakah yang menghasilkan *natto* dengan kualitas terbaik?
- c. *Natto* jenis kacang apakah yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi?

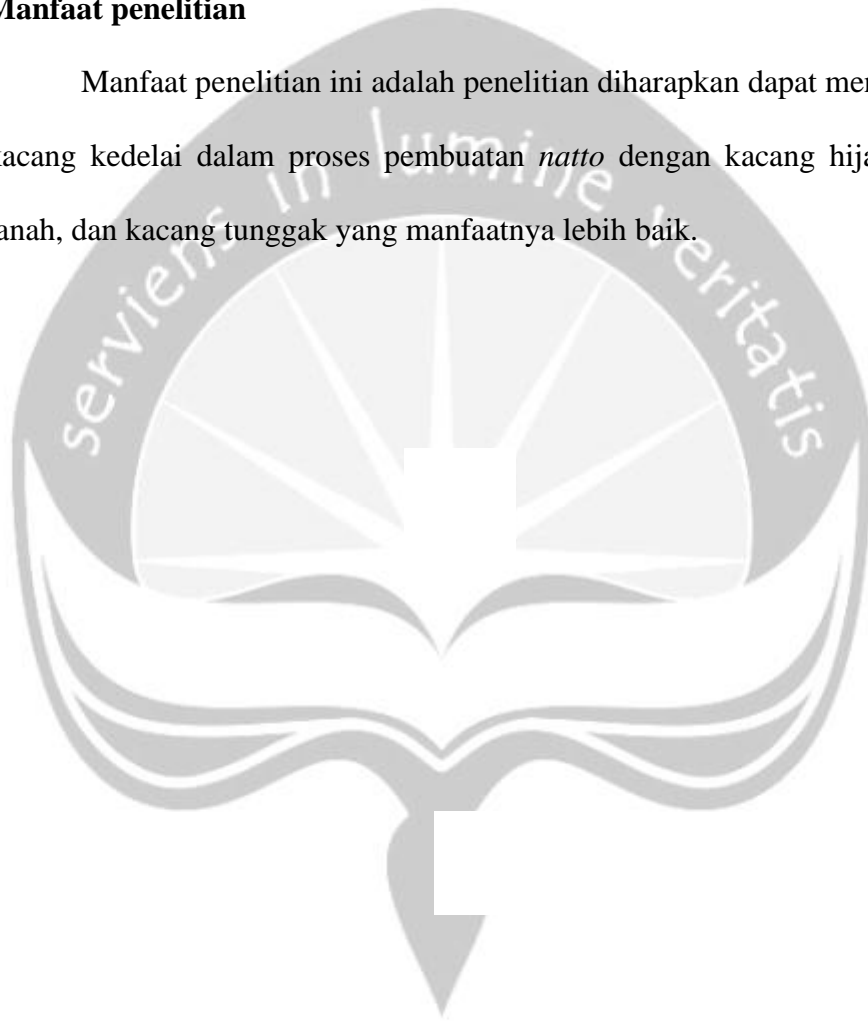
D. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mengetahui pengaruh variasi jenis kacang terhadap kualitas *natto*
- b. Mengetahui Jenis kacang yang menghasilkan *natto* dengan kualitas terbaik
- c. Mengetahui jenis kacang yang menghasilkan *natto* dengan aktivitas antioksidan tertinggi

E. Manfaat penelitian

Manfaat penelitian ini adalah penelitian diharapkan dapat menggantikan kacang kedelai dalam proses pembuatan *natto* dengan kacang hijau, kacang tanah, dan kacang tunggak yang manfaatnya lebih baik.



II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Natto secara umum

Natto merupakan makanan khas dari Jepang yang melibatkan fermentasi kacang kedelai dengan tekstur lengket yang khas. *Natto* memiliki ciri-ciri yang khas yaitu bau yang khas, tekstur lengket, dan rasa yang khas. Natto dalam 100 gram memiliki nilai gizi yaitu 16,5 g protein, 10 g lemak, 12,1 g karbohidrat, 1,9 g kadar abu, 59,5 g kadar air, dan 2148 mikrogram vitamin K (MEXT, 2015).

Natto merupakan makanan khas Jepang yang sudah ada sejak tahun 1400-an dan merupakan makanan populer hingga saat ini untuk sarapan bergizi tinggi. *Natto* merupakan hasil fermentasi kacang kedelai yang melibatkan bakteri *Bacillus subtilis* var. *natto*. *Natto* memiliki manfaat bagi kesehatan tubuh yaitu dapat melarutkan thrombus dalam tubuh, mencegah osteoporosis, antikanker, dan memiliki antioksidan yang tinggi (Yang *et al.*, 2015).



Gambar 1. *Natto* di Jepang (Japan Visitor, 2018).

Proses pembuatan *natto* meliputi pencucian, perendaman, pengukusan, penanaman starter, pembungkusan, dan fermentasi. Pencucian dilakukan agar kulit di kacang kedelai tidak ikut bereaksi saat dilakukan fermentasi. Perendaman dilakukan agar kacang kedelai lebih cepat lunak sewaktu dikukus. Saat fermentasi kacang kedelai akan mengeluarkan substansi yang lengket yang

mengandung asam glutamat, fruktan, asam amino seperti asam glutamat, fenil alanin dan tirosin; dan asam lemak colatiol (Shih and Van, 2001).

Natto memiliki produk berwarna kecokelatan dan lendir yang meyatukan antar biji kedelai (Gambar 1). *Natto* biasa dijual di supermarket Jepang dalam kemasan 50 gram dibungkus dengan plastik bolong di dalam kemasan *Styrofoam*. *Natto* perlu dipanaskan dahulu hingga suhu ruang agar tidak keras jika dimakan. *Natto* biasa dimakan di pagi hari dengan cara diaduk sebanyak mungkin untuk mengeluarkan rasa umami di *natto* dan dicampur dengan kecap asin atau *mustard* untuk menambah cita rasa *natto* (Homma, 1991).

Natto belum memiliki standar mutu yang resmi. Standar tersebut sudah diminta oleh Jepang pada tahun 2016 yang lalu dan masih menunggu konfirmasi oleh CODEX hingga keluar standar regionalnya pada tahun 2021 (WHO, 2016). Peneliti untuk meneliti *natto* menggunakan standar SNI tauco dan beberapa standar keamanan pangan internasional lainnya. Standar SNI dan standar keamanan pangan internasional lainnya dapat dilihat di Tabel 1.

Fermentasi memiliki 2 jenis proses, yaitu fermentasi spontan dan fermentasi tidak spontan. Fermentasi spontan merupakan fermentasi yang prosesnya tidak membutuhkan starter dengan kondisi lingkungan yang cukup untuk mikroorganisme tumbuh. Fermentasi tidak spontan merupakan fermentasi yang membutuhkan starter karena di bahan belum ada mikroorganisme yang diinginkan dan diolah sesuai dengan lingkungan ideal mikroorganisme tersebut. *Natto* merupakan produk yang membutuhkan starter karena di biji kedelai tidak ada mikroorganisme *Bacillus subtilis natto*. (Hui *et al.*, 2004).

Tabel 1. Standar Mutu *Natto*

| no | Satuan | Persyaratan | Sumber | catatan |
|----|--|------------------------------------|--|--------------------|
| 1 | keadaan | | | |
| | Bau | Normal, khas | SNI 01-4322-1996 | Standar mutu tauco |
| | Rasa | normal | SNI 01-4322-1996 | Standar mutu tauco |
| | warna | normal | SNI 01-4322-1996 | Standar mutu tauco |
| 2 | Protein (Nx6,25) | % (b/b) Min. 10 | SNI 01-4322-1996 | Standar mutu tauco |
| 3 | <i>Bacillus subtilis</i> var. <i>natto</i> | CFU/100g Min 2,5 x 10 ⁸ | Ueda, 1989 dalam JNKA, 2011 | Per hari konsumsi |
| 4 | Cemaran logam: | | | |
| | Tembaga (Cu) | mg/kg Maks. 30 | SNI 01-4322-1996 | Standar mutu tauco |
| | Timbal (Pb) | mg/kg Maks. 1 | SNI 01-4322-1996 | Standar mutu tauco |
| | Seng (Zn) | mg/kg Maks. 40 | SNI 01-4322-1996 | Standar mutu tauco |
| | Timah (Sn) | mg/kg Maks. 40 | SNI 01-4322-1996 | Standar mutu tauco |
| | Arsen (As) | mg/kg Maks. 0,5 | SNI 01-4322-1996 | Standar mutu tauco |
| 5 | Cemaran kimia: | | | |
| | Amonia | mg/100g 100-150 | Maruo dan Yoshikawa, 1989. | |
| 6 | Cemaran mikroba: | | | |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | - Negatif/100 g | Ministry of Health, labor and Welfare Japan, 1993 dalam Coop, 2014 | |
| | <i>Salmonella sp.</i> | - Negatif/100 g | Ministry of Health, labor and Welfare Japan, 1993 dalam Coop, 2014 | |
| | <i>Coliform</i> | - Negatif/100 g | Ministry of Health, labor and Welfare Japan, 1993 dalam Coop, 2014 | |

B. Kandungan dalam *natto*

1. Nattokinase

Dalam *natto* terdapat enzim khas bernama nattokinase. Nattokinase merupakan enzim yang terdapat di *natto* yang dihasilkan dari fermentasi oleh *Bacillus subtilis natto*. Nattokinase memiliki efek kesehatan yaitu mendegradasi fibrin yang merupakan komponen utama trombus, aktivasi pro-urokinase yaitu prekursor urokinase yang merupakan enzim trombolitik di tubuh, dan meningkatkan jumlah aktivator jaringan plasminogen yang memproduksi enzim trombolitik disebut plasmin, meningkatkan aktivitas trombolitik, dan menurunkan tekanan darah. Walaupun sudah ada suplemen nattokinase murni, *natto* sebagai makanan lebih dianjurkan untuk dikonsumsi karena memiliki gizi yang lebih lengkap (Fujita *et al.*, 1995)

2. Asam poli-gama-glutamat

Asam poli-gama-glutamat (*Gamma Polyglutamic Acid* atau disingkat γ -PGA) merupakan produk utama hasil fermentasi dari *natto*. PGA menjadi ciri khas *natto* yaitu menghasilkan substansi lengket. PGA digunakan sebagai produk kosmetik, pengolahan air, dan pengental makanan.

