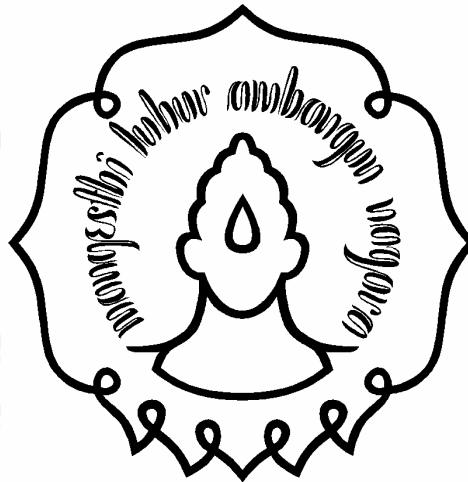


**KAJIAN KADAR ASAM FITAT DAN KADAR PROTEIN
SELAMA PEMBUATAN TEMPE KARA BENGUK (*Mucuna pruriens*)
DENGAN VARIASI PENGECILAN UKURAN DAN LAMA FERMENTASI**



Oleh

LAELA NUR ROKHMAH

H 0604031

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2008

**KAJIAN KADAR ASAM FITAT DAN KADAR PROTEIN
SELAMA PEMBUATAN TEMPE KARA BENGUK (*Mucuna pruriens*)
DENGAN VARIASI PENGECILAN UKURAN DAN LAMA FERMENTASI**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh derajat Sarjana S1 Teknologi Hasil Pertanian
di Fakultas Pertanian
Universitas Sebelas Maret Surakarta

Jurusan/Program Studi Teknologi Hasil Pertanian



Oleh

LAELA NUR ROKHMAH

H 0604031

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2008**

**KAJIAN KADAR ASAM FITAT DAN KADAR PROTEIN
SELAMA PEMBUATAN TEMPE KARA BENGUK (*Mucuna pruriens*)
DENGAN VARIASI PENGECILAN UKURAN DAN LAMA FERMENTASI**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Laela Nur Rokhmah

H 0604031

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal : 2 September 2008

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Ketua

Anggota I

Anggota II

Ir. Choirul Anam, MP, MT
NIP 132 316 567

Prof. Ir. Sri Handajani, MS, Ph.D
NIP. 130.604.192

Dian Rachmawanti A., S. TP, M
NIP. 132 317 850

Surakarta, 8 September 2008

Mengetahui,

Universitas Sebelas Maret,

Fakultas Pertanian

Dekan

Prof. Dr. Ir. H. Suntoro, MS
NIP. 131 124 609

KATA PENGANTAR

Puji syukur penyusun panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan merangkumnya dalam skripsi berjudul “ **Kajian Kadar Asam Fitat dan Kadar Protein Selama Pembuatan Tempe Kara Bungkus (*Mucuna pruriens*) dengan Variasi Pengecilan Ukuran dan Lama Fermentasi**”. Penelitian dan penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian dari Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini tentunya penulis tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Diknas Jateng atas bantuan dana penelitian yang diberikan
2. Ir. Kawiji, MP selaku ketua jurusan Teknologi Hasil Pertanian atas motivasi dan dorongannya kepada penulis.
3. Ir. Choirul Anam, MP, ST selaku pembimbing utama penulis yang telah memberikan bimbingan selama penulisan dan penyusunan skripsi ini.
4. Prof. Ir. Sri Handajani, MS, P.hD selaku pembimbing pendamping penulis yang telah memberikan bimbingan, arahan, semangat selama penulisan dan penyusunan skripsi ini.
5. Dian Rachmawanti A, STP, MP, dosen jurusan Teknologi Hasil Pertanian UNS yang telah berkenan membimbing penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini dan selaku dosen penguji.
6. Dan pihak-pihak yang tidak dapat penulis sebut satu per satu.

Pada penulisan skripsi ini penulis menyadari bahwa ‘tidak ada yang sempurna di dunia ini kecuali ciptaan-Nya’. Namun penulis tetap berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca.

Surakarta, 8 September 2008

Penulis

Laela would like to thank' s

Allah, SWT, segala puji hanya untuk-Mu. Dengan tangan&kehendakmulah, karyaku bisa tertuang& terealisasikan, Subhanallah.....
Akhirnya, aku bisa menyelesaikannya dengan limpahan cinta&sayang-Mu

Seluruh civitas Akademika Fakultas Pertanian, Ir. Kawiji, MP selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian atas nasehat&dukungannya. Ir. Choriul Anam, MP, MT selaku Pembimbing Utama, terima kasih untuk pengertian, support, wejangan-wejangan serta bimbingannya hingga terselesaikannya skripsi ini. Prof. Ir. Sri Handajani, MS, Ph.D selaku Pembimbing Pendamping I terima kasih atas pinjaman referensinya yang benar-benar membantu, kritikan dan bimbingannya. Dian Rachmawati, A, STP, MP selaku Pembimbing Pendamping II terima kasih atas luangan waktu untuk membimbing, support dan pinjaman bukunya. Dosen-dosen Jurusan Teknologi Hasil Pertanian terima kasih atas semangatnya yang memacu saya menyelesaikan skripsi ini.

Abah, Umi, Iyung, de' Fadh makasih untuk support, doa, pengertiannya buat mb ela. Skripsi ini spesial, mb persembahkan buat kalian, Luv U All..Mb sayang bgt ma kalian...

Mbah Nok, Mbah Kakung (Alm), pak dhe Dhi, pak Dhe Yon, Mak Ji, Mak Yani, Pak Yen, Pak jo, Afi, Makasih buat doa, semangat & pengertiannya buat ela shg ela bs bangkit&menyelesaikan skripsi ini

Siswanti&eri, sbt terbaikku makasih buat bantuan, pengertian, perhatian&support kalian buat aku. Eri makasih dng sbr menemani hari2 ku&pinjaman motornya..Q sayang kalian..

Lia, Danik, Ira, Arlin, Ilik, Umar, Hasyim, maksih untuk bantuan, persahabatan yg sdh kalian berikan. Adeq, Nanda, R3, makasih ya buat semuanya..maaf mb sering ngepotin

Teman2q, adik tingkatq di THP& temen2 HIMAGHITA buat semangatnya, FORZA HIMAGITA!! Q temukan persahabatan, kekeluargaan, dan kebersamaan disana.Q pasti kangen dng kalian..

Temen2 wisma Fanella (de wit, Eri, Laras, P3, Mami, Ndani, Tendi, Tikacu), Tante, warga ilegal fanella, makasih semangatnya spy aq segera menyelesaikan skripsiq, akhirnya q bs susul kalian..Dian makasih buat penelitian barengannya..

Ms Dar, Mb Tum, Ms Zen, B. Lis, P. Giyo, P. Djoko, P. Meto makasih atas bantuannya dalam penelitian saya

Ms Sis, Ms HTO makasih buat supportnya&pengertiannya bwtq. Majid maksih bwt dorongannya, qt tdk akan tau pa yg terjadi di waktu mendatang
Dan semua pihak yg tidak dapat penulis sebut satu per satu, terima kasih atas bantuan&doanya, semoga 4WI membalas kebaikan kalian, amin....

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
RINGKASAN	ix
SUMMARY	x
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Kara Benguk	4
2. Tempe	5
3. Asam Fitat	9
4. Protein Terlarut	13
5. Pengecilan Ukuran	15
B. Kerangka Berfikir	16
C. Hipotesis	16
III. METODE PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu Penelitian	17
B. Bahan dan Alat	17
1. Bahan	17

2. Alat	17
C. Perancangan Penelitian	17
D. Pengamatan Parameter/ Peubah	18
E. Tata Laksana Penelitian	18
F. Analisis Data	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Kadar Air	25
B. Kadar Asam Fitat	28
C. Kadar Protein Terlarut	34
D. Hubungan Kadar Asam Fitat dan Kadar Protein	39
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	41
B. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	46

DAFTAR TABEL

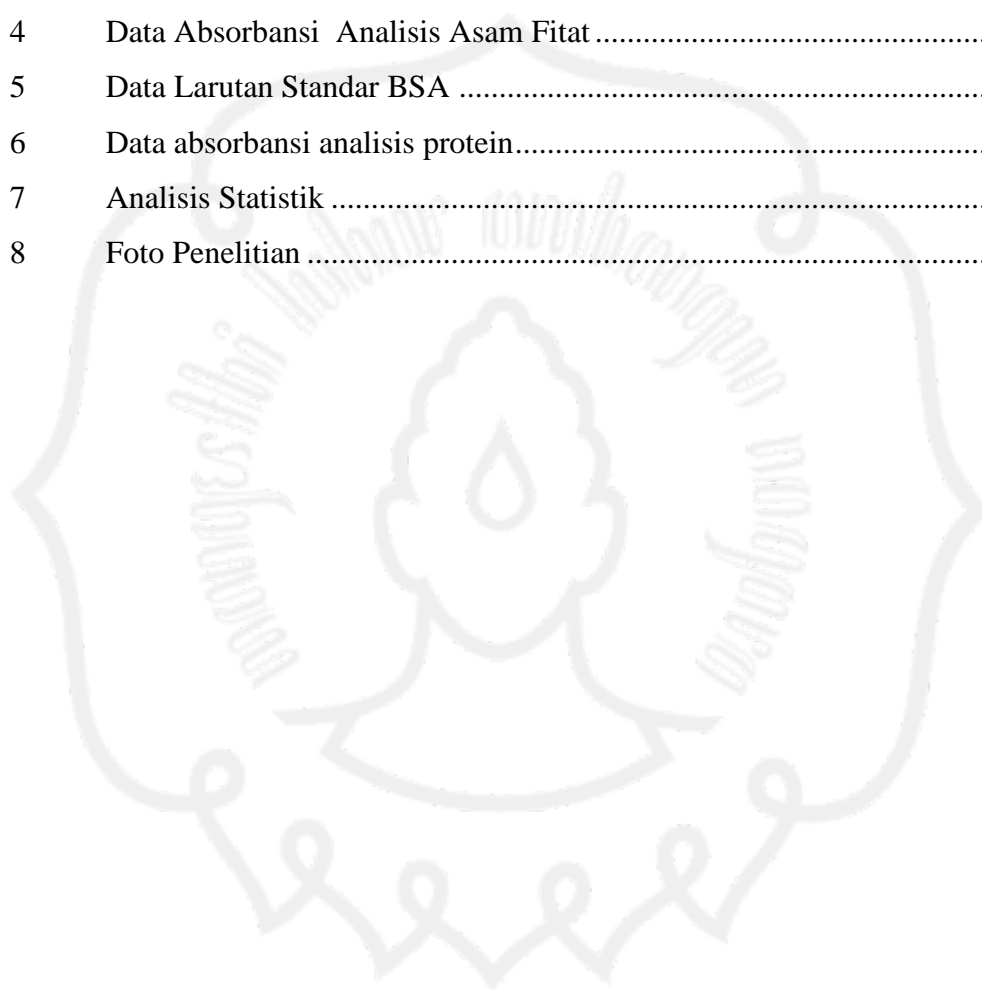
Nomor	Judul	Halaman
2.1	Komposisi Gizi Beberapa Kacang-Kacangan	5
2.2	Komposisi Zat Gizi Kara Benguk dan kedelai (% b.k).....	5
3.1	Rancangan Percobaan	18
4.1	Kadar Air (%) Tempe Kara Benguk dengan Berbagai Perlakuan	25
4.2	Kadar Asam Fitat (mgr/gr) d.b Tempe Kara Benguk dengan Berbagai Perlakuan	28
4.3	Kadar Protein (mgr/gr) d.b pada Tempe Kara Benguk dengan Berbagai Perlakuan	35

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul	Halaman
2.1	Polong dan Biji Kara Benguk	4
2.2	Struktur Kimia Asam Fitat	10
2.3	Kerangka Berfikir	16
3.1	Pembuatan tempe Kara benguk.....	20
3.2	Skema Pembuatan tempe Kara Benguk.....	22
3.2	Skema Analisis Asam Fitat.....	23
3.3	Skema Analisis Protein Terlarut	26
4.1	Kadar Air Selama Fermentasi Tempe Kara Benguk.....	26
4.2	Reaksi Perombakan Asam Fitat Oleh Enzim Fitase	29
4.3.	Kadar Asam Fitat Selama Fermentasi Tempe Kara Benguk	30
4.4	Kadar Protein Terlarut Selama Fermentasi Tempe Kara Benguk.....	36
4.5	Hubungan Asam Fitat dan Kadar protein Selama Fermentasi.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul	Halaman
1	Metode Analisis	46
2	Data Analisis Kadar Air	48
3	Data Larutan Standar Na-Fitat	49
4	Data Absorbansi Analisis Asam Fitat	50
5	Data Larutan Standar BSA	53
6	Data absorbansi analisis protein.....	54
7	Analisis Statistik	55
8	Foto Penelitian	61



RINGKASAN

Laela Nur Rokhmah. H0604031. Kajian Kadar Asam Fitat Dan Kadar Protein Selama Pembuatan Tempe Kara Benguk (*Mucuna pruriens*) dengan Variasi Pengecilan Ukuran dan Lama Fermentasi. Dibawah Bimbingan Ir. Choirul Anam, MP, MT; Prof. Ir. Sri Handajani, MS, Ph.D; dan Dian Rachmawati, S.TP, MP. Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Kara benguk merupakan salah satu *Leguminosae* yang mengandung asam fitat. Asam fitat yang terkandung memiliki keuntungan yaitu sebagai anti oksidan. Meskipun demikian, asam fitat juga memiliki kekurangan yaitu sebagai senyawa anti gizi. Asam fitat menunjukkan sifat yang dapat berikatan dengan protein membentuk senyawa kompleks yang tidak larut. Terbentuknya senyawa fitat-protein menyebabkan turunnya ketersediaan protein bagi tubuh dan dengan demikian menurunkan nilai gizi produk pangan yang bersangkutan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pengecilan ukuran biji kara benguk (*Mucuna pruriens*) dan lama fermentasi terhadap kadar asam fitat dan kadar protein pada pembuatan tempe kara benguk (*Mucuna pruriens*). Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu variasi pengecilan ukuran (3 macam) serta variasi lama fermentasi (5 macam).

Hasil penelitian menunjukkan setiap 12 jam waktu fermentasi untuk ketiga jenis ukuran biji kara benguk, kadar asam fitat terendah dan kadar protein terlarut tertinggi didapatkan pada tempe kara benguk biji giling. Pada fermentasi 36 jam untuk ketiga jenis ukuran biji diperoleh asam fitat terendah selama fermentasi yaitu 3,32 mg/g; 1,98 mg/g dan 1,16 mg/g. Kadar protein terlarut tertinggi selama fermentasi juga diperoleh pada fermentasi 36 jam yaitu 19,51mg/g; 23,73 mg/g dan 24,89 mg/g.

Berdasar hasil hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa lama fermentasi dan ukuran biji kara benguk berpengaruh pada kadar asam fitat dan kadar protein terlarut pada tempe kara benguk. Semakin lama fermentasi tempe kara benguk maka kadar asam fitat semakin rendah dan kadar protein terlarut semakin tinggi. Semakin kecil ukuran biji tempe kara benguk, maka kadar asam fitat semakin rendah dan kadar protein terlarutnya semakin tinggi. Tempe kara benguk biji giling fermentasi 36 memiliki kadar asam fitat terendah dan kadar protein terlarut tertinggi dari semua sampel dengan variasi lama fermentasi dan pengecilan ukuran. Waktu optimal fermentasi yaitu 36 jam karena untuk pengujian protein terlarut dan asam fitat tidak berbeda nyata termasuk teksturnya sudah cukup kompak.

Kata Kunci : Kara benguk, Kadar Asam Fitat, Kadar Protein terlarut, Lama Fermentasi, Pengecilan ukuran

SUMMARY

Laela Nur Rokhmah. H0604031. Study of Phytic Acid and Protein Contents During Velvet Beans Tempeh Production (*Mucuna pruriens*) with Variation of Size Reduction and Fermentation Time. Under the supervisor of Ir. Choirul Anam, MP, MT; Prof. Ir. Sri Handajani, MS, P.hD and Dian Rachmawati A., S.TP, MP. Agriculture Faculty Sebelas Maret University, Surakarta.