Asam poli-gama-glutamat mengandung monomer asam glutamat L dan D. Asam L-glutamat yang berasal dari sumber luar medium kultivasi yang mengandung asam glutamat atau sintesis *de novo* dengan glukosa melalui siklus asam sitrat atau siklus krebs diubah menjadi asam D-glutamat melalui dua cara yang berbeda, yaitu perubahan tidak langsung dari amino transferase (DAT) atau perubahan langsung dari asam glutamat racemase Glr

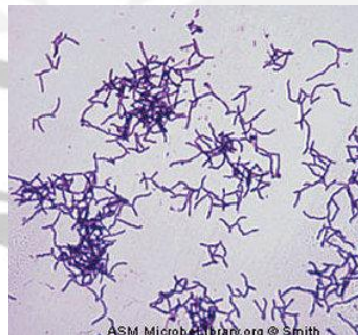
atau YrpC tergantung dari jenis bakteri. Asam L-glutamat pada *Bacillus subtilis* langsung diubah ke asam D-glutamat dengan asam glutamat racemase Glr atau YrpC (Ashiuchi dan Misono, 2002a).

Polimerisasi Asam L-glutamat atau asam D-glutamat dilakukan melalui salah satu dari dua mekanisme, yaitu mekanisme berdasarkan tiotemplat (Gardner dan Troy, 1979) atau perilaku mirip amide-ligase yang meliputi PgsBCA kompleks (Ashiuchi *et al.*, 1998). Dalam mekanisme tiotemplat, asam L-glutamat merupakan substrat untuk reaksi polimerasi pada asam glutamat racemase dan asam glutamat polimerase. PgsBCA dapat menerima Asam L-glutamat dan Asam D-glutamat sebagai substrat walaupun lebih memilih asam L-glutamat sedikit, dan tidak memiliki aktivitas racemase (Gardner dan Troy, 1979).

Bacillus subtilis menghasilkan PGA dengan cara seperti amide-ligase melalui membrane PgsBCA kompleks yang akseptor nya diaktifkan dengan ATP membentuk fosfatasil intermediet, diikuti dengan serangan nukleofilik dari donor grup amino yang sebagian besar monomer Asam L-glutamat atau Asam D-glutamat menjadi fosfatasil intermediet menjadi PGA. Polimerasi PGA diduga terjadi pada sisi aktif PgsB dalam PgsBCA yang ada pada membran melalui transmembran PgsC, yang PGA nya seharusnya dibawa keluar dari sel oleh PgsA. Cara PGA keluar dari sel masih kurang diteliti lebih dalam (Brehm, 2009).

C. *Bacillus subtilis natto*

Selama proses fermentasi, mikroorganisme utama yang terlibat adalah *Bacillus subtilis natto*. Mikroorganisme tersebut merupakan bakteri gram positif, berbentuk bulat lonjong, motil, katalase positif, menghasilkan endospora yang kuat, obligat aerob, dan suhu optimum pertumbuhannya yaitu 40 °C. *Bacillus subtilis natto* dalam proses fermentasi akan menghasilkan asam poli-gamma-glutamat dan enzim nattokinase. Asam poli-gamma-glutamat berguna sebagai pengental dan nattokinase berguna dalam memperlancar peredaran darah. Standar jumlah mikroorganisme tersebut dalam makanan *natto* adalah $2,5 \times 10^8$ CFU/g (Ueda, 1989 dalam JNKA, 2011). Bentuk Bakteri tersebut dapat dilihat di Gambar 2.



Gambar 2. Bakteri *Bacillus subtilis* (ASM, 2016)

Bacillus subtilis natto dapat memfermentasi bermacam-macam kacang selain kedelai. Bakteri tersebut dalam fermentasi membutuhkan glukosa, sukrosa, fruktosa dan sejenisnya sebagai sumber karbonnya. Sukrosa dibutuhkan tidak hanya untuk pertumbuhan tetapi juga untuk bahan kental yang dihasilkan *natto*. Bakteri tersebut juga membutuhkan biotin untuk pertumbuhan dan germinasi sporanya (Steinkraus, 2005). Biotin dapat ditemukan di kacang-

kacangan pada umumnya, termasuk kacang hijau, kacang tunggak, dan kacang tanah (Nauman, 1982).

Starter untuk penelitian ini berasal dari perusahaan Kojiya sanzaemon. Kojiya sanzaemon (糀屋三左衛門) adalah perusahaan Jepang berpusat di prefektur Aichi, Jepang yang menjual berbagai macam produk berbahan kacang-kacangan dan legum lainnya serta pendukungnya. Produk yang dijual merupakan produk mentah dan produk fermentasi. Perusahaan tersebut terkenal karena sering menjual starter *natto* untuk konsumen membuat *natto* di rumah masing-masing. Starter tersebut bernama 納豆菌 (*nattou kin*) yang berarti bakteri *natto*, yaitu bakteri *Bacillus subtilis natto* yang dipakai untuk pembuatan *natto* yang telah dikeringkan (Koji-za, 2019).

D. Kacang-kacangan

1. Kacang Kedelai

Kacang kedelai (*Glycine max* L.) merupakan tanaman yang menghasilkan biji kedelai yang sering dimanfaatkan di Indonesia menjadi berbagai bahan pangan seperti tahu, tempe, susu kedelai, dll. Biji kacang kedelai berasal dari polong yang berisi 1-4 biji. Awal pertumbuhan biji berukuran kecil dan berwarna putih kehijauan dan selama perkembangan biji semakin berisi dan semakin keras (Pitojo, 2003). Kacang kedelai memiliki biotin sebanyak 60 $\mu\text{g}/100$ gram (Spungen dan Pennington, 2005). Kedudukan taksonomi dari kacang kedelai dapat dilihat di Tabel 2.

Tabel 2. Kedudukan Taksonomi Kacang Kedelai

| | |
|-----------------|----------------------|
| Kerajaan | Plantae |
| Divisi | Magnoliofita |
| Kelas | Magnoliopsida, |
| Ordo | Fabales |
| Marga | Fabaceae |
| Suku | Glycine |
| Jenis | <i>Glycine max</i> L |

(sumber: ITIS, 2018)

Kacang kedelai di Indonesia memiliki 4 varian warna kulit, yaitu kacang kedelai putih, coklat, hijau, dan hitam, dan tidak ada perbedaan signifikan diantara keempat warna tersebut. Kacang kedelai di Indonesia memiliki 3 jenis berdasarkan umur panen, yaitu kedelai genjah yaitu dipanen setelah 78-85 hari pertumbuhan, kedelai tengahan yaitu dipanen setelah 85-95 hari pertumbuhan, dan kedelai dalam yaitu dipanen setelah lebih dari 95 hari pertumbuhan (Astawan, 2009).



Gambar 3. Kacang kedelai

2. Kacang Hijau

Kacang hijau merupakan produk pangan mentah yang biasa diolah menjadi berbagai macam produk untuk dikonsumsi. Kacang hijau di Indonesia diperkirakan lebih dari 2000 varietas. Kacang hijau yang dipilih untuk penelitian ini adalah kacang hijau varietas lokal yang terletak di Jawa.

Kacang hijau memiliki antioksidan yang tinggi yang berguna untuk tubuh, yaitu menurunkan kolesterol, mencegah dan mengobati kanker payudara, mengobati penyakit diabetes, menjaga kesehatan jantung, dan meningkatkan vitalitas pria (Arianto, 2018).

Kacang hijau berbentuk bulat dan lonjong yang umumnya berwarna hijau namun terdapat yang berwarna kuning, hitam, dan coklat. Kacang hijau di Indonesia biasa digunakan dalam berbagai hidangan olahan seperti bubur kacang hijau, atau sari kacang hijau (Astawan, 2009).

Kacang hijau 100 gram memiliki kandungan gizi protein sebesar 22 gram, lemak sebesar 1,2 gram, karbohidrat sebesar 62,9 gram, dan air sebanyak 10 gram (Pitojo, 2003). Kacang hijau juga memiliki biotin sebanyak 11,2 $\mu\text{g}/100$ gram (Watanabe *et al.*, 2014). Kedudukan taksonomi dari kacang hijau dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kedudukan Taksonomi Kacang Hijau

| | |
|-----------------|----------------------|
| Kerajaan | Plantae |
| Divisi | Trakeofita |
| Kelas | Magnoliopsida |
| Ordo | Fabales, |
| Marga | Fabaceae |
| Suku | Vigna, |
| Jenis | <i>Vigna Radiata</i> |

(sumber: ITIS, 2018)

Kacang hijau dan kacang kedelai pernah diteliti kandungan antioksidan berupa fenol, flavonoid, dan saponinnya. Setelah diteliti dan dibandingkan, kandungan fenol dan flavonoid pada kacang hijau lebih banyak dibanding dengan kacang kedelai. Walaupun kadar saponin pada kacang kedelai 4,5 kali lebih banyak dibanding dengan kacang hijau, kacang

hijau memiliki aktivitas antioksidan lebih baik dibanding dengan kacang kedelai (Lee *et. al.*, 2011). Saponin mempunyai manfaat yaitu sebagai pengatur kekebalan tubuh, antitumor, antivirus, antiradang, dapat menurunkan kolesterol, dan sebagai antioksidan. Flavonoid adalah salah satu kelompok fenolik senyawa metabolit sekunder dari hasil fotosintesis memiliki manfaat antidiabetes dan antioksidan. Fenol adalah senyawa aromatik yang memiliki gugus hidroksil yang membantu tanaman dalam proses tumbuh dan berkembang (Arpiwi *et al.*, 2019).



Gambar 4. Kacang hijau

Kacang hijau terdapat 2 jenis yaitu *golden gram* dan *green gram*. *Golden gram* merupakan kacang hijau yang berwarna keemasan, dan *green gram* merupakan kacang hijau yang berwarna hijau. Kacang hijau di Indonesia dikenal 2 jenis, yaitu kacang hijau kecil dan kacang hijau besar. Kacang hijau besar biasa digunakan dalam tepung dan bubur, sedangkan kacang hijau kecil digunakan untuk membuat taugé (Astawan, 2009).

3. Kacang Tanah

Kacang Tanah merupakan salah satu tanaman yang sering dikonsumsi masyarakat di Indonesia. Varietas lokal pada umumnya memiliki biji kecil yaitu 30-40 g/100biji. Kacang tanah dalam 100 gram memiliki gizi 453 kalori,

25,3 g protein, 42,8 g lemak, 21,1 g karbohidrat, 58 mg kalsium, 335 mg fosfor, 1,3 mg zat besi, 0,3 mg vitamin B-1, dan 3 mg vitamin C (Direktorat Gizi Departemen Kesehatan Republik Indonesia dalam Pitojo, 2005) dan memiliki biotin sebanyak 43,5 $\mu\text{g}/100$ gram (Watanabe *et al.*, 2014). Kacang tanah memiliki manfaat kesehatan yaitu memiliki tinggi lemak tak jenuh, menurunkan kolesterol, tinggi vitamin E dan magnesium, dan tinggi antioksidan (Lim, 2012). Kedudukan taksonomi kacang tanah dapat dilihat di Tabel 4.

Tabel 4. Kedudukan Taksonomi Kacang Tanah

| | |
|-----------------|-------------------------|
| Kerajaan | Plantae |
| Divisi | Spermatophyta |
| Kelas | Dikotiledon |
| Ordo | Rosales |
| Marga | Panilionaceae |
| Suku | Arachis |
| Jenis | <i>Arachis hypogaea</i> |

(sumber: ITIS, 2018)

Kacang tanah sering ditakuti kandungan aflatoksinya karena proses pengolahannya yang kurang baik, sehingga perlu perhatian khusus dalam mengolah kacang tanah dimulai dari bahan bakunya. Kacang tanah memiliki tekstur lembut dan rasa gurih. Kacang tanah biasanya memiliki 1-4 biji per polong (Pitojo, 2005). Aflatoksin diproduksi oleh jamur perusak pangan jika disimpan lama. Melalui fermentasi, aflatoksin bisa dicegah dengan menghambat pertumbuhan jamur perusak pangan dengan dominansi bakteri starter (Steinkraus, 2005).



Gambar 5. Kacang tanah

4. Kacang tunggak

Kacang tunggak merupakan kacang yang berasal dari kacang polong hijau yang sering dijumpai di pasar Indonesia. Kacang tunggak memiliki karakteristik yaitu terdapat cincin hitam pada hilum biji. kacang tunggak berasal dari Afrika dan sampai saat ini masih kurang diteliti sebagai sumber pangan sebagai substitusi kacang kedelai. Kacang tunggak memiliki manfaat yaitu memiliki serat pangan tinggi, antioksidan tinggi, tinggi vitamin A dan C, dan tinggi asam lemak tak jenuh ganda seperti omega-3 dan omega-6 (Silva et al., 2018).

Semua spesies *Vigna unguiculata* dikategorikan sebagai subspecies *unguiculata* dan dibagi per sub-divisi menjadi 4 grup, yaitu unguiculata, biflora, sesquipedalis, dan textilis. Unguiculata merupakan kacang tunggak berwarna kuning umum ditemukan di Afrika. Biflora merupakan kacang tunggak yang berwarna merah hingga merah gelap dikenal sebagai *catjang* biasa dijual sebagai pakan ternak. Sesquipedalis merupakan kacang tunggak yang tumbuh menjadi kacang polong. Textilis merupakan kacang tunggak

berserabut panjang tumbuh di utara nigeria sebagai serat pakan hewan (Lim, 2012).



Gambar 6. Kacang tunggak

Biji kacang tunggak bervariasi dalam ukuran, bentuk, maupun warna berupa kerem, coklat, hitam, dan merah. Berat 100 biji kacang tunggak berkisar antara 10-25 gram. Panjang biji kacang tunggak berkisar antara 2-12 mm dan memiliki hilum berwarna putih yang dikelilingi cincin berwarna hitam (Trustinah, 1998). Kacang tunggak memiliki biotin sebanyak 20 μg /100 gram (Silva *et al.*, 2018). Kedudukan taksonomi dari kacang tunggak dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kedudukan Taksonomi Kacang Tunggak

| | |
|----------|--------------------------|
| Kerajaan | Plantae |
| Divisi | Spermatofita |
| Kelas | Dikotiledon |
| Ordo | Polipetalae |
| Marga | Leguminose |
| Suku | Vigna |
| Jenis | <i>Vigna unguiculata</i> |

(sumber: ITIS, 2018)

Tabel 6. Kandungan gizi per 100 gram beberapa kacang-kacangan mentah (%) (MEXT, 2015)

| No | Jenis Kacang | Perlakuan | Kadar Air | Protein | Lipid | Karbohidrat | Kadar Abu |
|----|-----------------------------|-----------|-----------|---------|-------|-------------|-----------|
| 1 | Kacang Kedelai | Mentah | 12,4 | 33,8 | 19,7 | 29,5 | 4,7 |
| 2 | Kacang Tunggak | | 15,5 | 23,9 | 2 | 55 | 3,6 |
| 3 | Kacang Hijau | | 10,8 | 25,1 | 1,5 | 59,1 | 3,5 |
| 4 | Kacang Tanah (belum matang) | | 50,1 | 12,0 | 24,2 | 12,4 | 1,3 |
| 1 | Kacang Kedelai | Rebus | 65,4 | 14,8 | 9,8 | 8,4 | 1,6 |
| 2 | Kacang Tunggak | | 63,9 | 10,2 | 0,9 | 23,8 | 1,2 |
| 3 | Kacang Hijau | | 66,0 | 10,2 | 0,6 | 22,5 | 0,7 |
| 4 | Kacang Tanah (belum matang) | | 51,3 | 11,9 | 23,5 | 12,3 | 1,0 |

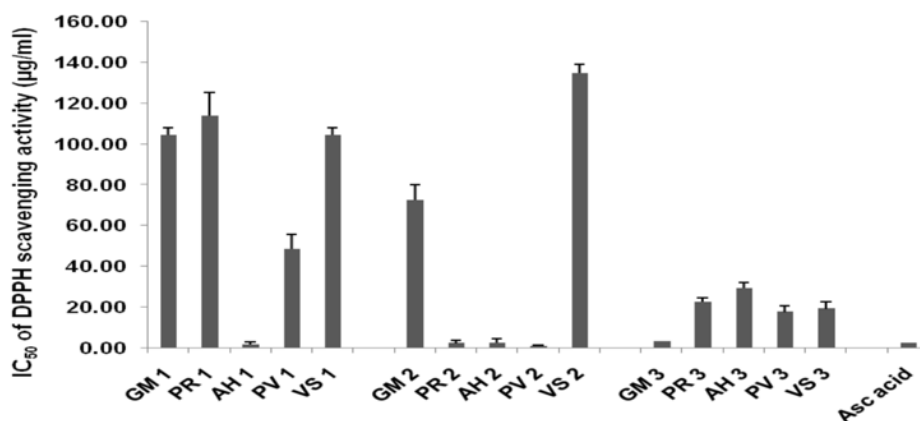
H. Antioksidan dan Isoflavon

Dalam proses hidup, secara fisiologis sel akan menghasilkan radikal bebas sebagai hasil dari metabolisme sel aerob dan reaksi biokimia di dalamnya. Tubuh secara alami dapat melawan radikal tersebut yaitu melalui antioksidan intrasel terdiri dari enzim-enzim yang dihasilkan tubuh. Jumlah antioksidan tersebut harus memadai dengan jumlah radikal yang dihasilkan tubuh. Jika jumlah radikal bebas berlebihan, aktivitas antioksidan tersebut akan menurun. Maka dari itu dibutuhkan antioksidan eksogen yang berasal dari bahan pangan untuk menetralkan efek dari radikal bebas (Preedy, 2013).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menurunkan aktivitas radikal bebas yang dihasilkan oleh tubuh. Antioksidan sudah ada dalam tubuh atau dapat diperoleh dari luar tubuh melalui bahan pangan. Upaya meningkatkan antioksidan dalam tubuh dapat mengonsumsi zat-zat gizi antioksidan seperti protein untuk meningkatkan jumlah enzim dalam tubuh, dan mengonsumsi zat non gizi antioksidan seperti komponen bioaktif (Min dan Akoh, 2002).