Velvet beans is one of *Leguminoceae* contain phytic acid. The advantage of phytic acid for antioxidant. Nevertheless, phytic acid have shortage is anti nutrition. Phytic Acid shows characteristic that can be provided with protein to form insoluble complexes of phytat and protein. The formed of phytat-protein causes decreasing protein availability for human body so reducing nutrition value of the food product.

The aims of this research were determine influence of size reduction of velvet beans seed (*Mucuna pruriens*) and fermentation time on contents of phytic acid and soluble protein on the producing velvet beans tempeh (*Mucuna pruriens*). This research is factorial experiment that arranged in Randomized Complete Design (RCD) with two experimental factors including size reduction (3 kinds) and time of fermentation (5 kinds).

Every 12 hour fermentation time for three kinds of size velvet beans's seeds, lowest phytic acid and highest soluble protein were showed by velvet beans tempeh of grind seeds. On fermentation 36 hours for three kinds seeds measure had gotten lowest phytic acid during fermentation is 3,32 mg/g; 1,98 mg/g and 1,16 mg/g. Contens of highest soluble protein during fermentation had gotten on fermentation 36 hour is 19,51 mg/g; 23,73 mg/g and 24,89 mg/g.

Fermentation time and size of velvet beans seeds affect on phytic acid and soluble protein contents of velvet beans tempeh. The longer fermentation time of velvet beans tempeh caused lower phytic acid content and higher soluble protein content. The smaller size of velvet beans seeds on tempeh caused lower phytic acid content and higher soluble protein content.. Velvet beans tempeh of grind seeds with 36 hour fermentation had the lowest of phytic acid content and the highest of soluble protein contents of all the sample with variation of reducing size and duration of fermentation. Optimally time fermentation is recommended at 36 hour prior to its solid texture and its soluble protein and phytic acid content that were 48 fermentation not significant.

Key Word : Velvet Beans, Phytic acid contents, Soluble Protein contents, Fermentation Time, Size reduction

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Salah satu sumber gizi yang dibutuhkan oleh manusia yaitu protein. Protein mempunyai fungsi utama sebagai zat pembangun dan pengatur. Sebagai zat pembangun, protein merupakan bahan pembentuk jaringan-jaringan baru yang selalu terjadi dalam tubuh. Selain itu protein juga sebagai bahan bakar apabila keperluan energi tubuh tidak terpenuhi oleh karbohidrat dan lemak. Terdapat dua jenis sumber protein yaitu hewani dan nabati. Meskipun pada umumnya sumber protein hewani lebih tinggi nilainya namun ada beberapa protein nabati yang tergolong sumber protein yang tinggi nilainya sekitar 16-33%, misalnya kacang-kacangan dan biji-bijian (Soedarmo, 1973).

Protein nabati lebih banyak dikonsumsi oleh masyarakat karena harganya lebih terjangkau oleh masyarakat menengah kebawah. Tempe merupakan salah satu sumber protein nabati yang sering dikonsumsi dan pada umumnya berbahan baku kedelai. Akan tetapi, akhir-akhir ini harga tempe naik karena harga kedelai sebagai bahan baku naik hingga 100% mencapai Rp. 7.500,00 per kg (Awal Januari 2008) yang tadinya Rp. 3800,00 per kg (Agustus-September 2007) (Anonim, 2008^b). Bahan baku tempe selama ini masih diimpor dari Amerika, rata-rata 40% karena produksi lokal terus mengalami penurunan (5,2%)(Anonim, 2008^a) dan tidak dapat memenuhi kebutuhan kedelai yang terus naik (1,8% tiap tahun) (Pitojo, 2003) sementara tingkat impor kedelai terus meningkat.

Kenaikan harga kedelai yang berimbas pada kenaikan harga tempe mengakibatkan penurunan tempe sebagai salah satu sumber protein oleh masyarakat. Oleh karena itu perlu alternatif bahan baku tempe yang murah sehingga kebutuhan masyarakat akan sumber protein dapat terpenuhi.

Kara benguk merupakan salah satu jenis *Leguminoceae* yang dapat digunakan sebagai salah satu alternatif bahan baku sumber protein non kedelai yang dapat diolah menjadi tempe. Meskipun kadar protein dibawah kedelai

(28,7 % kara benguk dan 40,4 % kedelai) namun harga kara benguk lebih murah dibandingkan dengan kedelai (kara benguk Rp. 2000 per kg) sehingga tempe kara benguk dapat terjangkau oleh masyarakat. Selain itu kara benguk diproduksi lokal sehingga tidak terpengaruh oleh biaya masuk impor.

Asam fitat yang terkandung dalam kara benguk memiliki keuntungan yaitu sebagai anti oksidan. Meskipun demikian, asam fitat juga memiliki kekurangan yaitu sebagai senyawa anti gizi. Tingginya kadar asam fitat yang dapat berikatan dengan logam dan protein membentuk kompleks senyawa tidak larut sehingga menyebabkan turunnya ketersediaan mineral dan protein bagi tubuh dengan demikian akan menurunkan nilai gizi produk pangan yang bersangkutan. Dalam penelitian ini akan dikaji asam fitat sebagai anti gizi. HCN dalam kara benguk mentah juga sangat tinggi sehingga dapat menyebabkan keracunan bahkan sampai kematian (dosis 0,5-3,5 mg HCN/kg berat badan)(Winarno, 2002). Kerasnya biji kara benguk juga merupakan kelemahan. Akan tetapi kekurangan-kekurangan tersebut dapat diatasi dengan proses yang baik dan benar salah satunya dengan pembuatan tempe sehingga akan dihasilkan produk yang aman dan layak untuk dikonsumsi oleh masyarakat. Oleh karena itu diperlukan suatu upaya untuk mengatasi kerasnya produk tempe kara benguk yaitu dengan melakukan pengecilan ukuran. Diduga perubahan ukuran kara benguk akan berpengaruh pada asam fitat dan protein terlarutnya.

B. Perumusan Masalah

1. Apakah kadar asam fitat pada pembuatan tempe kara benguk (*Mucuna pruriens*) dipengaruhi oleh pengecilan ukuran biji dan lama fermentasi ?
2. Apakah kadar protein pada pembuatan tempe kara benguk (*Mucuna pruriens*) dipengaruhi oleh pengecilan ukuran biji dan lama fermentasi ?

C. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh pengecilan ukuran biji kara benguk (*Mucuna pruriens*) dan lama fermentasi terhadap kadar asam fitat pada pembuatan tempe kara benguk (*Mucuna pruriens*)
2. Mengetahui pengaruh pengecilan ukuran biji kara benguk (*Mucuna pruriens*) dan lama fermentasi terhadap kadar protein pada pembuatan tempe kara benguk (*Mucuna pruriens*)

D. Manfaat Penelitian

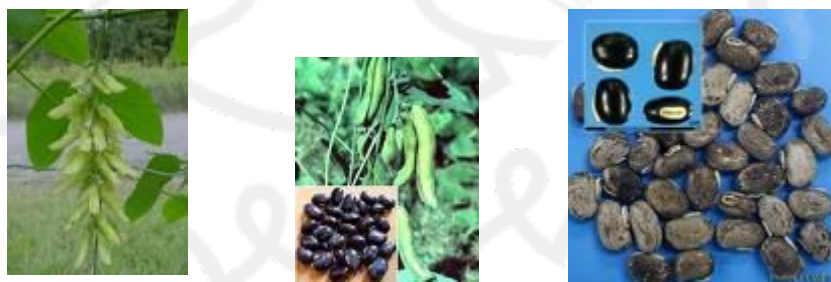
Penelitian ini penting karena dapat diperoleh tempe kara benguk dengan kadar asam fitat rendah dan protein terlarut yang tinggi sehingga kara benguk (*Mucuna pruriens*) dapat dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif bahan baku tempe sehingga aman dan layak dikonsumsi dan dapat diterima masyarakat .

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Kara Benguk (*Mucuna pruriens*)

Kara benguk (*Mucuna pruriens*) tergolong dalam sub keluarga *Pappionaceae*, keluarga *Leguminoceae*, spesies *M. pruriens* diketahui mempunyai 4 forma, yaitu *Mucuna pruriens f prurinrs (L) DC* berbunga ungu tua dan polongnya berbulu gatal, *Mucuna pruriens f hirsula (W dan A)* Back berbunga ungu tua dan polongnya berbulu sangat padat, *Mucuna pruriens f utilitis (Wall ex wight)* back berbunga ungu tua tapi polongnya tirdak berbulu gatal, *Mucuna pruriens f cochinchinensis (Lour)* back berbunga putih dan polongnya tidak berbulu gatal (Gandjar *et al.*, 1973). Kara benguk (*Mucuna pruriens*) merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang dapat tumbuh di tanah yang kurang subur dan kering. Terdapat 4 macam varietas kara benguk yang ada di Jawa, yaitu : rase (putih dengan bercak hitam), lutung (hitam), rempelo (merah), dan putih (putih). (Kanetro dan Hastuti, 2006)



Gambar 2.1 Polong dan Biji Kara Benguk

Kara benguk, kara putih dan gude merupakan kacang-kacangan sumber protein nabati yang belum banyak dimanfaatkan untuk pemenuhan gizi makanan khususnya protein. Menurut Redy *et al.*(1978) dan Tabekha dan Luh (1980) dalam Sutardi *et al.* 1993, kacang-kacangan mengandung asam fitat (mio-inositol 1,2,4,5,6-heksakis (dihidrogen fosfat)) yang

berperanan sebagai senyawa anti gizi. Komponen gizi dari beberapa kacang-kacangan disajikan dalam tabel 2.1

4



Tabel 2.1 Komposisi Gizi Beberapa Kacang-Kacangan

Zat Gizi	Kara benguk	Koro putih (k)	Gude	Kedelai
Protein (g)	24	8,3	30,7	34,9
Lemak (g)	3	0,7	1,4	18,1
Karbohidrat (g)	55	22,1	62	34,8
Kalsium (mg)	130	17,8	125	227
Fosfor (mg)	200	12	275	585
Besi (mg)	2	2,7	4	8
Air (g)	15	67,2	12,2	7

Sumber : Sutardi, dkk (1993)

Jika dibandingkan dengan kedelai, kadar protein dan lemak kara benguk lebih rendah, sedangkan kadar karbohidratnya lebih tinggi, bahkan dua kali kandungan karbohidrat kedelai. Tabel 2.2 menyajikan komposisi zat gizi yang dimaksud.

Tabel 2.2 Komposisi Zat Gizi Kara Benguk dan kedelai (% b.k)

Komponen Gizi	Biji Koro benguk		Biji kedelai
	(1)	(2)	(3)
Protein	33,8	28,4-31,0	46,3
Lemak	4,8	3,4-5,1	19,1
Abu	3,4	-	6,3
Karbohidrat	50,1	62,3-63,3	28,5
Serat	7,3	16,6-15,5	3,7

Sumber : (1) Handayani dkk. (1995) (2) Hardiman. (1982) (3) Mien dkk. 1990 dalam Handayani (1996)

Kandungan karbohidrat yang tinggi ini membedakan kara benguk dengan kacang-kacangan yang lain. Oleh karenanya, produk olahan kara benguk mempunyai tekstur yang lebih kenyal. Komponen utama karbohidrat dalam kara benguk adalah pati (Kanetro dan Hastuti, 2006)

2. Tempe

Tempe merupakan hasil fermentasi biji – bijian dengan menggunakan jamur *Rhizopus oligosporus*. Di Indonesia tempe yang sangat digemari masyarakat berasal dari kedelai, selain kedelai tempe dapat dibuat dari gandum, beras dan biji - bijian lain, meskipun kualitasnya tidak sebaik yang dibuat dari kedelai. (Hesseltine *et al.*, 1967)

Tempe kedelai mempunyai flavour yang lebih baik daripada kedelai mentah, kandungan bahan padatan terlarutnya lebih tinggi oleh karena selama penempean terjadi perubahan senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang sifatnya lebih mudah larut, sehingga tempe lebih mudah dicerna. Tempe juga banyak mengandung vitamin B12, mineral seperti Ca dan Fe, tidak mengandung kolesterol dan relative bebas dari racun kimia (Yanwar dan Saparsih, 1978).

Tempe terbuat dari kacang-kacangan mentah yang dicampur dengan menggunakan inokulan *Rhizopus oligosporus*. Kacang-kacangan tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu sekitar 30°C (86°F). Tempe bermutu tinggi bila kacang terlekat dengan jalinan miselium putih. Jika proses fermentasi dibiarkan terlalu lama, spora hitam mungkin terbentuk dipermukaan. Spora tersebut tidak berbahaya namun mempengaruhi kenampakan dan penerimaan konsumen. (Anonim, 2008°).

Tempe mempunyai ciri-ciri berwarna putih, tekstur kompak dan flavour spesifik. Warna putih disebabkan adanya miselia jamur yang tumbuh pada permukaan biji kedelai. Tekstur yang kompak juga disebabkan oleh miselia-miselium jamur yang menghubungkan antara biji-biji kedelai. Sedangkan flavor yang spesifik disebabkan oleh terjadinya degradasi komponen-komponen dalam kedelai selama fermentasi (Kasmidjo, 1990 dalam Supriyadi 1998)

Proses pengolahan tempe pada umumnya meliputi tahap pencucian, perendaman bahan mentah, perebusan, pengulitan, pengukusan, penirisan dan pendinginan, inokulasi, pengemasan, kemudian fermentasi selama 2-3 hari. Perendaman mengakibatkan ukuran biji menjadi lebih besar dan struktur kulit mengalami perubahan sehingga lebih mudah dikupas. Perebusan dan pengukusan selain melunakkan biji dimaksudkan untuk membunuh bakteri kontaminan dan mengurangi zat anti gizi. Penirisan dan pendinginan bertujuan mengurangi kadar air dalam biji dan menurunkan suhu biji sampai sesuai dengan kondisi pertumbuhan jamur (Purwadaksi, 2007)).

Kacang-kacangan dikonsumsi setelah diolah terlebih dahulu secara umum. Dalam skala rumah tangga kacang-kacangan diolah menggunakan panas dengan sebelumnya dilakukan proses perendaman. Proses pengolahan dengan perendaman dilanjutkan pemanasan untuk mengurangi kadar asam fitat dan aktivitas antitrypsin dalam bahan. Pemanasan juga dapat menyebabkan protein terdenaturasi yang diikuti koagulasi sehingga protein kehilangan kelarutannya (Harrow dan Mazus, 1958 dalam Sutardi 1988).

Fujimaki (1968) melaporkan selama fermentasi terjadi perubahan enzimatik yaitu bau dan rasa yang tidak disenangi hilang karena adanya aktivitas enzim protease. Selama fermentasi miselia jamur yang berwarna putih akan menyelubungi permukaan tempe. Jamur akan mengeluarkan enzim-enzim yang dapat memecah komponen dalam bahan yaitu lemak, protein, dan karbohidrat menjadi bahan yang lebih sederhana (Fujimaki, 1969).

Aktivitas fisiologis kapang pada proses fermentasi tempe dimulai sejak diinokulasikannya inokulum (ragi tempe) pada kedelai yang telah siap difermentasikan yaitu kedelai masak yang telah dikuliti dan ditiriskan. Spora kapang tersebut mulai tumbuh berkecambah dengan membentuk benang-benang hifa yang tumbuh memanjang membalut dan menembus biji kedelai. Apabila benang-benang tersebut sedemikian padat, maka terbentuklah tempe yang kompak, putih dan dengan aroma khas tempe. Secara keseluruhan tahapan ini disebut proses fermentasi. (Sapuan dan Soetrisno, 1996)

Rhizopus oligosporus adalah jamur utama yang berperan dalam proses fermentasi tempe. Ciri yang khas dari genus *Rhizopus* adalah pertumbuhan koloninya cepat, mempunyai stolon, rhizoid dan sporangiosfor dengan banyak spora, umumnya berukuran besar, berwarna putih waktu masih muda, kemudian menjadi hitam dan coklat serta *collumela* berwarna coklat (Samson, Hoekra dan Van Oorschot dalam Sutardi, 1988).

Persyaratan yang harus dipenuhi *Rhizopus* agar dapat digunakan sebagai inokulum tempe (Steinkraus, *et al.* dalam Shurtleff dan Aoyagi, 1979) yaitu :

1. Pertumbuhan cepat pada suhu 37°C
2. Mempunyai aktivitas proteolitik yang tinggi dan menghasilkan ammonia bebas setelah fermentasi 48-78 jam
3. Mempunyai kemampuan untuk menghasilkan sifat-sifat khas tempe seperti flavor, aroma, dan tekstur
4. Mempunyai aktivitas lipolitik yang tinggi dan memproduksi antioksidan

Perendaman kedelai merupakan tahap awal dan penting dalam pembuatan tempe secara tradisional. Menurut Kasmidjo (1990) ada beberapa maksud dan tujuan perendaman kedelai, di antaranya adalah :

1. Memberikan kesempatan pada kedelai untuk menyerap air (hidrasi) sehingga biji lebih lunak. Selama perendaman, biji menyerap air kira-kira sebanyak beratnya sendiri. Menurut Steinkraus (1983), jamur tempe tidak akan mampu tumbuh pada kedelai yang keras (belum menyerap air) dan tidak dikupas.
2. Perendaman akan mengeluarkan faktor yang menghambat pertumbuhan jamur tempe dari dalam biji kedelai, larut dalam air rendaman.
3. Perendaman dapat menurunkan pH kedelai yang disebabkan oleh proses fermentasi dan pengasaman oleh bakteri. Penurunan pH kedelai memberi kesempatan jamur tempe tumbuh lebih lama dan menjamin kualitas tempe yang baik. Jamur tempe memproduksi enzim proteolitik yang kuat. Selama fermentasi, enzim ini merombak protein kedelai menjadi senyawa sederhana dan menghasilkan amoniak yang kemudian menjadi ammonia dalam air, sehingga menaikkan pH. Jika biji kedelai memiliki pH awal yang rendah pada saat fermentasi dimulai maka akan tersedia sebanyak cadangan keasaman untuk menetralkan ammonia yang terbentuk selama fermentasi. Apabila pH melampaui 7, dapat menyebabkan amoniak tidak ternetralkan sehingga

berbau busuk, juga mempercepat pertumbuhan bakteri pembusuk dan mengganggu pertumbuhan jamur tempe.

Pada kacang-kacangan, secara umum dilakukan perendaman sebelum proses pengolahan. Perendaman ini berfungsi untuk melunakkan biji, mengurangi bau langu dari biji yang diolah serta mereduksi lendir dan kotoran yang menempel pada keping biji (Anonim, 1977 dalam Siti Atikoh Supriyanti, 1997).

Proses pengukusan dilakukan setelah air mendidih. Pada pengukusan, kerusakan biji terjadi lebih lambat. Karena biji tidak berinteraksi secara langsung dengan air panas, namun melalui uap air panas, sehingga pada proses ini suhu yang digunakan di bawah atau sama dengan 100°C (Shurtleff dan Aoyogi, 1979)

3. Asam Fitat

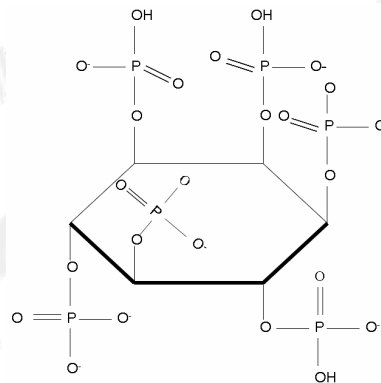
Asam fitat merupakan senyawa anti gizi yang terdapat pada kacang-kacangan. Pada proses fermentasi kandungan asam fitat dapat dikurangi hingga 1/3 nya. Hal ini disebabkan karena selama fermentasi jamur *Rhizopus oligosporus* akan menghasilkan enzim phitase yang akan memecah asam fitat (*inosinol hexaphosphat*) menjadi inositol dan phosphate organik. Sebagian *phosphate* organik tersebut digunakan untuk pertumbuhan jamur itu sendiri (Sudarmadji, 1975).

Fitat pertama kali ditemukan oleh Pfeffer tahun 1872. Neuberg pada awal 1900-an mengusulkan struktur fitat, yaitu $C_6H_{24}O_{27}P_6$ dengan 18 atom hidrogen disekitar inti inositol fosfat sedangkan Anderson mengusulkan $C_6H_{18}O_{24}P_6$. Berdasarkan resonansi inti magnetik (NMR) dan kristografi sinar – X dapat dibuktikan bahwa struktur yang diusulkan Anderson merupakan struktur yang lebih sesuai dengan fitat yang ada di alam, khususnya tumbuhan (Noor, 1992).

Brown *et al.* (1961) mengadakan penelitian untuk mengetahui struktur asam fitat. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa asam fitat mempunyai 18 ion H_2 sesuai dengan pendapat Neuberg ; 12 ion H_2 dapat dibebaskan pada akhir titrasi, sedangkan 6 ion H_2 bersifat asam lemah dan

sukar bereaksi dalam air. Maddaidah *et al.* (1984), Johnson and Tate (1969), Weinganfter and Erdman (1981) menyatakan bahwa struktur asam fitat lebih sesuai dengan yang diusulkan Anderson. Menurut Weinganfter dan Erdman (1981), asam fitat dengan struktur ini mengalami dissosiasi pada pH netral, suatu bukti bahwa kation dapat berikatan kuat dengan asam fitat diantara 2 gugus fosfat atau berikatan dengan asam fitat pada satu gugus fosfat.

Di bawah ini merupakan gambar struktur kimia asam fitat



Gambar 2.2. Struktur Kimia Asam Fitat

Asam fitat mempunyai nama kimia mio inositol 1,2,3,4,5,6-heksakis (dihidrogen fosfat) (Oberleas,1973). Istilah asam fitat sering dicampuradukkan dengan istilah fitin yang merupakan garam kalsium magnesium dari asam fitat. Fitat secara umum diartikan sebagai monododeka kation asam fitat (Johnson and Tate, 1969 ; Maga, 1982).

Asam fitat tersebar dimana – mana, terutama pada tanaman dalam bentuk fitin (Lott,1986). Reddy *et al.* (1982) menyatakan bahwa kacang – kacangan pada umumnya mengandung asam fitat. Menurut Erdman (1979), besarnya kandungan asam fitat dan sebarannya di dalam biji tergantung pada jenis biji – bijian tersebut. Graf (1983) menyatakan, kadar asam fitat di dalam biji – bijian berkisar antara 0,8 – 5,3 % berat kering (bk).

Asam fitat sebagian besar terakumulasi di lapisan aleuron dan hanya sedikit terdapat di lembaga. Lapisan aleuron ini tersusun dari dua

bagian, yaitu globoid dengan kandungan fitat tinggi, dan lapisan kulit yang terdiri atas protein dan karbohidrat. Hal ini akan berpengaruh pada jumlah fitat dari produk-produk dengan metode penggilingan. Misalnya dedak mempunyai kandungan asam fitat yang cukup tinggi, berbeda dengan produk tepung yang jumlah fitatnya lebih kecil (Reddy, 2002; Heidvégi dan Lásztity, 2002 dalam Arinanti, 2005). Pendapat tersebut didukung oleh Jansen (1992) dalam Mahendadratta (2002) yang menyatakan bahwa asam fitat serealia terutama terdapat pada kulit sekam dan kecambah.

Despande *et al.*(1982) dalam Arinanti (2005) menyatakan bahwa asam fitat pada *dry bean* utuh dan dikupas mempunyai jumlah asam fitat yang berbeda. Jumlah asam fitat *dry bean* kupas (dari berbagai varietas) meningkat 7-60% dari bentuk utuhnya. Berarti untuk produk kacang-kacangan, sebagian besar asam fitat terdapat di kotiledonnya.

Kedelai mengandung 1, 23 % asam fitat sedangkan dalam koro benguk terdapat 2,5 % (bk) asam fitat (Graf, 1983). Meskipun komposisi zat gizinya cukup tinggi, kara benguk juga mengandung senyawa merugikan, yaitu glukosianida yang bersifat toksin dan asam fitat yang merupakan senyawa anti gizi. Menurut Kasmidjo (1990) untuk mengekstrak senyawa glukosianida, dalam pengolahan kara benguk harus dilakukan perendaman yang lebih lama dengan beberapa kali penggantian air rendaman atau dengan menambahkan abu dalam air rendaman. Penambahan abu ini bertujuan untuk membantu mengekstrak alkaloid glukosianidanya. Sedangkan menurut Sutardi *et al.* (1993), kadar asam fitat yang merupakan *chelating agent* senyawa protein dapat diturunkan kadarnya dengan pembuatan tempe. Pada proses pembuatan tempe benguk seluruh tahapan prosesnya, mulai perendaman sampai fermentasi dapat menurunkan kadar asam fitat dengan total penurunan mencapai 53%. Senyawa phytate atau phytin merupakan inositol *hexaphosphoric acid* yang mengikat kalsium, magnesium dan terdapat hampir pada semua jenis kacang-kacangan. Senyawa ini menyebabkan penurunan ketersediaan mineral karena dapat membentuk kompleks dengan kalsium dan

magnesium melalui mekanisme pengikatan kalsium dan magnesium. Asam fitat (IP6) adalah senyawa cincin inositol tersubstitusi heksafosfat yang dalam bentuk terprotonasi memiliki afinitas tinggi terhadap mineral-mineral divalen seperti Ca, Mg, Zn, Fe, Cu dan Co. Kalsium atau Mg dari fitat adalah senyawa fosfat yang terdapat secara alami dalam tanaman terutama serealia, kacang-kacangan dan biji-bijian berminyak yang kadarnya bisa mencapai 5% (b/b)(Brooks and Lam. 2001; Sri Rahardjo, 1997 dalam Fitriana, 2001). Menurut Pangastuti dan Triwibowo (1996^{a,b}), Asam fitat juga berikatan dengan protein yang dapat mengurangi nilai gizi protein dan sifat fungsional protein. Adanya interaksi asam fitat dengan protein perlu diperhitungkan sebagai salah satu faktor yang menyebabkan berkurangnya nilai gizi bahan makanan

Metode pemanasan kurang efektif mengeliminasi phytat karena bersifat cukup stabil terhadap panas. Pengukusan dan pemasakan 20 menit hanya sedikit mengurangi phytat. Cara yang cukup efektif mengurangi phytat adalah dengan cara perkecambahan dan fermentasi. Perkecambahan menyebabkan peningkatan enzim phytase sehingga mengurangi kandungan fitat. Fermentasi dalam pembuatan tempe menyebabkan penurunan phytat sekitar 67%(Anonim, 2008^c).

Zat besi dan mineral lainnya hanya dapat diserap oleh sistem pencernaan manusia dalam keadaan terlarut. Adanya ikatan antara ion feri dengan asam fitat membentuk suatu senyawa yang mempunyai tingkat kelarutan rendah, akibatnya ketersediaan zat besi yang ada dalam makanan tersebut berkurang bagi tubuh manusia atau hewan. Davies dan Nightingale (1975) menyatakan bahwa asam fitat yang ada dalam makanan merupakan penyebab utama menurunnya penyerapan Fe. Senyawa feri-fitat sukar larut di dalam saluran pencernaan, tetapi akan mengalami dissosiasi pada usus halus dan membentuk senyawa feri hidroksida (Anonim, 1997).

Penamaan dan penggolongan asam fitat, fitase didefinisikan oleh enzim yang mengkatalisis hidrolisis asam fitat menjadi inositol bebas dan

6 anion P anorganik (Pa) (Florkin&Stotz,1964) ada 2 fitase yang dikenal : 3-fitase atau myo-inositol heksakifosfat 3-fosfohidrolase (EC 3.1.3.8), yang mengkatalisis defosforilasi fitat mulai posisi 1;6-Fitase yang menghidrolisis fitat mulai posisi 6. Kedua enzim mengkatalisis defosforilasi asam fitat dengan sempurna menjadi myo-inositol dan Pa (Nayini dan Markakis,1984).

Pengukuran kadar asam fitat pada tiap tahap pembuatan tempe kara benguk menggunakan metode Davies dan Reid (1979) dalam Pangastuti dan Sitoresmi (1996). Prinsip metode ini adalah ion ferri yang telah membentuk kompleks dengan fitat tidak lagi dapat bereaksi dengan io-ion tiosianat untuk membentuk kompleks warna merah. Dengan adanya amil alkohol, densitas optik larutan yang diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan λ 465 nm berbanding terbalik dengan konsentrasi fitat. Semakin banyak jumlah fitat pada bahan, absorbansinya akan semakin rendah .(Davies dan Reid, 1979 dalam Khokhar, 1994).Pengukuran kandungan asam fitat berdasarkan kurva standar Na-Fitat, y adalah absorbansi dan x adalah kadar asam fitat (gr/100 ml)

4. Protein terlarut

Protein merupakan salah satu kelompok bahan makronutrien Tidak seperti bahan makronutrien lain (lemak dan karbohidrat), protein berperan lebih penting dalam pembentukan biomolekul daripada sumber energi.(Sudarmadji, *et al.*,1989). Selain itu menurut Winarno (2002), protein juga berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur..

Protein merupakan senyawa makromolekul yang tersusun atas asam amino-amino yang dihubungkan melalui ikatan peptida sehingga senyawa ini disebut juga sebagai polipeptida. Asam amino sendiri merupakan asam organik yang bersifat amfoter yang mengandung gugus amino (NH₂), gugus karboksil (COOH), atom hidrogen dan gugus R (rantai cabang). Ikatan peptida (--CONH--) merupakan ikatan yang terbentuk antara gugus α -karboksil suatu asam amino dengan gugus α -amino dari asam amino lainnya.(Marseno, 1998)

Interaksi antara protein dan air terjadi melalui ikatan peptida dalam rantai polipeptida (interaksi melalui dipole-dipole) dan melalui rantai cabang (gugus R) asam-asam amino (interaksi melalui ionisasi, polar dan non polar). Kelarutan protein dalam air dipengaruhi oleh pH, kekuatan ion (ionic strength), suhu dan solvent organik. Pada $\text{pH} > \text{pI}$ (bermuatan positif) ataupun $\text{pH} < \text{pI}$ (protein bermuatan negatif), protein akan dapat berinteraksi dengan air sehingga dapat larut. Pada $\text{pH} = \text{pI}$, dimana muatan protein total = 0, maka protein tidak dapat berinteraksi dengan air dan akhirnya mengendap. Suhu juga mempengaruhi kelarutan protein. Pada suhu $0-40^{\circ}\text{C}$ kelarutan protein akan naik tapi pada suhu $> 40^{\circ}\text{C}$ protein akan tidak larut karena terjadi gerakan-gerakan air yang meningkat sehingga memutuskan ikatan-ikatan yang tadinya menstabilkan protein (struktur sekunder, tertier dan kuarterner). (Marseno, 1998)

Interaksi antara protein dan air juga dapat berdasarkan sifat asam amino yang dapat larut dalam air, tak larut dalam alkohol atau eter, dapat membentuk garam kompleks dengan logam berat (misalnya asam amino dengan Cu^{2+} membentuk senyawa kompleks berwarna biru tua) dan dapat membentuk senyawa berwarna biru dengan ninhidrin. (Winarno, 2002). Sifat mudah larut dalam air membuktikan bahwa asam amino memiliki sifat mengionik (ionic). Asam amino maupun protein dapat bereaksi dengan senyawa tertentu yang memberikan warna spesifik. Reaksi pewarnaan ini dapat digunakan untuk mendeteksi kadar asam amino atau protein secara kualitatif maupun kuantitatif. Sifat reaktif dari rantai samping (gugus R) asam amino terhadap senyawa tertentu merupakan salah satu reaksi yang akan memberikan warna spesifik. Misalnya gugus penol pada tirosin dalam suasana alkali akan memberikan warna biru dengan fosfo-molybdatungstate (Folin-Ciocalteu) (Marseno, 1998)

Pengujian kadar protein menggunakan metode Lowry. Prinsip pengujian dengan metode ini adalah adanya reaksi antara Cu^{2+} dengan ikatan peptida dan reduksi asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat oleh tirosin dan triptofan (merupakan residu protein) akan menghasilkan warna