Antioksidan yang dapat diperoleh dari luar tubuh dapat diperoleh dari antioksidan sintetik dan antioksidan alami. Antioksidan sintetik yaitu antioksidan yang diperoleh dari reaksi kimia, sedangkan antioksidan alami merupakan antioksidan yang diperoleh langsung dari bahan alami dan tidak melalui proses berlebihan. Antioksidan alami berasal dari senyawa fenolik seperti golongan flavonoid. Flavonoid adalah salah satu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman kacang-kacangan dan leguminosa merupakan bahan alami penghasil antioksidan kelompok flavonoid, yang dikenal sebagai isoflavon. Isoflavon merupakan senyawa polifenolik yang strukturnya terdiri dari 2 cincin benzen A dan B dan terikat dengan cincin C piran heterosiklik. Struktur isoflavon hampir sama dengan flavon, yaitu cincin B pada isoflavon terikat pada karbon

nomor 2 cincin tengah C, sedangkan cincin B flavon terikat pada karbon nomor 3 cincin tengah C (Winarsi, 2007).



Keterangan:

GM1 : kacang kedelai yang diekstrak dengan n-heksana

PR2 : Kacang hijau yang diekstrak dengan etil asetat

AH3 : Kacang tanah yang diekstrak dengan etanol

PV : kacang merah

VS : kacang bogor

Gambar 7. Aktivitas antioksidan berdasarkan IC₅₀ dengan metode DPPH beberapa kacang-kacangan di Indonesia (Ruslan *et al.*, 2016).

Radikal bebas adalah molekul atau atom yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Radikal bebas berifat sangat reaktif, tidak stabil, dan dapat merebut elektron dari molekul lain untuk mendapatkan pasangan elektronnya. Sistem reaksinya adalah molekul yang kehilangan pasangan elektronnya akan menarik elektron makromolekul biologis disekitarnya. Radikal bebas dibentuk melalui dua acara yaitu secara endogen dan secara eksogen. Radikal bebas yang dibentuk secara endogen merupakan respon normal dari peristiwa biokimia dalam tubuh intrasel maupun ekstrasel, sedangkan radikal bebas eksogen diperoleh dari polutan seperti asap rokok, obat-obatan, radiasi ionisasi, atau sinar ultra violet. Isoflavon bekerja dalam tubuh sebagai

antioksidan untuk melawan radikal bebas dalam tubuh. Isoflavon melawannya melalui dua cara yaitu mendonorkan ion hidrogen dan bertindak sebagai *scavenger* radikal bebas langsung (Preedy, 2013).

Tabel 7. Kandungan antioksidan beberapa kacang-kacangan di Indonesia (Ruslan *et al.*, 2016)

| no | Jenis kacang | Flavonoid (g QE/100 g) | Fenol (g GAE/100 g) | Karotenoid (g BE/100 g) | Aktivitas antioksidan ($\mu\text{mol TE/g}$) | catatan |
|----|----------------|------------------------|---------------------|-------------------------|--|--|
| 1 | Kacang Kedelai | $4,56 \pm 0,16$ | $0,36 \pm 0,02$ | $0,75 \pm 0,010$ | 3,2 | Diekstrak dengan etil asetat |
| 2 | Kacang tunggak | $0,21 \pm 0,06$ | $2,51 \pm 0,20$ | $0,06 \pm 0,010$ | 112 | Diekstrak dengan aseton (Sombie <i>et al.</i> , 2018). |
| 3 | Kacang Hijau | $4,35 \pm 0,25$ | $0,76 \pm 0,07$ | $0,17 \pm 0,001$ | 3,7 | Diekstrak dengan etil asetat |
| 4 | Kacang Tanah | $3,22 \pm 0,20$ | $1,38 \pm 0,07$ | $0,09 \pm 0,003$ | 28,9 | Diekstrak dengan etil asetat |

Struktur meta 5,7-dihidroksil cincin A berperan sebagai donor ion hidrogen sehingga membentuk senyawa lebih stabil yaitu terbentuk radikal fenoksil kurang reaktif, dan gugus 4'-hidroksil pada cincin B isoflavon berperan sebagai *scavenger* radikal bebas melanjutkan reaksi pada cincin B yaitu mendonorkan elektron ke radikal hidroksil dan peroksil pada radikal bebas, sehingga membentuk radikal flavonoid yang relative lebih stabil (Winarsi, 2007). Kandungan antioksidan pada masing-masing kacang dapat dilihat di Tabel 7. Aktivitas antioksidan pada masing-masing kacang dapat dilihat di Gambar 3.

J. Amonia

Amonia (NH_3) adalah senyawa hasil samping fermentasi *natto* yang menjadi ciri khasnya. Amonia merupakan hasil metabolisme organisme yang memiliki bau khas yang menyengat. Amonia menjadi salah satu senyawa volatil bau utama dari *natto*, diikuti dimetil piridin dan 2 asam metil butirat (Tanaka *et al.*, 1998). Amonia dalam fermentasi menambah seiring dengan waktu fermentasi, sehingga kualitas *natto* berkurang. Selama penyimpanan, *natto* akan menghasilkan kristal bernama kristal tirosin, yang mengandung tirosin dan/atau struvit (amonium magnesium sulfat) (Tanaka dan Tomiyasu, 1973). Amonia dalam *natto* dijual dengan kadar sebesar 100-150mg/100g (Maruo dan Yoshikawa, 1989).

B. Hipotesis

1. Variasi jenis kacang berpengaruh terhadap kualitas *natto*
2. Jenis kacang tunggak dapat menghasilkan *natto* dengan kualitas terbaik, karena memiliki tekstur yang lebih lunak dan protein yang banyak
3. Jenis kacang tunggak memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibanding kacang lainnya.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan Hasil seluruh uji yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Variasi jenis kacang berpengaruh terhadap kualitas *natto*.
2. Jenis kacang tunggak dapat menghasilkan *natto* dengan kualitas terbaik, karena memiliki kandungan protein dan jumlah mikroba sesuai dengan standar.
3. Jenis kacang tunggak memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi dibanding kacang lainnya.

B. Saran

Saran yang bisa diberikan penulis kepada pembaca naskah ini adalah sebagai berikut:

1. Kacang tunggak, kacang hijau, dan kacang tanah dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan *natto*.
2. Perlu diuji jenis antioksidan yang terkandung pada ekstrak hasil uji antioksidan *natto*

DAFTAR PUSTAKA

- American Society of Microbiology. 2016. *Bacillus subtilis*. www.asmscience.org. Diakses pada tanggal 15 Februari 2020.
- Apriyantono, A., Fardiaz, D., Puspitasari, N. L., Sedarnawati dan Budianto, S. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Arianto, Y. C. K. 2018. *56 Makanan Ajaib dan Manfaatnya untuk Kesehatan dan Kecantikan*. Venom Publisher, Jakarta.
- Arpiwi, N. L., Astarini, I. A., Deswiniyanti, N. W., dan Lestari, N. K. D. 2019. *Bioteknologi in vitro lili*. Penerbit Deepublish, Yogyakarta.
- Ashiuchi M., dan Misono, H. 2002a. Biochemistry and and Molecular Genetics of Poly- γ -Glutamate synthesis. *Application of Microbiology and Biotechnology*. 59: 9-14.
- Asrullah, M., Matha, A. H., Citrakesumasari, Jafar, N., dan Fatimah. 2012. Denaturasi dan daya cerna protein pada proses pengolahan lawa bale (makanan tradisional Sulawesi selatan). *Media Gizi Masyarakat Indonesia*. 1(2): 84-90
- Astawan, M. 2009. *Sehat dengan Hidangan Kacang & Biji-bijian*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Badan Standarisasi Nasional Indonesia (BSNI) 1996. *SNI: 01-4322-1996 tentang Tauco*. BSN, Jakarta
- Beuchat, L. R., Nakayama, T., Phillips, R. D. dan Worthington, R. E. 1985. Comparison of Soybean, Peanuts and Cowpeas as Substrates for Preparing Natto. *J. Ferment. Technol.* 63: 319–324 .
- Buchanan, J. R., dan Gibbons, N. E. 1974. *Bergey's manual of determinative bacteriology* (8th ed.). The Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- Carter, M. R. 1993. *Soil Sampling and Method of Analysis*. Lewis Publishers, Florida.
- Central Intelligence Agency. 2018. *The World Factbook: Field Listing: Age Structure*. www.cia.gov/library/publications/the-world-factbook/geos/ja. Diakses pada tanggal 17 September 2018.