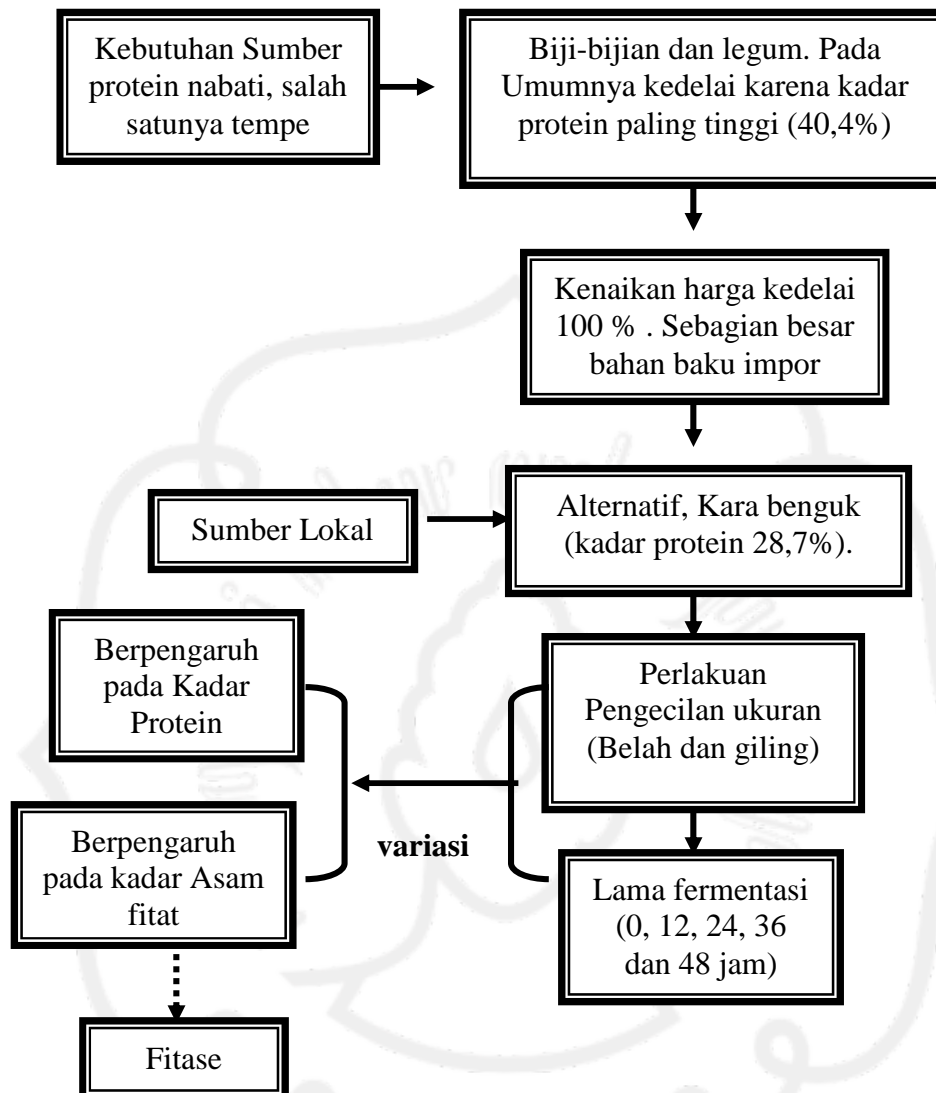
biru. Kadar protein terlarut ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva standar (Apriyantono, *et al.*, 1989). Pengujian kadar protein biasanya dilakukan dengan metode kjedahl Cara kjedahl digunakan untuk menganalisis kadar protein kasar dalam bahan makanan seara tidak langsung karena yang dianalisis dengan cara ini adalah kadar nitrogennya. Kelemahan cara ini adalah bahwa purin, pirimidin, vitamin-vitamin, asam amino besar, kreatina dan kreatinina ikut teranalisis dan terukur sebagai nitrogen protein.(Winarno, 2002)

5. Pengecilan Ukuran

Pengecilan ukuran mungkin merupakan tujuan utama operasi atau bagian dari operasi. Pengecilan ukuran dapat dibedakan menjadi pengecilan ukuran yang ekstrim atau penggilingan dan pengecilan ukuran yang relative masih berukuran lebih besar. Pada penggilingan kering, perlu diperhatikan mengenai penguapan air dan bahan mudah menguap lainnya dan dekomposisi karena panas dan oksidasi semua terjadi karena suhu tinggi yang mungkin terjadi. Selama pengecilan ukuran suatu produk berubah bentuk dan ini menghasilkan desakan. Pada perubahan bentuk selanjutnya desakan meningkat dan gaya kohesi dipatahkan, suatu retakan terbentuk dan meluas (Suyitno, 1989).

Penghancuran dan pemotongan mengurangi ukuran bahan padat dengan kerja mekanis, yaitu membaginya menjadi partikel-partikel lebih kecil. Penggunaan proses penghancuran yang paling luas di dalam industri pangan sebagai contoh adalah dalam penggilingan butir-butir gandum menjadi tepung, penggilingan jagung untuk menghasilkan tepung jagung, penggilingan gula dan penggilingan bahan pangan kering seperti sayuran. Pemotongan dipergunakan untuk memecahkan potongan besar bahan pangan menjadi potong-potongan kecil yang sesuai untuk pengolahan lebih lanjut, seperti dalam penyiapan daging olahan. Didalam proses penggilingan, ukuran bahan diperkecil dengan mengoyakkannya. (Earle, 1969)

B. Kerangka Berfikir



Gambar 2.3. Kerangka Berfikir

C. Hipotesis

Perbedaan jenis pengecilan ukuran dan lama fermentasi dalam proses pembuatan tempe kara benguk (*Mucuna pruriens*) berpengaruh terhadap kadar asam fitat dan kadar protein tempe kara benguk (*Mucuna pruriens*)

III. METODE PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret Surakarta. Penelitian dilaksanakan mulai Maret - Juni 2008

B. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu kara benguk di beli dari pasar Legi Surakarta yang berasal dari Madura, air, ragi tempe merk "RAPRIMA: produksi Bandung yang diperoleh dari Koperasi "Makmur" Mojosongo Surakarta., plastik dan aluminium foil.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini berkualitas pro analisis: seperti HNO_3 0,5 M, HNO_3 0,5 N FeCl_3 , amil alkohol, amonium tiosianat, natrium fitat (Na-fitat), dan aquadest, larutan lowry A (larutan folin ciocalteau dan aquadest, 1:1), lowry B (campuran larutan 2% Na_2CO_3 dalam NaOH 1N dengan $\text{CUSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan Na-K-tartrat 2%) dan larutan standar BSA atau kasein.

2. Alat

Alat yang digunakan yaitu spektrofotometer (Model Shimadzu UV Mini 1240), spektrofotometer (Model termo electron corporation 20 D+), oven (merk Memmert UNM 400), Sentrifuse, waterbath, kompor, panci, alat perajang, blender, baskom, timbangan mekanik, pengaduk, kertas saring, blender, penggiling daging, tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer, pipet ukur, pipet tetes, tabung reaksi, botol timbang, magnetic stirer, hot plate, stop watch, dan termometer

C. Perancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian hubungan fungsional yang pendekatan variabelnya melalui suatu eksperimen dengan memakai sampel tempe kara benguk dan rancangan dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial

yang terdiri dari dua faktor yaitu variasi pengecilan ukuran (3 macam) serta variasi lama fermentasi (5 macam).

Adapun kombinasi perlakuan adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1 Rancangan Percobaan

Perlakuan	Kara Utuh	Kara Belah	Kara Giling
Lama fermentasi			
0 jam	P1U	P1B	P1G
12 jam	P2U	P2B	P2G
24 jam	P3U	P3B	P3G
36 jam	P4U	P4B	P4G
48 jam	P5U	P5B	P5G

D. Pengamatan Parameter/ Peubah

Peubah yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas untuk uji kadar asam fitat di laboratorium adalah variasi lama fermentasi dan variasi pengecilan ukuran kara benguk (*Mucuna pruriens*). Variabel terikat utama adalah kadar asam fitat pada kara benguk (*Mucuna pruriens*) dan tempe kara benguk.
2. Variabel bebas untuk uji protein terlarut di laboratorium adalah variasi lama fermentasi dan variasi pengecilan ukuran kara benguk (*Mucuna pruriens*). Variabel terikat utama adalah kadar protein pada kara benguk (*Mucuna pruriens*) dan tempe kara benguk..

E. Tata Laksana Penelitian

1. Persiapan bahan dan Sortasi

Kara benguk (*Mucuna pruriens*) disortasi dari cemaran fisik kemudian ditimbang, Lalu dicuci terlebih dahulu sebelum ke tahap berikutnya.

2. Perendaman 1

Masing-masing sebanyak 1,5 kg kara benguk (*Mucuna pruriens*) direndam selama 24 jam. Perbandingan air dan kara benguk (*Mucuna pruriens*) adalah 4 : 1.

3. Perebusan

Kara benguk (*Mucuna pruriens*) yang telah direndam, direbus selama 30 menit. Perbandingan air dan kara benguk (*Mucuna pruriens*) adalah 4 : 1. Setelah dingin, kulitnya dikelupas

4. Perendaman 2

Kara benguk (*Mucuna pruriens*) yang telah dikelupas direndam kembali dengan air. Perbandingan air dan kara benguk (*Mucuna pruriens*) adalah 4:1 selama 24 jam.

5. Perendaman 3

Setelah 24 jam, diganti air yang baru dan dilakukan perendaman lagi selama 24 jam dengan perbandingan air : biji adalah 4 : 1

6. Perlakuan pengecilan ukuran

Kara benguk (*Mucuna pruriens*) dibagi 3 bagian sama banyak, 1 bagian untuk kontrol (utuh), 1 bagian dibelah (1 lembaga dibelah menjadi 3), dan 1 bagian digiling

7. Pengukusan

Pengukusan dilakukan selama 25 menit dengan api sedang

8. Penirisan

Penirisan dilakukan dengan menggunakan saringan

9. Pendinginan

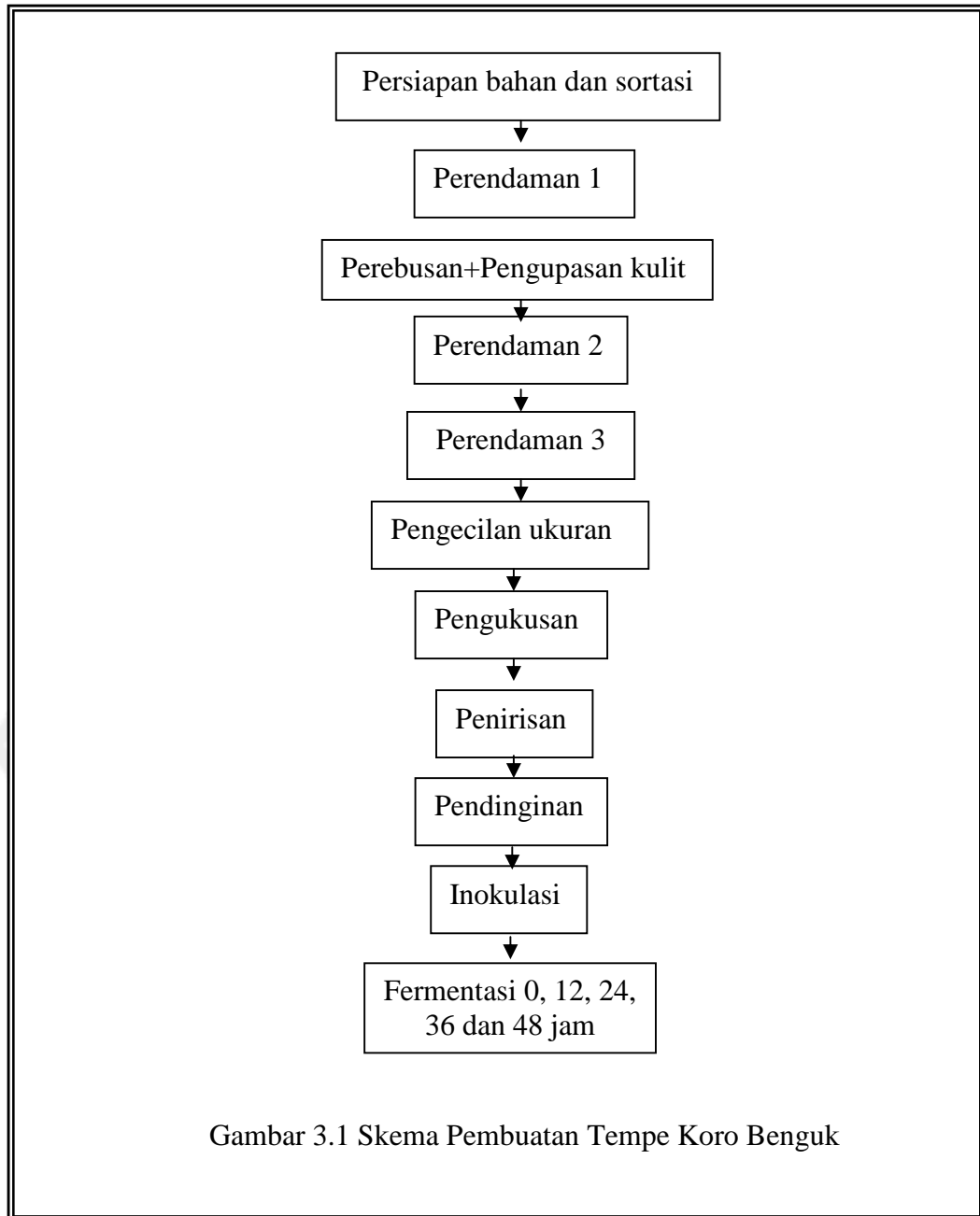
Pendinginan dilakukan dalam suhu kamar dan udara terbuka

10. Inokulasi

Inokulasi dengan menggunakan ragi tempe dengan perbandingan 2 gr ragi tempe dalam 1kg kara. Dilakukan pencampuran secara homogen. Lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik berlubang dengan diameter jarum kecil berjarak 1x 1 cm.

11. Fermentasi

Inkubasi dilakukan dengan menempatkan plastik, yang sudah diisi sampel, dengan menata di rak pada suhu kamar selama 0 jam, 12 jam, 24 jam, 36 dan 48 jam.



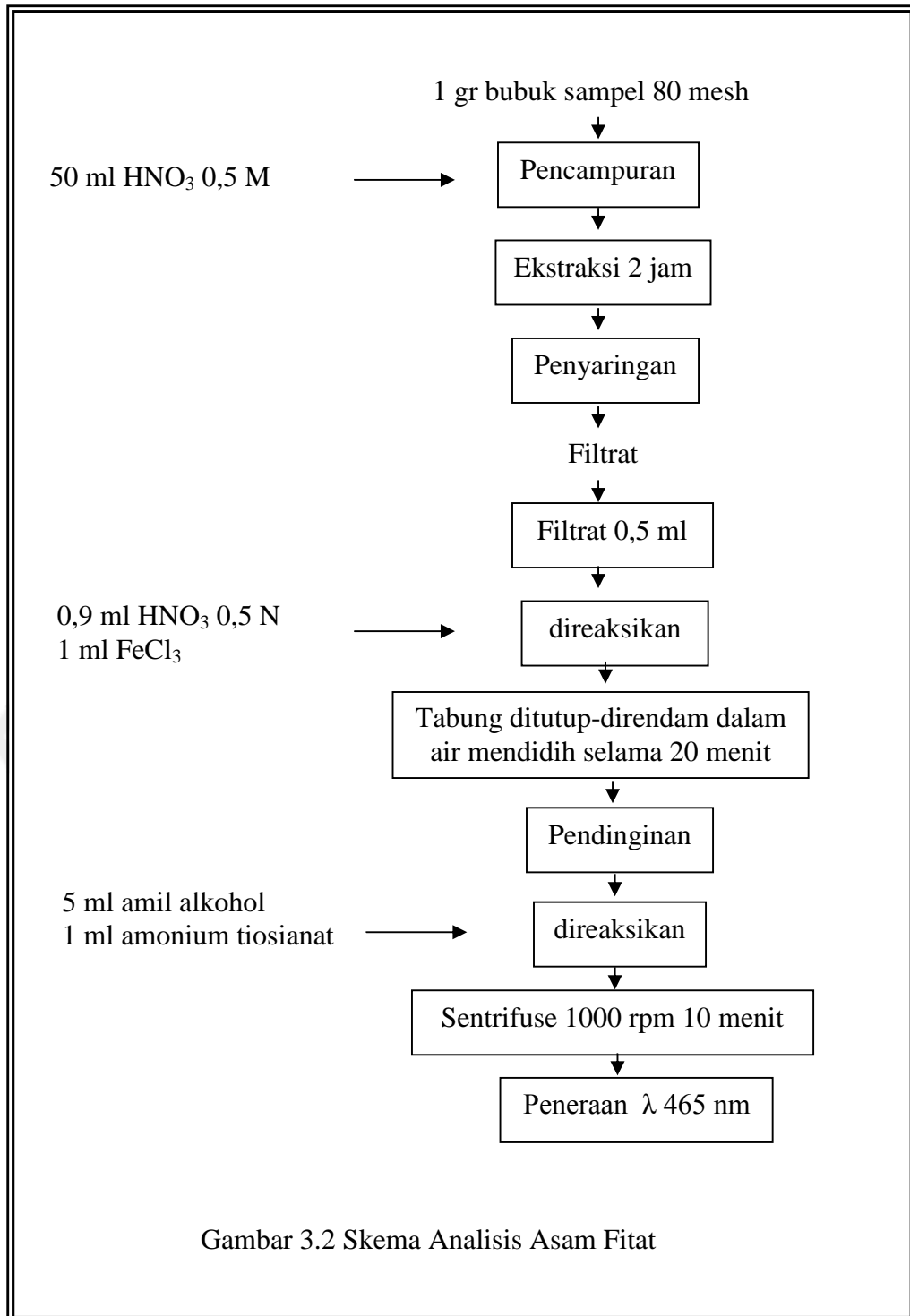
Gambar 3.1 Skema Pembuatan Tempe Koro Benguk

Analisis Di Laboratorium

1. Uji kadar asam fitat

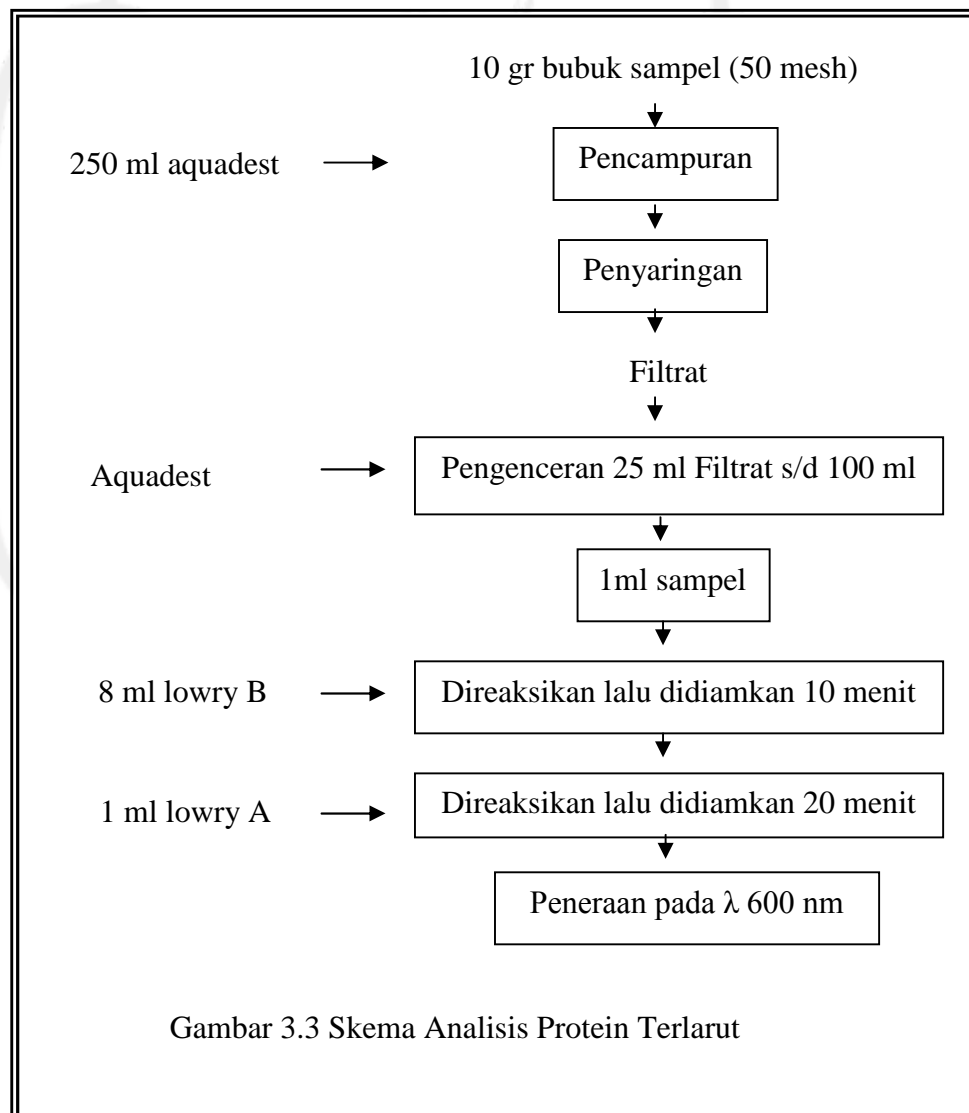
Merupakan pengujian untuk mengetahui kadar asam fitat dalam tempe kara benguk. Pengujian kadar asam fitat menggunakan metode Davies Reid (1979). Prinsip metode ini adalah ion ferri yang telah membentuk kompleks dengan fitat tidak lagi dapat bereaksi dengan io-ion tiosianat untuk membentuk kompleks warna merah. Dengan adanya amil alkohol, densitas optik larutan yang diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan λ 465 nm berbanding terbalik dengan konsentrasi fitat. Semakin banyak jumlah fitat pada bahan, absorbansinya akan semakin rendah. (Davies dan Reid, 1979 cit Khokhar, 1994)

Sebelum dianalisis, tempe tiap perlakuan dikecilkan ukuran kemudian dioven pada suhu 100⁰C selama 2 jam. Setelah itu bahan dihaluskan dengan menggunakan blender hingga melewati ayakan 80 mesh. Semua bahan yang telah halus disimpan dalam botol kering, ditutup rapat untuk selanjutnya dianalisis. Jalannya analisis terlihat pada gambar 3.2



2. Uji Kadar protein

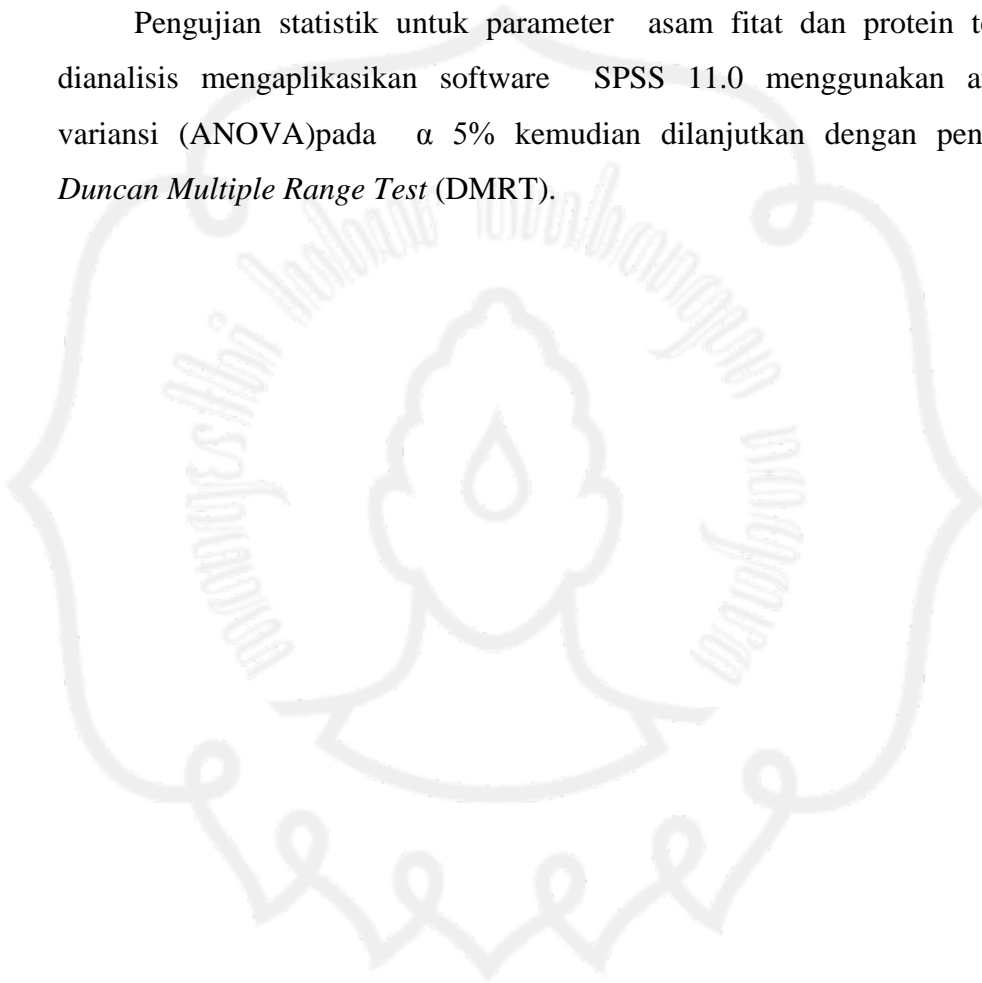
Uji kadar protein dengan menggunakan metode Lowry. Cara Lowry digunakan untuk menganalisis kadar protein terlarut dalam bahan makanan. Prinsip dari uji lowry ini yaitu adanya reaksi antara Cu^{2+} dengan ikatan peptida dan reduksi asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat oleh tirosin dan triptofan (merupakan residu protein) akan menghasilkan warna biru. Kadar protein terlarut ditentukan dengan menggunakan persamaan kurva standar (Apriyantono, *et al.*, 1989). Jalannya analisis terlihat pada gambar 3.3



Penentuan kadar protein pada setiap tahap pembuatan tempe kara bengkuk dilakukan dengan menggunakan kurva standar BSA(Bovine Serum Albumin). Hasil pembuatan kurva baku memberikan persamaan garis regresi $y=a+bx$; y adalah absorbansi dan x adalah kadar protein (mgr/ml).

F. Analisis Data

Pengujian statistik untuk parameter asam fitat dan protein terlarut dianalisis mengaplikasikan software SPSS 11.0 menggunakan analisis variansi (ANOVA)pada α 5% kemudian dilanjutkan dengan pengujian *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).



IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Kadar Air

Kara benguk (*Mucuna pruriens*) merupakan salah satu jenis kacang-kacangan yang dapat dimanfaatkan menjadi tempe sebagai alternatif sumber protein. Selama fermentasi tempe, mikroorganisme mencerna substrat dan menghasilkan air, karbondioksida dan sejumlah besar energi (ATP). Air sebagai salah satu hasil metabolisme, sangat berpengaruh terhadap komponen-komponen lain termasuk pertumbuhan kapang sebagai mikroorganisme yang berperan dalam fermentasi tempe. Dalam penelitian ini dengan variabel variasi lama fermentasi dan variasi pengecilan ukuran, air tersebut dihitung sebagai kadar air dalam bahan yang dapat dilihat pada tabel 4.1. Kadar air digunakan untuk menghitung kadar asam fitat dan kadar protein terlarut dalam berat kering.

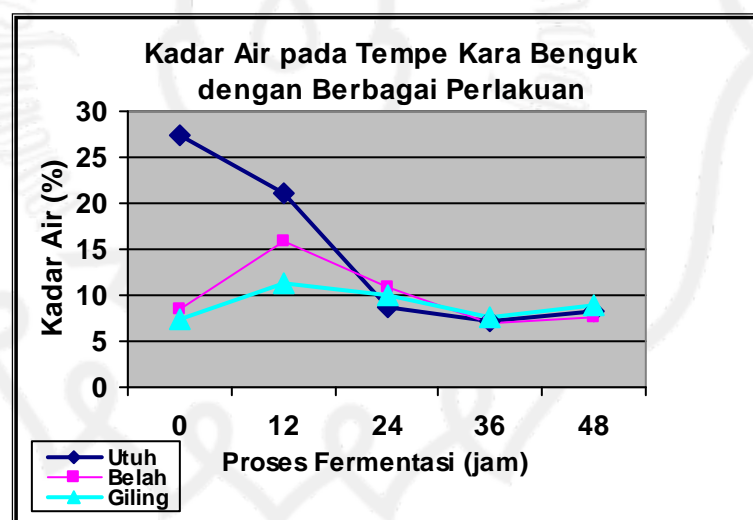
Tabel 4.1 Kadar Air (%) Tempe Kara Benguk dengan Berbagai Perlakuan

Proses	Perlakuan		
	Utuh	Belah	Giling
Fermentasi 0 jam	27,48 ^a	8,41 ^{e,f,g}	7,44 ^{f,g}
Fermentasi 12 Jam	21,00 ^b	15,87 ^c	11,23 ^d
Fermentasi 24 Jam	8,77 ^{e,f}	10,97 ^d	10,06 ^{d,e}
Fermentasi 36 Jam	7,20 ^{f,g}	6,94 ^g	7,62 ^{f,g}
Fermentasi 48 Jam	8,17 ^{f,g}	7,66 ^{f,g}	8,88 ^{e,f}

*)superscript yang berbeda menunjukkan beda nyata($p < 0,05$)

Berdasarkan data tabel 4.1, kadar air tempe kara benguk dengan berbagai variasi lama fermentasi dan variasi pengecilan ukuran, antara 6,94% - 27,48%. Pada fermentasi 0 jam pada tempe kara benguk belah dan giling (8,41% dan 7,44%) masing-masing menunjukkan perbedaan yang nyata bila dibandingkan dengan kara benguk biji utuh (27,48 %) sedangkan antara tempe kara benguk biji belah dan giling tidak menunjukkan beda nyata. Hal ini karena proses pengukusan yang mendahului fermentasi. Proses pengukusan akan mengakibatkan penurunan kadar air karena panas yang dihasilkan akan menguapkan sebagian air dalam bahan. Kadar air tempe kara benguk dengan

biji yang berukuran lebih kecil akan lebih rendah bila dibandingkan pada tempe kara bengkok dengan ukuran biji yang lebih besar. Dalam hal ini tempe kara bengkok biji utuh paling besar dibandingkan kara bengkok biji belah dan giling, sedangkan biji belah lebih besar dibandingkan biji giling. Selama proses pengukusan, panas yang dihasilkan dari proses pengukusan akan menguapkan air dalam bahan. Sehingga, semakin besar ukuran biji kara bengkok maka air yang teruapkan semakin sedikit karena uap panas sulit menembus biji karena luas permukaannya yang kecil. Sebaliknya, semakin kecil ukuran biji kara bengkok maka air dalam biji kara yang teruapkan semakin banyak karena uap panas semakin mudah menguapkan air dalam biji kara. Perbedaan kadar air yang tidak berbeda nyata pada tempe kara bengkok biji belah dan giling karena kara bengkok yang digiling berukuran kecil sehingga rongga antar biji kara bengkok giling sempit dan menyebabkan uap air sulit teruapkan karena air terperangkap.