- Chang, S. K. C., dan Wei, Q. 2004. Characteristics of fermented natto products as affected by soybean cultivars. *Journal of Food Processing and Preservation*.1(1):1-15.
- Chauhan, O. P. 2019. *Non-thermal Processing of Foods*. CRC Press, New York.
- Coop. 2014. *Product Guide: Microbiological Standard*. http://www.ucoop.or.jp/shouhin/yakusoku/pdf/shouhinguide_v20_p24_32.pdf 3 Oktober 2018.
- Departemen Pertanian. 2017. *Impor Komoditi Pertanian Subsektor Tanaman Pangan Periode Januari sampai dengan desember 2017*. database.pertanian.go.id. Diakses pada tanggal 19 Februari 2018.
- Farnworth, E. R. 2008. *Handboook of Fermented Functional Foods, Second Edition*. CRC Press, London.
- Flink, J. M. 2006. Nonenzymatic browning of freeze dried sucrose. *Journal of Food Science*. 48(2):539-542.
- Food and Drug Administration. 2002. *BAM4: Enumeration of Eschericia coli and the Coliform Bacteria*. <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm064948.htm>. 3 Oktober 2018.
- Fujita, M., Hong, K., Ito, Y., Misawa, S., Takeuchi, N., Kariya, K., Nishimuro, S. 1995. Transport of Nattokinase across the rat intestinal tract. *Biol Pharm Bull*. 18(9): 1994-1196.
- Grissom, J. T. 1920. The Formaldehyde Method for Determining Ammonium Nitrate. *The Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 12(2): 172-173
- Gardner, J. M., dan Troy, F. A. 1979. Chemistry and Biosynthesis of the poly (γ -D-glutamyl) Capsule in *Bacillus licheniformis*. Actiavtion, Racemization, and Polymerization of Glutamic Acid by a Membranous Polyglutamyl Synthetase Complex. *Journal of Biology and Chemistry* 254: 6262-6269.
- Hitosugi, M., Hamada, K., dan Misaka K. 2015. Effects of Bacillus subtilis var. natto products on symptoms by blood flow disturbance in female patients with lifestyle diseases. *International Journal of General Medicine*. 8:41-46.
- Homma, G. 1991. *The Folk Art of Japanese Country Cooking: A Traditional Diet for Today's World*. North Atlantic Books, California.
- Homma, K., Wakana, N., Suzuki, Y., Nukui, M., Daimatsu, T., Tanaka, E., Tanaka, K., Yasuhiro, K., Nakajima, Y., dan Nakazawa, H. 2006. Treatment of natto,

a fermented soybean preparation, to prevent excessive plasma vitamin K concentrations in patients taking warfarin. *Journal Nutrition Science Vitaminol.* 52:297-301.

- Hu, Y., Ge, C., Yuan, W., Zhu, R., Zhang, W., Du, L., dan Xue, J. 2010. Characterization of fermented black soybean natto inoculated with *Bacillus natto* during fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 90:1194-1202.
- Hui, Y. K., Goddik, L. M., Hansen, A. S., Josephen, J., Nip, W. K., Stanfield, P. S., dan Toldra, F. 2004. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology.* Marcel Dekker, New York.
- Hutton, W. 2004. *Cook's Guide to Asian Vegetables.* Periplus, Singapore.
- Integrated Taxonomic Information System. 2018. *Arachis hypogaea.* www.itis.gov. 17 September 2018.
- Integrated Taxonomic Information System. 2018. *Glycine max.* www.itis.gov. 2 Juni 2018.
- Integrated Taxonomic Information System. 2018. *Phaseolus vulgaris.* www.itis.gov. 17 September 2018.
- Integrated Taxonomic Information System. 2018. *Vigna radiata.* www.itis.gov. Diakses pada tanggal 2 Juni 2018.
- Iwai, K., Kawasaki, Y., Nakaya, N., dan Matsue, H. 2002. Inhibitory Effect of Natto, A Kind of Fermented Soybeans, on LDL Oxidation in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 50(12):3 592-3596.
- Japan Visitor. 2018. *Japanese Food: Mito Natto, Ibaraki Prefecture.* <https://www.japanvisitor.com/japanese-food/natto>. 5 Oktober 2018.
- Japan NattoKinase Association. 2019. What is Bacillus subtilis natto?. http://j-nattokinase.org/en/jnka_nattou_02.html. Diakses pada tanggal 12 November 2019.
- Kiuchi, K., Ohta, T., Itoh, H., Takabayashi, T., dan Ebine, H. 1975. Studies on lipids of natto. *Agriculture Food Chemistry.* 24:404-407.
- Kojiyasanzaemon, 2014. *Natto Kit Manual.* http://www.koji-za.jp/docs/natto_kit_manual.pdf. 1 Oktober 2018.
- Kusuma, T. S. Kurniawati, A. D., Rahmi, Y., Rusdan, I. H., dan Widyanto, R. M. 2017. *Pengawasan Mutu Makanan.* Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Lay, B.W.1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium.* Rajawali, Jakarta..

- Lee, J. H., Jeon, J. K., Kim, S. G., Kim, S. H., Chun, T., dan Imm, J. Y. 2011. Comparative analyses of total phenols, flavonoids, and saponins, and antioxidant activity in yellow soy bean and mung beans. *International Journal of Food Science and Technology*. 46: 2513-2519.
- Lee, N. A., Wright, G. C., dan Rachaputi, R. 2016. *Peanuts Bioactives & Allergens*. DEStech Publications, Pennsylvania.
- Lim, T. K., 2012. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 2, Fruits*. Springer, London.
- Lin, N., Lee, Y., Chi, Y., Wang, M., Chan, Y., Chan, K., Chen, Y., dan Chiu, Y. 2016. Bacillus subtilis-fermented red bean (red bean natto) reduces hyperlipidemia levels in hamsters fed an atherogenic diet. *Journal of Food Biochemistry*. 41(1): 1-11.
- Lindani, A. 2016. *Perbandingan Pengukuran Kadar Air Metode Moisture Analyzer dengan Metode Oven pada Produk Biskuit Sandwich Cookies di PT Mondelez Indonesia Manufacturing*. Skripsi S1. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Martin, P. G. 1979. *Manuals of Food Quality Control: 3. Commodities*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- Maruo, B., dan Yoshkawa, H. 1989. *Industrial Application of B subtilis*. Elsevier Science Publishing, New York.
- Min, D. B. dan Akoh, C. C. 2002. *Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Marcel Dekker, New York.
- Murray, M. N. D., dan Pizzorno, L. *The Encyclopedia of Healing Foods*. Atria Books, New York.
- Nauman, E. 1982. *Medical Astrology*. Blue Turtle Publishing, Cottonwood.
- Nsa, E. E., Ukachukwu, S. N., Isika, M. A., dan Ozung, P. O. 2011. Effect of Boiling and Soaking Durations on the Proximate Composition, Ricin and Mineral Contents of Undercorticated Castor Oil Seeds (*Ricinus communis*). *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*. 1(3): 245-252.
- Pitojo, S. 2003. *Seri Penangkaran: Benih Kedelai*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Pitojo, S. 2005. *Benih Kacang Tanah*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Pradhananga, M. 2019. Effect of processing and soybean cultivar on natto quality using response surface methodology. *Food Science and Nutrition*. 7(1): 173-182.

- Preedy, V. R. 2013. *Isoflavones: Chemistry, Analysis, Function and Effects*. RSC Publishing, Cambridge.
- Rehm, B. 2009. *Microbial Production of Biopolymers and Polymer Precursors. Applications and Perspectives*. Caister Academic Press, Palmerston North
- Richter, E. 2000. Can Molds Grow in the Absence of Air. <http://www.madsci.org/posts/archives/jan2000/948506647.Mi.r.html>. Diakses pada tanggal 19 Desember 2019.
- Rosmarkam, A., dan Yuwono, N. W. 2002. *Ilmu Kesuburan Tanah*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Ruslan, K., Fidrianny, I., dan Elviana, D. 2016. In vitro antioxidant activities in various beans extract of five legumes from west of Java-Indonesia using DPPH and ABTS method. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 8(3):470-476.
- Shih, I. L. dan Van, Y. T. 2001. The production of poly (r-glutamic acid) from microorganisms and its various applications. *Bioresource Technol.* 79: 207-225.
- Society for Study of Natto, 1989. *Methods of Natto Research*. Kohrin, Taito-ku.
- Spungen, J. D., dan Pennington, J. A. T. 2005. *Bowes & Church's Food Values for Portions Commonly Used*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Steinkraus, K. H. 2005. *Industrialization of Indigenous Fermented Foods: Second Edition, Revived and Expanded*. Marcel Dekker, New York.
- Taira, H., Tanaka, H., Saito, M., dan Saito, M. 1990. Effect of culticar seed size and crop year on total and free sugar contents of domestic soybeans. *The Japanese Society for Food Science and Technology*, 37:203-213.
- Tanaka, T., Muramatsu, K., Kim, H. R., Watanabe, T., Takeyasu, M., Kanai, Y., dan Kiuchi, K. 1998. Comparizon of Volatile Compounds from Chunkuk-jang and Itohiki-Natto. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 62: 1440-1444.
- Tanaka, Y., dan Tomiyasu, Y. 1973. Chemical Components of the White Deposits of Natto (Fermented Soybeans). *Food and Nutrition*. 26: 473-478.
- Thomas, M. C., dan Forbes, J. 2009. *The Maillard Reaction: Interface Between Aging, Nutrition and Metabolism*. RSC Publishing, Cambridge.
- Ueda, S. 1989. *Industrial application of Bacillus subtilis: Utilization of soybean as natto, a traditional Japanese food* dalam Maruo, B., dan Yoshikawa, H. 1989. *Bacillus subtilis: Molecular Biology and Industrial Application*.

Elsevier Press, Tokyo.

United States Department of Agriculture. 1986. *Composition of Foods; Legumes and legume Products*. United States Department of Agriculture, Human Nutrition Information Service, Washington, DC.

Vatansever, S., Vegi, A., Garden-Robinson, J., dan Hall, C. A. 2017. The effect of fermentation on the physicochemical characteristics of dry-salted vegetables. *Journal of Food Research*. 6(5): 32-40.