Gambar 4.1 Kadar Air Selama Fermentasi Tempe Kara Bengkok

Fermentasi 12 jam memberikan hasil kadar air yang berbeda nyata pada tempe kara bengkok biji utuh, belah dan giling. Air merupakan salah satu produk hasil fermentasi aerob. Selama 12 jam, ragi yang digunakan dalam fermentasi tempe sudah melakukan proses metabolisme dan merombak senyawa makromolekul menjadi senyawa yang lebih sederhana meskipun belum sempurna. Hal itu ditunjukkan dengan dengan kenaikan kadar air pada

tempe kara benguk biji belah dan giling (dari 8,41% menjadi 15,87 % pada kara benguk biji belah dan dari 7,44% menjadi 11,23% pada kara benguk biji giling) namun pada tempe kara benguk utuh mengalami penurunan (dari 27,48% menjadi 21,00%). Sebenarnya pada tempe kara benguk biji utuh juga dihasilkan air sebagai hasil metabolisme namun jumlahnya tidak sebanyak yang dihasilkan oleh tempe kara benguk biji belah dan giling. Hal itu karena ukuran biji tempe kara benguk utuh besar sehingga metabolisme ragi tidak sebesar pada tempe kara benguk belah dan giling. Penurunan kadar air tersebut disebabkan sebagian air menguap karena panas yang dihasilkan selama fermentasi dan menguap karena kontak dengan udara meskipun ada sebagian digunakan untuk pertumbuhan ragi tersebut. Hal ini sesuai dengan Anonim (2008^d) dan Rosningsih (2000) yang menyatakan bahwa kapang membutuhkan air untuk metabolismenya.

Fermentasi 24 jam memberikan hasil yang berbeda nyata antara tempe kara benguk biji belah dan giling (10,97% dan 10,06%) dibandingkan dengan kara benguk utuh (8,77%) sedangkan antara tempe kara benguk biji belah dan giling memberikan hasil yang tidak berbeda nyata. Fermentasi 24 jam untuk tempe kara benguk biji utuh dan belah menunjukkan penurunan kadar air yang berbeda dari fermentasi 12 jam. Penurunan kadar air pada kara benguk biji utuh drastis dari 21,00% menjadi 8,77% sedangkan tempe kara benguk belah dari 15,87% menjadi 10,97%, tidak sedrastis pada tempe kara benguk utuh. Diduga pada fermentasi 24 jam, aktivitas ragi mengalami penurunan sehingga kadar air yang dihasilkan mengalami penurunan.

Kadar air pada fermentasi 36 jam untuk biji belah dan giling mengalami penurunan dari fermentasi 24 jam yang berbeda nyata berturut turut untuk kara benguk biji belah dan giling menjadi 6,94% dan 7,62%. Pada fermentasi 36 jam ini aktivitas kapang semakin mengalami penurunan. Penurunan aktivitas mikrobial secara eksponensial ini merupakan penurunan secara garis lurus. Karena aktivitas mikrobial turun, maka hasil metabolisme juga mengalami penurunan, termasuk air. Akan tetapi terjadi kenaikan kadar air yang tidak berbeda nyata pada tempe kara benguk utuh, belah dan giling pada fermentasi

48 jam. Kenaikan kadar air pada akhir fermentasi ini karena terjadinya peningkatan kembali aktivitas ragi yang merupakan penyimpangan yang dialami oleh jamur benang. Hal ini sesuai dengan pendapat Wibowo, *et al.* (1990), yang menyatakan bahwa pertumbuhan jamur benang mudah mengalami penyimpangan dari hukum pertumbuhan logaritmik karena suplai oksigen menjadi pembatas pertumbuhan. Selain itu terutama disebabkan terjadinya perubahan lingkungan yang akan menyebabkan terjadinya perubahan konstituen biomassa.

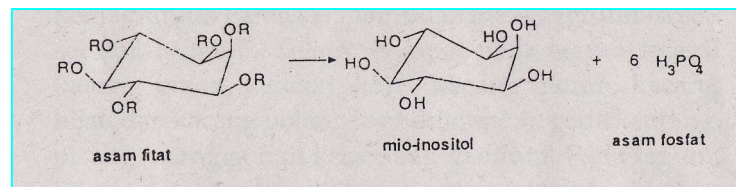
B. Kadar Asam Fitat

Kara benguk merupakan salah satu *leguminoceae* sebagai sumber protein namun mengandung asam fitat. Asam fitat, suatu heksafosfor dari mioinositol, adalah asam kuat yang membentuk garam tidak larut dengan beberapa mineral dan protein. Asam fitat dapat dikurangi dengan membuat menjadi tempe. Pada fermentasi tempe kara benguk digunakan ragi dan terlibat pula berbagai jenis mikrobia yang dapat menghasilkan enzim fitase sehingga pemecahan fitat berlangsung sangat cepat. Keberadaan mikroorganisme pada ragi mempunyai peranan penting khususnya dalam membantu menurunkan asam fitat tersebut. Ragi tempe yang umumnya terbuat dari kapang *Rhizopus* menghasilkan enzim fitase yang merupakan salah satu enzim yang dapat menghidrolisis asam fitat menjadi inositol dan orthofosfat. Kadar asam fitat pada sampel dengan variasi lama fermentasi dan pengecilan ukuran dapat dilihat pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Kadar Asam Fitat (mg/g b.k) Tempe Kara Benguk dengan Berbagai Perlakuan

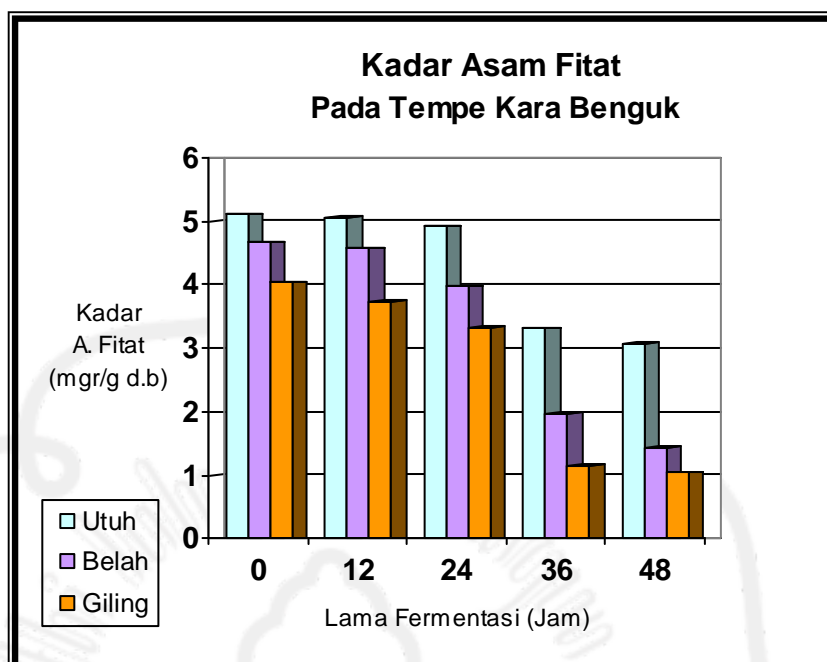
Proses	Perlakuan		
	utuh	Belah	Giling
Fermentasi 0 jam	5,11 ^a	4,66 ^{a,b}	4,04 ^{b,c,d}
Fermentasi 12 Jam	5,06 ^a	4,57 ^{a,b,c}	3,74 ^{d,e,f}
Fermentasi 24 Jam	4,93 ^a	3,97 ^{c,d,e}	3,33 ^{e,f}
Fermentasi 36 Jam	3,32 ^{e,f}	1,98 ^g	1,16 ^h
Fermentasi 48 Jam	3,08 ^f	1,44 ^{g,h}	1,05 ^h

*)superscript yang berbeda menunjukkan beda nyata($p < 0,05$)



Gambar 4.2 Reaksi Perombakan Asam Fitat Oleh Enzim Fitase

Biji kara benguk yang telah direndam, direbus dan dikukus, diinokulasikan dengan ragi tempe, dibungkus dengan plastik yang dilubangi dengan jarum dan diinkubasi pada suhu kamar (37°C) selama 0 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam dan 48 jam. Pada fermentasi 0 jam, kadar asam fitat tempe kara benguk biji utuh tidak berbeda nyata dengan tempe kara benguk belah ($5,11 \text{ mg/g}$ dan $4,66 \text{ mg/g}$) namun berbeda nyata dengan tempe kara benguk biji giling ($4,04 \text{ mg/g}$). Akan tetapi tempe kara biji belah tidak berbeda nyata dengan tempe biji kara benguk giling. Perbedaan kadar asam fitat pada ketiga jenis biji kara pada fermentasi 0 jam dikarenakan proses pengukusan. Proses pengukusan dilakukan sebelum proses fermentasi. Panas yang dihasilkan selama proses pengukusan dapat menurunkan kadar asam fitat meskipun ini bukan cara efektif untuk mereduksi asam fitat, sesuai dengan pendapat Muchtadi (1998) dalam Anonim (2007^b) menyebutkan bahwa asam fitat sangat tahan terhadap pemanasan selama pengolahan Hal ini terbukti dari kadar asam fitat yang diperoleh selama penelitian. Dengan perbedaan ukuran biji kara dihasilkan kadar asam fitat yang tidak berbeda nyata antara kara benguk biji utuh dengan belah namun berbeda nyata dengan kara benguk biji giling. Sedangkan kara benguk biji belah tidak berbeda nyata dengan biji kara benguk giling. Penetrasi panas pada tempe kara biji giling lebih besar dibandingkan biji belah dan utuh. Semakin kecil ukuran biji maka panas yang terpenetrasi semakin mudah.



Gambar 4.3. Kadar Asam Fitat Selama Fermentasi Tempe Kara Benguk

Selama fermentasi 12 jam, ragi sudah melakukan aktivitas metabolisme dan enzim fitase yang dihasilkan sudah mulai menghidrolisis asam fitat. Kadar asam fitat tempe biji kara benguk utuh dan belah berbeda nyata dengan kara benguk giling (3,74 mg/g) sedangkan kara benguk utuh dan kara benguk belah tidak berbeda nyata (5,06 mg/g dan 4,57 mg/g). Hal ini menunjukkan enzim fitase mudah menghidrolisis asam fitat pada biji kara yang berukuran lebih kecil karena hifa kapang lebih mudah menembus biji kara berukuran kecil. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan Apriadji (2008) bahwa pada pembuatan tempe kedelai pecah bahwa tempe yang butirannya pecah-pecah, kapang akan lebih mudah menembus kedelai. Kapang terdiri dari benang yang disebut hifa, kumpulan hifa ini dikenal sebagai miselium. Kapang tumbuh dengan cara memperpanjang hifa. (Buckle, 1985). Semakin kecil ukuran butiran biji tempe kara benguk, maka semakin mudah kapang menembus kara benguk dan semakin banyak asam fitat yang diuraikan oleh fitase yang dihasilkan oleh kapang.

Semakin lama waktu fermentasi, miselium jamur semakin tebal karena pertumbuhan ragi yang semakin meningkat. Dengan pertumbuhan ragi dan semakin tebalnya miselium jamur maka enzim fitase yang diproduksi semakin meningkat dengan ditunjukkan semakin menurunnya kadar asam fitat. Pada fermentasi 24 jam, miselium jamur semakin tebal dibandingkan dengan fermentasi sebelumnya. Kadar asam fitat pada tempe kara biji utuh berbeda nyata dengan biji belah dan giling pada waktu fermentasi yang sama. Hal ini menunjukkan pertumbuhan jamur pada biji kara benguk belah dan giling relatif cepat dan seimbang bila dibandingkan dengan biji kara utuh karena mudahnya hifa jamur menembus biji kara yang berukuran semakin kecil.

Kadar asam fitat pada fermentasi 36 jam mengalami penurunan yang berbeda nyata antar perlakuan dan dengan fermentasi sebelumnya. Diduga pada fermentasi 36 jam merupakan fase puncak pertumbuhan ragi tempe ini. Pada fase ini kapang setelah beradaptasi terhadap kondisi baru, kapang akan tumbuh secara eksponensial sampai jumlah maksimum yang dapat dibantu oleh kondisi lingkungan yang dicapai (Buckle, K. A, *et al.*, 1985). Dengan meningkatnya pertumbuhan ragi maka enzim fitase yang dihasilkan mengalami peningkatan sehingga asam fitat yang terhidrolisis semakin banyak. Kadar asam fitat pada kara benguk utuh, belah dan giling berturut-turut 3,32 mg/g; 1,98 mg/g dan 1,16 mg/g. Penurunan kadar asam fitat yang signifikan ini selain disebabkan oleh kapang ragi tempe, dapat disebabkan oleh aktivitas bakteri yang tumbuh baik. Sudarmadji (1975), Sudarmadji dan Markakis (1978) dalam Pangastuti dan Triwibowo (1996), mengamati pertumbuhan *Bacillus licheniformis* dan *Bacillus cereus* pada tempe setelah fermentasi 24 jam sampai 36 jam. Powar and Jaganathan (1976) dalam Pangastuti dan Triwibowo (1996) melaporkan adanya aktivitas fitase pada bakteri *Bacillus subtilis*. Dengan demikian turunnya kadar asam fitat selama fermentasi tidak hanya disebabkan adanya jamur tetapi mungkin juga disebabkan tumbuhnya bakteri selama pembuatan tempe.

Fermentasi 48 jam merupakan akhir fermentasi pada penelitian ini. Kadar asam fitat tempe kara biji belah dan giling sedang tidak berbeda nyata

sedangkan tempe kara biji utuh dengan biji belah dan giling berbeda nyata. Berturut-turut 3,08 mg/g; 1,44 mg/g dan 1,05 mg/g untuk tempe kara biji utuh, belah dan giling. Kadar asam fitat pada fermentasi 48 jam ini tidak berbeda nyata dengan fermentasi 36 jam untuk semua variasi pengecilan ukuran. Pada fermentasi ini diduga merupakan fase stasioner menuju ke kematian karena penurunan kadar asam fitat tidak berbeda nyata dengan fermentasi 36 jam namun kadarnya mengalami penurunan.

Sejalan dengan lamanya fermentasi, semakin lama fermentasi maka kadar asam fitat semakin turun. Untuk tempe kara benguk biji utuh pada awal fermentasi kadarnya 5,11 mg/g dan mengalami penurunan pada akhir fermentasi menjadi 3,08 mg/g. Penurunan terjadi dari 71,87 % menjadi 43,32% bila dibandingkan dengan kadar asam fitat pada bahan mentah. Penurunan tersebut berbeda nyata dengan ditunjukkan superscript yang berbeda pada kadar awal fermentasi dan akhir fermentasi. Tempe kara benguk biji belah pada awal fermentasi kadarnya 4,66 mg/g menjadi 1,44 mg/g pada akhir fermentasi. Penurunan terjadi dari 65,54% menjadi tinggal 20,25%. Tempe kara benguk biji giling pada awal fermentasi kadarnya 4,04 mg/g menjadi 1,05 mg/g pada akhir fermentasi. Kadar asam fitat semua ukuran biji kara benguk berbeda nyata pada awal fermentasi dengan akhir fermentasi Hal ini berarti, lama fermentasi berpengaruh menurunkan kadar asam fitat.

Diantara 4 waktu fermentasi, ternyata kadar asam fitat terendah terdapat pada fermentasi 36 jam, baik kara benguk utuh (3,32 mg/g), kara benguk belah (1,98 mg/g), dan kara benguk giling (1,16 mg/g). Meskipun kadar asam fitat pada fermentasi 48 jam lebih rendah, namun nilainya tidak berbeda nyata dengan fermentasi 36 jam. Sehingga bila dilihat dari aspek asam fitatnya, pada fermentasi 36 jam fermentasi dapat dihentikan karena kadarnya sudah rendah.

Berdasarkan Grafik 4.3 dapat dilihat bahwa variasi ukuran berpengaruh terhadap kadar asam fitat selama fermentasi Kara benguk dengan perlakuan digiling memiliki kadar asam fitat paling rendah diantara 2 perlakuan lainnya. Hal ini karena aktivitas ragi tempe yang digunakan (diduga *Rhizopus oligosporus*, meskipun tidak murni karena yang digunakan dalam penelitian

ini adalah ragi). *Rhizopus oligosporus* berdasarkan Sudarmadji dan Markakis, (1977); Sutardi (1988) merupakan salah satu jenis jamur yang dapat menghasilkan fitase yang dapat menghidrolisis asam fitat. Jenis jamur lain yang dapat menghasilkan fitase adalah *Aspergillus oryzae* NRRL 1988, *Rhizopus oligosporus* NRRL 3671 (Wang, *et al.*, 1980) serta *Neurospora sitophilla* ATCC 14151 (Fardiaz dan Markakis, 1981 *cit* Sutardi, Tranggono dan Hastuti, 1993). Sebenarnya dalam kacang-kacangan dan sereal terdapat enzim fitase dalam jumlah yang sangat sedikit dan dalam kondisi terinhibisi oleh substrat (asam fitat sendiri) (Widowati, 2008). Sehingga diperlukan enzim fitase secara ekstraseluler yang dapat dilakukan melalui proses fermentasi.

Kara benguk yang digiling lebih mudah ditembus oleh miselium jamur yang menghubungkan antara biji-biji tersebut. Hal ini terlihat dari tekstur tempe kara benguk yang digiling lebih kompak. Semakin mudah biji kara benguk ditembus maka akan semakin tinggi aktivitas enzim fitase untuk menghidrolisis asam fitat yang terdapat dalam endosperm biji kara benguk. Sebaliknya kara benguk utuh akan sulit ditembus bijinya oleh miselium jamur sehingga asam fitat yang terhidrolisis oleh fitase tidak sebanyak kara benguk giling. Pada penelitian pendahuluan diketahui bahwa asam fitat pada kara benguk kebanyakan pada endosperm karena penurunan kadar asam fitat secara signifikan terjadi ketika proses fermentasi dibandingkan proses pengupasan kulit yang diikuti perendaman yaitu 6,78 mg/g menjadi 5,66 mg/g. Hasil ini diperkuat dengan pendapat Despande *et al.* (1982) dalam Arinanti (2005) bahwa asam fitat pada *dry bean* utuh dan dikupas mempunyai asam fitat yang berbeda. Jumlah asam fitat *dry bean* kupas (dari berbagai varietas) meningkat 7-60% dari bentuk utuhnya. Berarti untuk produk kacang-kacangan sebagian besar asam fitat terdapat dikotiledonnya. Sedangkan pada produk sereal asam fitat terbanyak terdapat pada aleuronnya (Reddy, 2002; Hedvégi dan Lásztity, 2002 dalam Arinanti, 2005). Kadar asam fitat pada akhir fermentasi tempe kara benguk utuh paling tinggi bila dibandingkan dengan kedua perlakuan lainnya yaitu 3,08 mg/g bila dibandingkan kadar asam fitat kara mentah, asam fitat tinggal 43,22 %. Kadar tempe kara benguk biji belah pada

akhir fermentasi 1,44 mg/g bila dibandingkan kadar asam fitat kara mentah, asam fitat tinggal 20,25 %. Kadar tempe kara benguk biji giling pada akhir fermentasi 1,05 mg/g bila dibandingkan kadar asam fitat kara mentah, asam fitat tinggal 14,77 %.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sutardi, Tranggono dan Hastuti(1993), membuat tempe kara benguk utuh dengan variasi lama fermentasi 0, 12, 24, 36 dan 48 jam Kadar asam fitat dalam tempe kara benguk utuhnya 47 %. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian ini yaitu 43,32%. Hal ini diduga karena perbedaan varietas kara benguk sebagai bahan baku pembuatan tempe dan alat yang digunakan yang berpengaruh pada perbedaan hasil.

C. Kadar Protein Terlarut

Tempe merupakan salah satu makanan hasil fermentasi yang populer di Indonesia yang terbuat dari kacang-kacangan yang diinokulasikan dengan jamur *Rhizopus oligosporus* yang membentuk padatan kompak berwarna putih (Shortleft dan Aoyagi, 1979 dalam Iswani, 1999). Dibandingkan dengan bahan mentahnya yang umumnya kedelai, banyak hal yang menguntungkan pada tempe. Secara kimiawi hal ini bisa dilihat dari kadar padatan terlarut, nitrogen terlarut, asam amino bebas, nilai cerna, nilai efisiensi protein serta skor proteinnya (Anonim, 2008^c).

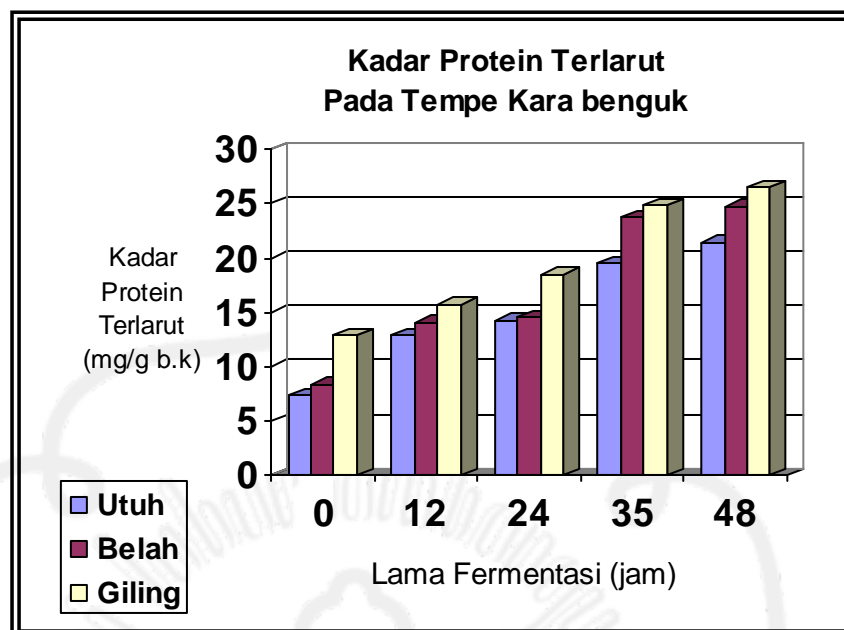
Protein merupakan komponen utama dalam tempe karena tempe merupakan salah satu sumber protein nabati. Kara benguk merupakan salah satu *leguminoceae* yang pada umumnya merupakan sumber protein nabati, sehingga pada penelitian pembuatan tempe dengan variasi pengecilan ukuran dan lama fermentasi ini dilakukan pengukuran kadar protein terlarut (kadar asam amino bebasnya). Data kadar protein terlarut pada tempe kara benguk dengan variasi lama fermentasi dan pengecilan ukuran terlihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Kadar Protein (mg/g b.k) pada Tempe Kara Benguk dengan Berbagai Perlakuan

Proses	Perlakuan		
	Utuh	Belah	Giling
Fermentasi 0 jam	7,32 ^g	8,39 ^g	12,92 ^f
Fermentasi 12 Jam	12,85 ^f	14,10 ^{e,f}	15,76 ^e
Fermentasi 24 Jam	14,27 ^{e,f}	14,59 ^{e,f}	18,48 ^d
Fermentasi 36 Jam	19,51 ^{c,d}	23,73 ^b	24,89 ^{a,b}
Fermentasi 48 Jam	21,44 ^c	24,78 ^{a,b}	26,53 ^a

*)superscript yang berbeda menunjukkan beda nyata($p < 0,05$)

Rerata kadar protein dalam setiap tahap pembuatan tempe kara benguk terlihat pada Tabel 4.3. Berdasarkan tabel 4.3, pada waktu fermentasi 0 jam kadar protein terlarut pada tempe kara benguk biji utuh (7,32 mg/g) dan belah (8,39mg/g) berbeda nyata dengan tempe kara benguk biji giling (12,92 mg/g) sedangkan kara benguk biji utuh dan belah tidak berbeda nyata. Tempe kara benguk biji giling memiliki kadar protein terlarut lebih tinggi dibandingkan dua ukuran biji yang lain. Hal ini disebabkan pengukusan yang merupakan tahap sebelum fermentasi. Proses pengukusan dapat menyebabkan peningkatan pencernaan dan kelarutan protein, sesuai dengan Anonim (2007). Semakin kecil ukuran biji kara benguk ditambah dengan proses pengukusan, semakin besar kadar protein terlarutnya.



Gambar 4.4. Kadar Protein Terlarut Selama Fermentasi Tempe Kara Benguk

Kadar protein pada fermentasi 12 jam berbeda nyata antara tempe kara benguk biji utuh dengan tempe kara benguk biji giling sedangkan dengan tempe kara benguk biji belah tidak berbeda nyata. Kadar protein pada tempe kara benguk biji belah dan giling tidak berbeda nyata. Meskipun demikian kadar protein pada tempe biji giling lebih besar (15,76 mg/g) dibandingkan dengan dua ukuran yang lain (12,85 mg/g dan 14,10 mg/g). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kapang telah melakukan metabolismenya dan menghasilkan enzim proteinase sehingga protein terpecah menjadi komponen lebih sederhana yaitu asam amino bebas (protein terlarut). Asam amino terhitung sebagai protein terlarut dengan pengujian metode lowry ini karena interaksi antara protein dan air salah satunya terjadi melalui rantai cabang (gugus R) asam-asam amino (interaksi melalui ionisasi, polar dan non polar) selain melalui ikatan peptida dalam rantai polipeptida (interaksi melalui dipole-dipole) (Marseno, 1998).

Kadar protein pada fermentasi 24 jam berbeda nyata antara tempe kara benguk biji utuh dan belah dengan kara benguk biji giling sedangkan antara tempe kara benguk biji utuh dan belah tidak berbeda nyata. Berturut-turut

kadar protein biji utuh, belah dan giling yaitu 14,27 mg/g; 14,59 mg/g dan 18,48 mg/g. Protein tempe kara bengkuk biji belah dan giling lebih mudah didegradasi oleh kapang karena ukurannya yang lebih kecil dibandingkan dengan tempe kara bengkuk biji utuh sehingga protein terlarutnya lebih besar pada biji belah dan giling. Kadar protein pada fermentasi 24 jam ini mengalami kenaikan yang berbeda nyata dari fermentasi sebelumnya untuk tempe kara bengkuk biji giling (dapat dilihat pada tabel 4.3) namun tidak untuk 2 ukuran biji yang lain. Hal ini diduga aktivitas kapang dalam mengurai protein lebih besar pada ukuran biji yang lebih kecil.

Fermentasi 36 jam dan 48 jam pada tempe kara bengkuk memberikan hasil kadar protein yang berbeda nyata antara kara bengkuk biji belah dan giling dengan kara bengkuk biji utuh. Berdasarkan gambar 4.4 dan tabel 4.3 yang menunjukkan kadar protein selama fermentasi, kadar protein juga mengalami peningkatan ketika fermentasi 36 jam dan 48 jam untuk semua variasi ukuran biji kara bengkuk.

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar protein yang terukur. Selama proses fermentasi terjadi degradasi komponen-komponen penyusun biji kara, termasuk protein menjadi komponen yang lebih sederhana. Semakin lama fermentasi maka jumlah protein yang terdegradasi menjadi asam amino semakin besar. Akan tetapi bila fermentasi ditambah waktunya maka akan dihasilkan amoniak yang memiliki flavour yang berbeda dan sampai akhirnya akan dihasilkan tempe kara bengkuk busuk. Asam amino lebih mudah larut dalam air dan nilai kecernaannya lebih tinggi. Perombakan menjadi asam amino berpengaruh terhadap flavour khas tempe yang dihasilkan. Metabolisme dalam tubuh manusia memecah protein menjadi komponen yang lebih sederhana yaitu asam amino karena asam amino ini yang akan digunakan oleh tubuh untuk metabolisme.

Asam amino yang berasal dari kara bengkuk termasuk asam amino eksogen karena disintesis diluar tubuh manusia dan disebut juga asam amino esensial artinya didapatkan dari makanan sehari-hari (Winarno, 2002).

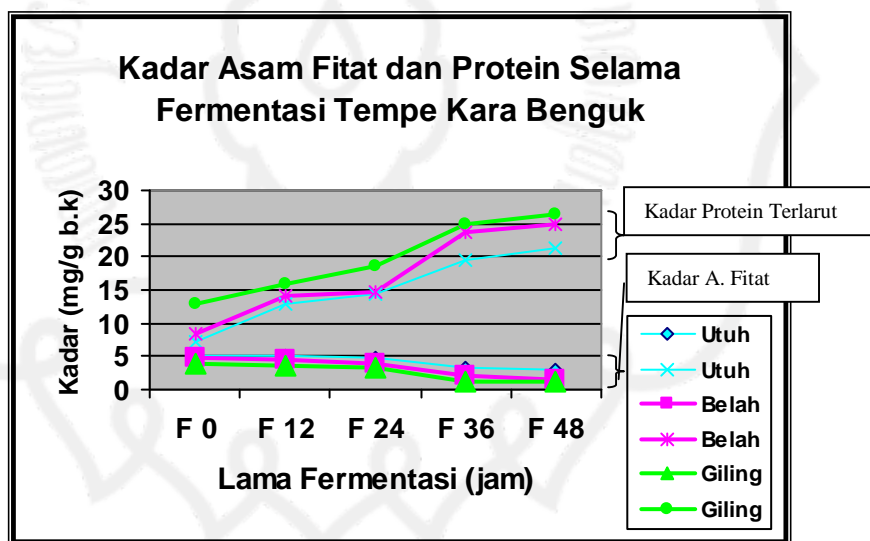
Menurut Wirahadikusumah (1989), asam amino esensial terdapat sepuluh jenis dan yang banyak terdapat pada kacang-kacangan adalah asam amino lisin dan asam amino pembatasnya (asam amino dalam jumlah terbatas) adalah metionin (Muchtadi, 1992). Berdasarkan Salunkhe dan Kadam (1990), terdapat tujuh belas jenis asam amino dalam kara benguk, sembilan diantaranya asam amino esensial termasuk lisin menempati urutan ketiga terbesar.

Asam amino terhitung sebagai protein terlarut dengan metode pengujian lowry disebabkan interaksi antara protein dan air juga dapat berdasarkan sifat asam amino yang dapat larut dalam air, tak larut dalam alkohol atau eter, dapat membentuk garam kompleks dengan logam berat (misalnya asam amino dengan Cu^{2+} membentuk senyawa kompleks berwarna biru tua) dan dapat membentuk senyawa berwarna biru dengan ninhidrin. (Winarno, 2002). Sifat mudah larut dalam air membuktikan bahwa asam amino memiliki sifat mengionik (ionic). Asam amino maupun protein dapat bereaksi dengan senyawa tertentu yang memberikan warna spesifik. Reaksi pewarnaan ini dapat digunakan untuk mendeteksi kadar asam amino atau protein secara kualitatif maupun kuantitatif. Sifat reaktif dari rantai samping (gugus R) asam amino terhadap senyawa tertentu merupakan salah satu reaksi yang akan memberikan warna spesifik. Misalnya gugus penol pada tirosin dalam suasana alkali akan memberikan warna biru dengan phospo-molybdotungstate (Folin-Ciocalteu)(Marseno, 1998)

Variasi pengecilan ukuran juga berpengaruh terhadap kadar protein yang telarut. Hal ini terlihat dalam setiap fermentasi. Setiap 12 jam pengujian kadar protein, terlihat pada perlakuan kara benguk giling memiliki kadar protein yang lebih tinggi bila dibandingkan dua perlakuan lainnya. Pada awal fermentasi (Fermentasi 0 Jam) sampai dengan akhir fermentasi kadar protein terendah pada tempe kara benguk utuh, kara benguk belah lebih tinggi dari kara benguk utuh dan kara benguk giling memiliki kadar protein yang paling tinggi.

D. Kadar Asam Fitat dan Protein Terlarut

Kadar protein dalam biji kara benguk mempunyai korelasi dengan kadar asam fitat. Dalam biji kara benguk mentah sejumlah protein berikatan dengan asam fitat yang berada dalam biji kara benguk yang menyebabkan kelarutannya rendah setelah melalui tahap proses pembuatan tempe. Asam fitat efektif direduksi dengan proses fermentasi. Hal tersebut dibuktikan dari data diatas. Korelasi yang berkebalikan dengan kadar asam fitat yang rendah, maka kadar protein terlarut mengalami peningkatan karena kadar asam fitat yang berkurang berarti protein yang berikatan dengan asam fitat semakin berkurang yang mengakibatkan kadar protein semakin naik selama fermentasi berlangsung. Korelasi kadar asam fitat dan kadar protein pada tempe kara benguk dengan variasi lama fermentasi dan pengecilan ukuran dapat dilihat pada gambar 4.5



Gambar 4.5 Hubungan Asam Fitat dan Kadar Protein Selama Fermentasi

Berdasarkan Gambar 4.5 Terlihat bahwa kadar asam fitat ketiga jenis ukuran biji semakin mengalami penurunan dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Terlihat pula tempe kara benguk biji utuh memiliki kadar asam fitat paling tinggi diantara kara benguk belah dan giling. Akan tetapi pada kadar protein terlarut berkebalikan dengan grafik kadar asam fitat. Semakin lama fermentasi maka kadar protein terlarut semakin besar untuk semua jenis

ukuran biji kara benguk. Terlihat pula tempe kara benguk biji utuh memiliki kadar protein terlarut paling kecil diantara kara benguk belah dan giling. Hal itu disebabkan miselium kapang lebih mudah menembus biji yang berukuran lebih kecil. Semakin mudah biji ditembus oleh miselium maka semakin mudah dan banyak enzim fitase yang dihasilkan oleh ragi dalam menghidrolisis asam fitat menjadi mioinositol dan ortoreduktase dan semakin banyak pula protein yang diuraikan oleh kapang menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu asam amino bebas.