Watanabe, T., Kioka, M. dan Fukushima, A. 2014. Biotin content table of selected foods and biotin intake in Japanese. *International Journal of Analytical Bio-Science*. 2(4): 109-124

Wei, Q., Wolf-Hall, C., dan Chang, K. C. 2001. Natto characteristics as affected by steaming time, bacillus strain, and fermentation time. *Journal of Food Science*. 66(1): 167-173.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Kanisius, Yogyakarta

World Health Organization. 2016. *Joint FAO/WHO Food Standards Programme, FAO/WHO Coordinating Committee for Asia, Twentieth Session: Discussion Paper on The Development of a Regional Standard for Natto*. Codex Alimentarius Commission CX/ASIA 16/20/12 http://old.fssai.gov.in/Portals/0/Pdf/CCASIA_20th_Session/AGENDA_11.pdf. 1 Oktober 2018.

Yang, J., Ma, Y., Liu, Q., dan Zhou, X. 2015. Optimization and preservation of natto manufacturing technique. *Advances in Applied Science Research*. 6(7): 130-136.

Yatagai, C., Imai, M., dan Sumi, H. 2005. Mung beans natto and natto-miso: concentration of nattokinase and vitamin K. *Abstracts of Annual Congress of The Japan Society of Home Economics*. 57:1-58.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Mentah

Tabel 21. Hasil Uji Tekstur natto (g)

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|-----------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 160 | 515 | 202 | 232 |
| 2 | 190 | 452 | 177,5 | 138 |
| 3 | 273 | 183 | 144,5 | 211,5 |
| Rata-rata | 207,666667 | 383,333333 | 174,666667 | 193,833333 |

Tabel 22. Hasil Uji Tekstur presto (g)

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|-----------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 1158 | 574 | 321 | 514 |
| 2 | 653,5 | 610 | 625 | 729,5 |
| 3 | 1406 | 587,5 | 741,5 | 568 |
| Rata-rata | 1072,5 | 590,5 | 562,5 | 603,833333 |

Tabel 23. Hasil Uji L natto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 45,2 | 2,3 | 2,8 | 2,5 |
| 2 | 52 | 5,2 | 2,2 | 9,4 |
| 3 | 52,5 | 3,4 | 5,8 | 14,7 |
| Rata2 | 49,9 | 3,6333333 | 3,6 | 8,8666667 |

Tabel 24. Hasil Uji a natto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 7,2 | 10,7 | 4,6 | 6,4 |
| 2 | 8,6 | 9,2 | 5 | 8,8 |
| 3 | 8,6 | 11,9 | 3 | 5,9 |
| Rata2 | 8,13333333 | 10,6 | 4,2 | 7,03333333 |

Tabel 25. Hasil Uji b natto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 24,7 | -1,2 | 6,3 | 0,3 |
| 2 | 20,7 | -3,2 | 2,5 | 4,1 |

| | | | | |
|-------|------|------|------------|-----|
| 3 | 21,5 | -0,4 | 1 | 1,9 |
| Rata2 | 22,3 | -1,6 | 3,26666667 | 2,1 |

Tabel 26. Hasil Uji L presto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 2,1 | 12,6 | 9,3 | 7,5 |
| 2 | 1,8 | 17,6 | 10,3 | 9,6 |
| 3 | 2,4 | 10,7 | 5,8 | 9 |
| Rata2 | 2,1 | 13,633333 | 8,4666667 | 8,7 |

Tabel 27. Hasil Uji a presto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | -2,2 | -4 | -4,7 | -4,4 |
| 2 | -2,2 | -2 | -5,2 | -4,3 |
| 3 | -2,7 | -5,6 | -7,3 | -4,2 |
| Rata2 | -2,3666667 | -3,8666667 | -5,7333333 | -4,3 |

Tabel 28. Hasil Uji b presto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 19,3 | 3,8 | 11,2 | 9,3 |
| 2 | 19,7 | 5,8 | 9,8 | 9,5 |
| 3 | 17,4 | 3,2 | 10,3 | 9,5 |
| Rata2 | 18,8 | 4,26666667 | 10,4333333 | 9,4333333 |

Tabel 29. Hasil Uji L mentah

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 23,3 | 25,6 | 24,1 | 8,3 |
| 2 | 22,5 | 25,7 | 30,9 | 11,2 |
| 3 | 16,3 | 22,7 | 33,2 | 21,3 |
| Rata2 | 20,7 | 24,6666667 | 29,4 | 13,6 |

Tabel 30. Hasil Uji a mentah

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 7,4 | 11,5 | 0,5 | 10,7 |
| 2 | 7,1 | 12,5 | 0,4 | 7,2 |
| 3 | 6,4 | 11,5 | 0,7 | 8,2 |
| Rata2 | 6,96666667 | 11,8333333 | 0,53333333 | 8,7 |

Tabel 31. Hasil Uji b mentah

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 10,6 | 15,3 | 11,1 | 6,5 |
| 2 | 10,4 | 16,6 | 8,1 | 3,5 |
| 3 | 7,2 | 13,9 | 7,8 | 8,1 |
| Rata2 | 9,4 | 15,2666667 | 9 | 6,03333333 |

Tabel 32. Hasil Uji Kadar Air natto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 54,56 | 57,75 | 60,48 | 46 |
| 2 | 57,11 | 58,35 | 59,47 | 49,76 |
| 3 | 55,95 | 59,27 | 61,67 | 46 |
| Rata2 | 55,87333333 | 58,4566667 | 60,54 | 47,25333333 |

Tabel 33. Hasil Uji Kadar Air rebus

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 54,8 | 59,23 | 54,68 | 52,26 |
| 2 | 57,08 | 58,28 | 61,53 | 38,47 |
| 3 | 54,42 | 60,26 | 57,51 | 42,62 |
| Rata2 | 55,43333333 | 59,2566667 | 57,9066667 | 44,45 |

Tabel 34. Hasil Uji Kadar Air mentah

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 7,09 | 12,24 | 9,86 | 50,64 |
| 2 | 6,78 | 11,67 | 9,17 | 52,39 |
| 3 | 6,99 | 12,74 | 10,7 | 52,31 |
| Rata2 | 6,95333333 | 12,2166667 | 9,91 | 51,78 |

Tabel 35. Hasil Uji Kadar abu mentah

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 5,751766 | 4,52755906 | 4,17881438 | 1,69745382 |
| 2 | 5,85027268 | 4,29141717 | 2,5390625 | 1,47357724 |
| 3 | 5,67482913 | 4,32859411 | 4,3869534 | 1,49528413 |
| Rata2 | 5,75895594 | 4,38252345 | 3,70161009 | 1,5554384 |

Tabel 36. Hasil Uji Kadar abu presto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 2,15246637 | 1,66015625 | 1,84190777 | 1,61616162 |
| 2 | 2,19256435 | 1,57360406 | 1,76589304 | 1,46276596 |
| 3 | 2,16784932 | 1,59384923 | 1,62938471 | 1,38274936 |
| Rata2 | 2,17096001 | 1,60920318 | 1,74572851 | 1,48722565 |

Tabel 37. Hasil Uji Kadar abu natto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 2,048 | 1,627 | 1,656 | 1,641 |
| 2 | 1,89 | 1,749 | 1,902 | 1,515 |
| 3 | 1,932 | 1,725 | 1,935 | 1,561 |
| Rata2 | 1,95666667 | 1,70033333 | 1,831 | 1,57233333 |

Tabel 38. Hasil Uji Lemak mentah

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 2,5135 | 1,4533 | 3,7415 | 3,3169 |
| 2 | 2,5563 | 1,2423 | 3,5691 | 3,0374 |
| 3 | 2,6718 | 1,4982 | 3,9271 | 3,891 |
| Rata2 | 2,58053333 | 1,3979333 | 3,7459 | 3,4151 |

Tabel 39. Hasil Uji Lemak presto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 2,2468 | 1,2171 | 2,5699 | 3,1632 |
| 2 | 2,0219 | 1,4142 | 2,415 | 3,2384 |
| 3 | 2,4516 | 1,1413 | 2,641 | 3,5416 |
| Rata2 | 2,2401 | 1,25753333 | 2,54196667 | 3,3144 |

Tabel 40. Hasil Uji Lemak natto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 1,76349 | 1,6512 | 2,3169 | 3,3048 |
| 2 | 1,76271 | 1,6957 | 2,2662 | 3,0177 |
| 3 | 1,76591 | 1,6634 | 2,2571 | 3,4653 |
| Rata2 | 1,76403667 | 1,6701 | 2,28006667 | 3,2626 |

Tabel 41. Hasil Uji Protein mentah

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 27,4686 | 21,6419 | 19,0332 | 19,0621 |
| 2 | 27,3653 | 21,6792 | 19,0907 | 19,0789 |

| | | | | |
|-------|-----------|------------|------------|------------|
| 3 | 27,6911 | 21,8519 | 19,1567 | 19,2317 |
| Rata2 | 27,508333 | 21,7243333 | 19,0935333 | 19,1242333 |

Tabel 42. Hasil Uji Protein presto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 12,6797 | 9,1452 | 8,509 | 19,1169 |
| 2 | 12,6252 | 9,1888 | 8,5671 | 19,172 |
| 3 | 12,4918 | 9,5728 | 8,8417 | 18,8193 |
| Rata2 | 12,5989 | 9,30226667 | 8,8320333 | 19,0360667 |

Tabel 43. Hasil Uji Protein natto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 11,8853 | 9,6295 | 9,8323 | 19,9136 |
| 2 | 11,9175 | 9,5745 | 9,8865 | 19,9734 |
| 3 | 12,3125 | 9,5195 | 9,7773 | 19,9941 |
| Rata2 | 12 | 9,5745 | 9,8320333 | 19,960367 |