Masyarakat dalam pengkonsumsian tempe kara benguk membutuhkan nutrisi termasuk protein dalam jumlah yang optimal dan seminimal mungkin kandungan asam fitat. Berdasarkan penelitian (tabel 4.2 dan 4.3), tempe kara benguk dengan fermentasi 36 jam yang memiliki kandungan protein terlarut dalam jumlah paling besar dan kandungan asam fitat dengan jumlah paling rendah diantara lima variasi waktu fermentasi dan tempe kara benguk biji giling fermentasi 36 jam memiliki kadar protein terlarut tertinggi dan kadar asam fitat terendah diantara sampel yang ada. Secara kenampakan, tempe kara benguk fermentasi 36 jam dan 48 jam sudah kompak dan tidak berbeda nyata.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa :

1. Variasi lama fermentasi dan pengecilan ukuran berpengaruh pada kadar asam fitat. Semakin lama waktu fermentasi maka kadar asam fitat pada tempe kara bengkuk semakin rendah. Semakin kecil ukuran kara bengkuk yang akan diolah menjadi tempe, maka kadar asam fitat semakin rendah.
2. Variasi lama fermentasi dan pengecilan ukuran berpengaruh pada kadar protein terlarut. Semakin lama waktu fermentasi maka kadar protein terlarut semakin meningkat. Semakin kecil ukuran kara bengkuk yang akan diolah menjadi tempe, maka kadar protein terlarutnya semakin rendah
3. Tempe kara bengkuk biji giling fermentasi 36 jam mempunyai kadar asam fitat terendah (1,16 mg/g) dan kadar protein terlarut tertinggi (24,89 mg/g).
4. Secara kenampakan, tempe kara bengkuk fermentasi 36 jam dan 48 jam sudah kompak dan tidak berbeda nyata
5. Tempe kara bengkuk pada fermentasi 36 jam mempunyai kadar asam fitat terendah dan kadar protein tertinggi di antara kelima variasi waktu karena dengan fermentasi 48 jam tidak berbeda nyata sehingga merupakan waktu optimal fermentasi

B. Saran

1. Perlunya penelitian lebih lanjut terhadap jenis asam amino pada tempe kara bengkuk dengan variasi pengecilan ukuran dan lama fermentasi
2. Perlunya penelitian lebih lanjut terhadap fase pertumbuhan kapang pada pembuatan tempe
3. Perlunya penelitian lebih lanjut terhadap titik kritis waktu fermentasi diantara 36 dan 48 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1997. *Progress Report on The GMUIDRC Velvet Bean Project*. Faculty of Agriculture Technology, G. M. University. Yogyakarta.
- Anonim. 2007 *Perubahan Kandungan Senyawa Fitat Selama Pengolahan*. <http://www.geocities.com/meteorikita/egdp-fitat.rtf> di down load tanggal 25 Mei 2007 Jam 20.23 WIB
- Anonim. 2008^a. *Impor Kedelai*. <http://www.antara.co.id/arc/2008/1/15/kelangkaan-kedelai-berpotensi-dorong-inflasi-januari/>. Diakses 12 Januari 2008 Jam 21.00 WIB
- Anonim. 2008^b. *Produsen Tahu Tempe Protes Kenaikan Harga Kedelai*. <http://www.tempointeraktif.com/hg/ekbis/2008/01/12/brk,20080112-115302.id.html>. Diakses 12 Januari 2008 Jam 21.07 WIB
- Anonim. 2008^c. *Tempe*. <http://ms.wikipedia.org/wiki/Tempe> Diakses 3 Januari 2008 Jam 20.00 WIB
- Anonim, 2008^d. *Fermentasi*.
- Apriadi, Harry. 2008. *Kedele dan Tempe Masih Dianggap Sepele*. www.docudesk.com. Diakses 29 Juli 2008 Jam 20.45 WIB
- Apriyantono, Anton, *et al.*. 1989. *Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan*. IPB Press. Bogor
- Arinanti, Margaretha, 2005. *Aktivitas Antioksidan Komponen Fenolik dan Asam Fitat pada Berbagai Jenis Kacang*. Tesis Sekolah Pasca Sarjana Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Brown, E. C, M. L. Heit and D E Ryan, 1961. *Phytic Acid : An Analitical Invertigation*. *Can. J. Chem* 39 ; 1290 – 1297.
- Buckle, K. A, *et al.*. 1985. *Ilmu Pangan*. UI Press. Jakarta.
- Davies, N.T and R. Nightingale, 1975. *The Effect of Pytate on Intestinal Absortion and Secretion of Zinc and Manganese in rats*. *Br. J. Nuts*,34 : 243 – 245.
- Earle, R. L. 1969. *Satuan Operasi dalam Pengolahan Pangan*. Sastra Hudaya. Bogor
- Erdman J.W. and K.E. Weingartner, 1979. *Nutritional Implications*. *J. Am Oil Chem Soc*. 56:736 – 741.
- Fitriana. 2001. *Kajian Senyawa Asam Fitat, Antitripsin dan Antioksidan dalam Biji Kacang Gude(Cajanus Cajan L.), Biji Kapri (Pisum Sativum L), dan Biji Koro Hitam (Lablub Purpureus L)*. Skripsi Jurusan TPHP FTP UGM. Yogyakarta.
- Fujimaki. M. 1968. *Fundamental Investigation of Proteolytic Enzym Application to Soybean Protein in Relation Flavor*. Tokyo University. Tokyo. Hal 343.

- Gandjar, I., P. S Slamet dan Mulyono. 1973. *Kadar Zat Gizi dalam Tempe Benguk*. Balai Penelitian Gizi Untuk Semboja. Depkes RI. Bogor.
- Graff, E. 1983. *Application of Phytic Acid*. J. Am. Oil Soc. 60 : 1861 -1867.
- Handayani.1996. *Pengembangan Budidaya dan Pengolahan Hasil Kacang-kacangan sebagai Usaha Produktif Wanita di Lahan Kering Daerah Tangkapan Hujan Waduk Kedung Ombo*. Artikel hasil Penelitian. LPPM UNS. Surakarta.
- Hesseltine, *et al.*. 1967
- Iswani, Lina. 1996. *Perbedaa Kebutuhan Energi Panas untuk Pengukusan Kedelai pada Berbagai Perlakuan Pencucian dalam Pembuatan Tempe*. Skripsi Jur FTP UGM. Yogyakarta.
- Johnson,L.F and M. E Tate, 1969. *Structure of Phytic Acid*. Can. J. Chem.47:63 – 73.
- Kanetro, Bayu dan Setyo Hastuti. 2006. *Ragam Produk Olahan Kacng-Kacangan*. Universitas Wangsa Manggala. Yogyakarta—sumber utama
- Kasmidjo.R.B. 1990. *Tempe : Mikrobiologi dan Biokimia Pengolahan Serta Pemanfaatannya*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. UGM. Yogyakarta.
- Khokhar. 1994
- Lott, J.N.A.,1986. *The Fine Srtuktur of Phytate Rich Particles in Plants*. Graf,Ecd. *Phytic Acid: Chemistry and Aplication*. Pilatus Press. Minneapolis.
- Maddaidah, V.T.,A.A. Kurnick and B.L. Roid, 1984. *Phytic Acid Studies*. Proc. Soc.Exp.Biol. Med., 115 : 391 – 393
- Maga, J.A.,1982. *Phytato : Its Chemistry Occurance, Food Interaction, Nutritional Significance add Methods of Analysis*. J.Agric. Food Chem. 30 : 1 -9
- Mahendadratta, Meta. 2002. *Pangan Aman dan Sehat Prasyarat Kebutuhan Mutlak Sehari-hari*. Lembaga Penerbitan UNHAS. Makasar.
- Muchtadi, Tien R and Sugiyono. 1992. *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*. Dirjen Pendidikan dan Kebudayaan PAU Pangan dan Gizi IPB. Bogor.
- Nayini, N and P Markakis, 1984. *The Pytase Of Yeast Lebensm*. Wiss. U. Technol. 17 : 24 – 26.
- Noor, Zuheid. 1992. *Senyawa Anti Gizi*. Pusat AntarUniversitas UGM. Yogyakarta.
- Oberleas, D.1973. *Phytase In : Toxicant occuring Naturally in Food*. National Academic of science, Washington D.C.
- Pangastuti, Hesting Pupus dan Sitoresmi Triwibowo. 1996. *Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kandungan Asam Fitat Dalam Tempe Kedelai*. Cermin Kedokteran No 108. Jakarta
- Pitojo, Setejo. 2003. *Benih Kedelai*. Kanisius. Yogyakarta
- Purwadaksi (Peny). 2007. *Membuat Tempe dan Tahu*. 2007. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Reddy.N.R.,S.K. Sathy and D. K. Salunki. !982. *Phytates in Legumes and Cereals*. Adv. Food Res. 28 : 1 -92.

- Rosningsih, Sonita. 2000. *Pengaruh lama Fermentasi dengan EM-4 terhadap Kandungan Ekskreta Layer*. Buletin Pertanian dan Peternakan Vol 1 No 2. 2000: 62-69.
- Salunkhe, D. K and S.S Kadam (edit). 1990. *Hand Book World Food Legumes Nutritional Chemistry Processing Technology and Utilization Vol III*. CRC Press. Florida
- Sapuan dan Soetrisno. 1996.
- Shurtleff, W. and Aoyagi, A. 1979. *The Book Of Tempe*. Harper Ang Row Publisher. New York.
- Steinkraus. 1983.
- Suprianti, Siti Atikoh. 1997. *Perlakuan Perendaman, Pengukusan, Perebusan Serta Kombinasinya Terhadap Kandungan Asam Fitat dan Antikimotripsin Pada Kacang Tolo dan Gude*. Skripsi S1. UGM. Yogyakarta
- Soedarmo. 1973
- Sudarmadji, 1975. *Certain Chemical and Nutritional Aspect of Soybean tempeh*. Michigan State University.
- Sudarmadji dan Markakis. 1977.
- Supriyadi. 1998. *Komposisi Kimia Tempe yang Dibuat dengan proses Hemat Air*. Skripsi Jurusan TPHP FTP UGM. Yogyakarta.
- Sutardi, 1988. *Phytase Activity During Tempe Production. Thesis Submitted for The degree of Doctor Of Phylosophy*. Dept of Food Science and Technology. The university Of New South Wales.
- Sutardi, Tranggono dan Hartuti. 1993. *Aktivitas Fitase pada Tahap-tahap pembuatan Tempe Kara Benguk, Kara Putih dan Gude Menggunakan Inokulum Rhizopus Oligosporus NRRL 2710*. Agritech Vol 13 (3):1-5
- Suyitno, dkk. 1989. *Rekayasa Pangan*. PAU Pangan UGM. Yogyakarta
- Wibowo, Djoko, et al..1990. *Teknologi Fermentasi*.PAU Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Widowati, Sri. 2008. *Pemanfaatan Hasil Samping Penggilingan Padi dalam Menunjang Sistem Agroindustri di Pedesaan*. Buletin Agrobio 4(1) Hal 33-38. Balai Penelitian dan Bioteknologi Tanaman Bogor. Bogor.
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wirahadikusumah, Muhamad. 1989. *Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. ITB Press. Bandung.
- Yanwar dan Saparsih. 1978. *Selected Abstract on Traditional Fermented Food*. National Scientific Documentation Center Indonesia Institute of Science. Jakarta.

LAMPIRAN 1

1. Analisis kadar air

Sebelumnya, cawan kosong dan tutupnya dikeringkan dalam oven selama 1 jam. Setelah waktu tercapai, cawan didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Sampel ditambahkan sebanyak 1 g kedalam cawan. Cawan ditutup dan dioven selama 24 jam. Setelah waktu tercapai, cawan didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang.

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat sampel awal (g)} - \text{berat sampel setelah kering (g)}}{\text{Berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

2. Analisis asam fitat

Bubuk Kacang berukuran 80 mesh diambil 1 gr dan diekstrak dengan HNO_3 0,5 M 50 ml. Suspensi diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 2 jam pada suhu kamar. Setelah waktu tercapai, ekstrak disaring dan filtrat dapat digunakan untuk analisis asam fitat. Diambil 0,5 ml larutan filtrat dan ditambah 0,9 ml HNO_3 0,5 N dan FeCl_3 1ml (mengandung ion besi 50 $\mu\text{g/ml}$), tabung ditutup dengan aluminium foil dan direndam dalam air mendidih selama 20 menit. Kemudian tabung didinginkan dengan air mengalir. Setelah tabung dingin, larutan ditambah 5 ml amil alkohol dan 1 ml amonium tiosianat. Larutan kemudian disentrifuse 1000 rpm selama 10 menit, kemudian ditera pada λ 465 nm.

Sebagai standar digunakan Na-Fitat. Dibuat larutan stok 0,04 g/100 ml. Dari larutan stok kemudian dibuat seri pengenceran 0,03 g/100 ml; 0,02 g/100 ml; 0,01 g/100 ml; dan 0 g/100 ml

3. Analisis kadar protein

Sampel sebanyak 10 g yang berukuran 50 mesh diekstrak dengan 250 ml aquadest. Suspensi diaduk agar homogen, kemudian ekstrak disaring dan filtrat dapat digunakan untuk analisis protein. Filtrat diambil 25 ml kemudian diencerkan menjadi 100 ml. Kemudian dari larutan tersebut diambil

1ml direaksikan dengan 8 ml lowry B. Didiamkan selama 10 menit. Setelah waktu tercapai, rekasikan lagi dengan 1 ml lowry A. Kemudian didiamkan 20 menit. Larutan kemudian ditera pada λ 600 nm.

Sebagai standar digunakan BSA (Bovine Serum Albumin). Dibuat larutan stok 0,03g/100 ml. Dari larutan stok kemudian dibuat seri pengenceran 0,024 g/100ml; 0,018 g/100 ml; 0,012 g/100 ml; dan 0,006 g/100 ml.



LAMPIRAN 2

Data Analisis Kadar Air

Tabel Persentase Kadar Air Pada Sampel

Sampel	Ulangan % Kadar air			Rerata
	1	2	3	
Benguk Utuh Fermentasi 0Jam	25.09	29.86	0	27.48
Benguk Belah Fermentasi 0Jam	8.24	8.45	8.55	8.41
Benguk Giling Fermentasi 0 Jam	7.45	7.64	7.23	7.44
Benguk Utuh Fermentasi 12 Jam	21.25	21.02	20.73	21.00
Benguk Belah Fermentasi 12 Jam	16.3	15.68	15.62	15.87
Benguk Giling Fermentasi 12 Jam	10.64	11.82	0	11.23
Benguk Utuh Fermentasi 24 Jam	8.56	8.24	9.52	8.77
Benguk Belah Fermentasi 24 Jam	11.11	10.62	11.17	10.97
Benguk Giling Fermentasi 24 Jam	9.50	9.93	10.75	10.06
Benguk Utuh Fermentasi 36 Jam	7.80	6.32	7.48	7.2
Benguk Belah Fermentasi 36 Jam	6.76	7.18	6.87	6.94
Benguk Giling Fermentasi 36 Jam	6.98	7.46	8.44	7.63
Benguk Utuh Fermentasi 48 Jam	8.48	8.15	7.89	8.17
Benguk Belah Fermentasi 48 Jam	7.78	7.54	0	7.66
Benguk Giling Fermentasi 48Jam	7.80	9.96	0	8.88

Sumber : Hasil Percobaan