Tabel 44. Hasil Uji karbohidrat mentah

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 57,1761 | 60,1372 | 61,1865 | 25,2835 |
| 2 | 57,4481 | 61,1171 | 63,6311 | 24,0201 |
| 3 | 56,9723 | 59,5813 | 59,8293 | 23,0720 |
| Rata2 | 57,1988441 | 60,2785432 | 61,5489566 | 24,1252283 |

Tabel 45. Hasil Uji Karbohidrat presto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 28,12103363 | 28,74754375 | 27,39919223 | 23,84373838 |
| 2 | 26,43099223 | 29,54339594 | 20,72200696 | 37,65683404 |
| 3 | 28,46875068 | 27,43205077 | 24,37791529 | 33,63635064 |
| Rata2 | 27,6735922 | 28,5743302 | 24,1663715 | 31,7123077 |

Tabel 46. Hasil Uji Karbohidrat natto

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 29,7432 | 28,3423 | 25,7148 | 22,1406 |
| 2 | 27,3198 | 27,6308 | 26,4753 | 18,7339 |
| 3 | 28,0396 | 26,8221 | 24,3606 | 21,9796 |
| Rata2 | 28,36753 | 27,5984 | 25,5169 | 24,9513667 |

Tabel 47. Hasil uji DPPH mentah

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 46,7359 | 65,277778 | 66,3415 | 76,6260163 |
| 2 | 55,19288 | 77,18254 | 65,6911 | 77,2357724 |
| 3 | 59,49555 | 77,18254 | 66,34157 | 62,804878 |
| Rata2 | 53,80811 | 73,214286 | 66,1247233 | 72,2222222 |

Tabel 48. Hasil uji DPPH *natto*

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 80,0963082 | 84,5588235 | 80,7352941 | 79,495798 |
| 2 | 82,1829856 | 84,7058824 | 80,5882353 | 79,831933 |
| 3 | 82,022472 | 83,8235294 | 80,2941176 | 78,9915966 |
| Rata2 | 81,4339219 | 84,3627451 | 80,5392157 | 79,4397759 |

Tabel 49. Hasil Uji Amonia (mg/100g)

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 127,5 | 68 | 51 | 85 |
| 2 | 85 | 51 | 51 | 85 |
| 3 | 170 | 51 | 81 | 170 |
| Rata2 | 127,5 | 56,6666667 | 61 | 113,3333333 |

Tabel 50. Hasil Uji ALT ($\times 10^8$)

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 5,2852 | 10,9911 | 6,9974 | 22,5221 |
| 2 | 7,5375 | 12,2233 | 9,3151 | 20,3003 |
| 3 | 9,1291 | 9,5195 | 5,1351 | 18,5285 |
| Rata2 | 7,3173 | 10,9113 | 7,1481 | 20,4503 |

Tabel 51. Hasil Uji Subtillis

| Ulangan | Kontrol (kacang kedelai) | Kacang Tunggak | Kacang Hijau | Kacang Tanah |
|---------|--------------------------|----------------|--------------|--------------|
| 1 | 18,3188 | 39,4291 | 32,6136 | 30,7507 |
| 2 | 20,5105 | 45,1351 | 37,4715 | 26,1562 |
| 3 | 21,1411 | 43,0330 | 33,5435 | 28,5856 |
| Rata2 | 19,9901 | 42,5324 | 34,5429 | 28,4975 |

Lampiran 2. Hasil uji SPSS

Tabel 52. Analisis Anova Tekstur Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| | | Jumlah Kuadrat | Derajat Kebebasan | Rerata Kuadrat | F hitung | Sig. |
|--------|----------------|----------------|-------------------|----------------|----------|------|
| presto | Koreksi | 536057,000 | 3 | 178685,667 | 3,451 | ,072 |
| | Interaksi | 414170,667 | 8 | 51771,333 | | |
| | Total | 950227,667 | 11 | | | |
| natto | Between Groups | 83968,896 | 3 | 27989,632 | 2,962 | ,098 |
| | Within Groups | 75588,667 | 8 | 9448,583 | | |
| | Total | 159557,563 | 11 | | | |

Tabel 53. Analisis duncan Tekstur Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | |
|---------|---|---------------------------|-----------|
| | | 1 | 2 |
| hijau | 3 | 562,5000 | 1072,5000 |
| tunggak | 3 | 590,5000 | |
| tanah | 3 | 603,8333 | |
| kedelai | 3 | | |
| Sig. | | ,836 | 1,000 |

Tabel 54. Analisis duncan Tekstur *Natto* Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | |
|---------|---|---------------------------|----------|
| | | 1 | 2 |
| hijau | 3 | 174,6667 | 383,3333 |
| tanah | 3 | 193,8333 | |
| kedelai | 3 | 207,6667 | |
| tunggak | 3 | | |

| | | | |
|------|--|------|------|
| Sig. | | ,700 | ,051 |
|------|--|------|------|

Tabel 55. Analisis Anova Kadar Air Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| | | Jumlah Kuadrat | Derajat Kebebasan | Rerata Kuadrat | F hitung | Sig. |
|--------|-----------|----------------|-------------------|----------------|----------|------|
| presto | Koreksi | 407,633 | 3 | 135,878 | 8,368 | ,008 |
| | Interaksi | 129,903 | 8 | 16,238 | | |
| | Total | 537,536 | 11 | | | |
| natto | Koreksi | 306,860 | 3 | 102,287 | 50,255 | ,000 |
| | Interaksi | 16,283 | 8 | 2,035 | | |
| | Total | 323,142 | 11 | | | |
| mentah | Koreksi | 4027,162 | 3 | 1342,387 | 2863,658 | ,000 |
| | Interaksi | 3,750 | 8 | ,469 | | |
| | Total | 4030,912 | 11 | | | |

Tabel 56. Analisis Duncan Kadar Air Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | | |
|---------|---|---------------------------|--------|---------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| kedelai | 3 | 6,9533 | | | |
| hijau | 3 | | 9,9100 | | |
| tunggak | 3 | | | 12,2167 | |
| tanah | 3 | | | | 51,7800 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Tabel 57. Analisis Duncan Kadar Air Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | |
|---------|---|---------------------------|---------|
| | 1 | 2 | 1 |
| tanah | 3 | 44,4500 | |
| kedelai | 3 | | 55,4333 |
| hijau | 3 | | 57,9067 |
| tunggak | 3 | | 59,2567 |
| Sig. | | 1,000 | ,297 |

Tabel 58. Analisis Duncan Kadar Air *Natto* Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | |
|---------|---|---------------------------|------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| tanah | 3 | 47,2533 | | |
| kedelai | 3 | | 55,8 | |
| tunggak | 3 | | 58,4 | 3,4567 |
| hijau | 3 | | | 60,5400 |
| Sig. | | 1,000 | ,057 | ,111 |

Tabel 59. Analisis Anova Kadar Abu Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| | | Jumlah Kuadrat | Derajat Kebebasan | Rerata Kuadrat | F hitung | Sig. |
|--------|-----------|----------------|-------------------|----------------|----------|------|
| presto | Koreksi | ,798 | 3 | ,266 | 37,840 | ,000 |
| | Interaksi | ,056 | 8 | ,007 | | |
| | Total | ,854 | 11 | | | |
| natto | Koreksi | ,247 | 3 | ,082 | 8,632 | ,007 |
| | Interaksi | ,076 | 8 | ,010 | | |
| | Total | ,324 | 11 | | | |
| mentah | Koreksi | 27,644 | 3 | 9,215 | 34,656 | ,000 |
| | Interaksi | 2,127 | 8 | ,266 | | |
| | Total | 29,771 | 11 | | | |

Tabel 60. Analisis Duncan Kadar Abu Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | |
|---------|---|---------------------------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| tanah | 3 | 1,5554 | | |
| hijau | 3 | | 3,7016 | |
| tunggak | 3 | | 4,3825 | |
| kedelai | 3 | | | 5,7590 |
| Sig. | | 1,000 | ,144 | 1,000 |

Tabel 61. Analisis Duncan Kadar Abu Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | |
|-------|---|---------------------------|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| tanah | 3 | 1,4872 | | |

| | | | | |
|--------|---|--------|--------|--------|
| tungga | 3 | 1,6092 | 1,6092 | |
| k | 3 | | 1,7457 | |
| hijau | 3 | | | 2,1710 |
| kedela | 3 | | | |
| i | | | | |
| Sig. | | ,113 | ,081 | 1,000 |

Tabel 62. Analisis Duncan Kadar Abu *Natto* Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | |
|--------|---|---------------------------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| tanah | 3 | | 1,5723 | |
| tungga | 3 | | 1,7003 | 1,7003 |
| k | 3 | | | 1,8310 |
| hijau | 3 | | | 1,8310 |
| kedela | 3 | | | 1,9567 |
| i | 3 | | | |
| Sig. | | ,147 | ,140 | ,154 |

Tabel 63. Analisis Anova Kadar Lemak Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| | | Jumlah Kuadrat | Derajat Kebebasan | Rerata Kuadrat | F hitung | Sig. |
|--------|-----------|----------------|-------------------|----------------|----------|------|
| Presto | Koreksi | 6,516 | 3 | 2,172 | 72,688 | ,000 |
| | Interaksi | ,239 | 8 | ,030 | | |
| | Total | 6,755 | 11 | | | |
| Natto | Koreksi | 4,796 | 3 | 1,599 | 120,666 | ,000 |
| | Interaksi | ,106 | 8 | ,013 | | |
| | Total | 4,902 | 11 | | | |
| Mentah | Koreksi | 9,858 | 3 | 3,286 | 53,255 | ,000 |
| | Interaksi | ,494 | 8 | ,062 | | |
| | Total | 10,352 | 11 | | | |

Tabel 64. Analisis Duncan Kadar Lemak Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | |
|--------|---|---------------------------|--------|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| tungga | 3 | | 1,3979 | |
| k | | | | |

| | | | | |
|---------|---|-------|--------|--------|
| kedelai | 3 | | 2,5805 | |
| tanah | 3 | | | 3,4151 |
| hijau | 3 | | | 3,7459 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | ,142 |

Tabel 65. Analisis Duncan Kadar Lemak Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | |
|---------|---|---------------------------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| tunggak | 3 | 1,2575 | | |
| kedelai | 3 | | 2,240 | |
| hijau | 3 | | 2,5420 | |
| tanah | 3 | | | 3,3144 |
| Sig. | | 1,000 | ,065 | 1,000 |

Tabel 66. Analisis Duncan Kadar Lemak *Natto* Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | |
|---------|---|---------------------------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| tunggak | 3 | 1,6701 | | |
| kedelai | 3 | 1,7640 | | |
| hijau | 3 | | 2,2801 | |
| tanah | 3 | | | 3,2626 |
| Sig. | | ,347 | 1,000 | 1,000 |

Tabel 67. Analisis Anova Kadar Protein Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| | | Jumlah Kuadrat | Derajat Kebebasan | Rerata Kuadrat | F hitung | Sig. |
|--------|-----------|----------------|-------------------|----------------|----------|------|
| Presto | Koreksi | 203,448 | 3 | 67,816 | 2050,521 | ,000 |
| | Interaksi | ,265 | 8 | ,033 | | |
| | Total | 203,712 | 11 | | | |
| Natto | Koreksi | 213,159 | 3 | 71,053 | 4416,843 | ,000 |
| | Interaksi | ,129 | 8 | ,016 | | |
| | Total | 213,288 | 11 | | | |
| Mentah | Koreksi | 141,179 | 3 | 47,060 | 3563,471 | ,000 |

| | | | | | |
|-----------|---------|----|------|--|--|
| Interaksi | ,106 | 8 | ,013 | | |
| Total | 141,285 | 11 | | | |

Tabel 68. Analisis Duncan Kadar Protein Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | |
|--------|---|---------------------------|-------------------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 1 |
| hijau | 3 | 19,0935 | | |
| tanah | 3 | 19,1242 | | |
| tungga | 3 | | 21,7243 | |
| kedela | 3 | | | 27,5083 |
| i | | | | |
| Sig. | | ,752 | 1,00 ^a | 1,000 |

Tabel 69. Analisis Duncan Kadar Prc to Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | | |
|--------|---|---------------------------|--------|---------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| hijau | 3 | 8,6393 | | | |
| tungga | 3 | | 9,3023 | | |
| kedela | 3 | | | 12,5989 | |
| i | | | | | |
| tanah | 3 | | | | 19,0361 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Tabel 70. Analisis Duncan Kadar Protein *natto* Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | | |
|--------|---|---------------------------|--------|---------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| tungga | 3 | 9,5745 | | | |
| kedela | 3 | | 9,8320 | | |
| i | 3 | | | 12,0384 | |
| tanah | 3 | | | | 19,9604 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

Tabel 71. Analisis Anova Karbohidrat Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| | Jumlah Kuadrat | Derajat Kebebasan | Rerata Kuadrat | F hitung | Sig. |
|--|----------------|-------------------|----------------|----------|------|
|--|----------------|-------------------|----------------|----------|------|

| | | | | | | |
|--------|-----------|----------|----|---------|---------|------|
| presto | Koreksi | 86,731 | 3 | 28,910 | 1,807 | ,224 |
| | Interaksi | 127,964 | 8 | 15,995 | | |
| | Total | 214,695 | 11 | | | |
| natto | Koreksi | 99,808 | 3 | 33,269 | 19,095 | ,001 |
| | Interaksi | 13,938 | 8 | 1,742 | | |
| | Total | 113,746 | 11 | | | |
| mentah | Koreksi | 2873,617 | 3 | 957,872 | 683,638 | ,000 |
| | Interaksi | 11,209 | 8 | 1,401 | | |
| | Total | 2884,826 | 11 | | | |

Tabel 72. Analisis Duncan Kadar Karbohidrat Mentah Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jeni

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = 5 | | | |
|---------|---|-------------------------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| tanah | 3 | | 24,1252 | | |
| kedelai | 3 | | | 57,1988 | |
| tunggak | 3 | | | | 60,2785 |
| hijau | 3 | | | | 61,5490 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | | ,225 |

Tabel 73. Analisis Duncan Kadar Karbohidrat Presto Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 |
|---------|---|---------------------------|
| | | 1 |
| hijau | 3 | 24,1664 |
| kedelai | 3 | 27,6736 |
| tunggak | 3 | 28,5743 |
| tanah | 3 | 31,7123 |
| Sig. | | ,062 |

Tabel 74. Analisis Duncan Kadar Karbohidrat *natto* Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | Tingkat Kepercayaan = .05 | | | |
|--------|---------------------------|---------|---------|---------|
| | N | 1 | 2 | 3 |
| tanah | 3 | 20,9514 | | |
| hijau | 3 | | 25,5169 | |
| tungga | 3 | | 27,5984 | 27,5984 |
| k | 3 | | | 28,3675 |
| kedela | 3 | | | 28,3675 |
| i | | | | |
| Sig. | | 1,000 | ,090 | ,496 |

Tabel 75. Analisis Anova DPPH Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| | | Jumlah Kuadrat | Derajat Kebebasan | Rerata Kuadrat | F hitung | Sig. |
|--------|-----------|----------------|-------------------|----------------|----------|------|
| natto | Koreksi | 2,752 | 3 | ,917 | ,378 | ,772 |
| | Interaksi | 19,436 | 8 | 2,429 | | |
| | Total | 22,188 | 11 | | | |
| mentah | Koreksi | 524,992 | 3 | 174,997 | 12,896 | ,002 |
| | Interaksi | 108,557 | 8 | 13,570 | | |
| | Total | 633,550 | | | | |

Tabel 76. Analisis Duncan DPPH Menuai Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | Tingkat Kepercayaan = .05 | | | |
|--------|---------------------------|---------|---------|---------|
| | N | 1 | 2 | 3 |
| tanah | 3 | 49,5817 | | |
| tungga | 3 | | 56,9473 | |
| k | 3 | | | 65,3730 |
| hijau | 3 | | | 65,4760 |
| kedela | 3 | | | 65,4760 |
| i | | | | |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | ,974 |

Tabel 77. Analisis Duncan DPPH *Natto* Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | Tingkat Kepercayaan = .05 | |
|-------|---------------------------|---------|
| | N | 1 |
| tanah | 3 | 72,7823 |
| hijau | 3 | 72,9860 |

| | | |
|---------|---|---------|
| kedelai | 3 | 73,2283 |
| tunggak | 3 | 74,0430 |
| Sig. | | ,378 |

Tabel 78. Analisis Anova Amonia Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| | Jumlah Kuadrat | Derajat Kebebasan | Rerata Kuadrat | F hitung | Sig. |
|-----------------|----------------|-------------------|----------------|----------|------|
| Koreksi | 11706,729 | 3 | 3902,243 | 3,385 | ,075 |
| Interaksi Total | 9221,8333 | 8 | 1152,729 | | |
| | 20928,563 | 11 | | | |

Tabel 79. Analisis Duncan Amonia Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | |
|---------|---|---------------------------|----------|
| | | 1 | 2 |
| tunggak | 3 | 56,6667 | |
| hijau | 3 | 61,0000 | 61,0 |
| tanah | 3 | 113,3333 | 113,3333 |
| kedelai | 3 | | 127,5000 |
| Sig. | | ,086 | ,050 |

Tabel 80. Analisis Anova ALT Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| | Jumlah Kuadrat | Derajat Kebebasan | Rerata Kuadrat | F hitung | Sig. |
|-----------|----------------|-------------------|----------------|----------|------|
| Koreksi | 350,714 | 3 | 116,905 | 33,607 | ,000 |
| Interaksi | 27,829 | 8 | 3,479 | | |
| Total | 378,542 | 11 | | | |

Tabel 81. Analisis Duncan ALT Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | |
|-------|---|---------------------------|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 |
| hijau | 3 | 7,1553 | | |

| | | | | |
|---------|---|--------|---------|---------|
| kedelai | 3 | 7,3083 | | |
| tunggak | 3 | | 10,9092 | |
| tanah | 3 | | | 20,4508 |
| Sig. | | ,922 | 1,000 | 1,000 |

Tabel 82. Analisis Anova Penentuan jumlah *Bacillus subtilis natto* Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| | Jumlah Kuadrat | Derajat Kebebasan | Rerata Kuadrat | F hitung | Sig. |
|-----------|----------------|-------------------|----------------|----------|------|
| Koreksi | 821,876 | 3 | 273,959 | 50,454 | ,000 |
| Interaksi | 43,439 | 8 | 5,430 | | |
| Total | 865,314 | 11 | | | |

Tabel 83. Analisis Duncan Penentuan jumlah *Bacillus subtilis natto* Kualitas dan Aktivitas Antioksidan *Natto* dengan Variasi Jenis Kacang

| jenis | N | Tingkat Kepercayaan = .05 | | | |
|---------|---|---------------------------|---------|---------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| kedelai | 3 | | 19,9863 | | |
| tanah | 3 | | | 28,4855 | |
| hijau | 3 | | | | 34,4329 |
| tunggak | 3 | | | | 42,6248 |
| Sig. | | 1,000 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |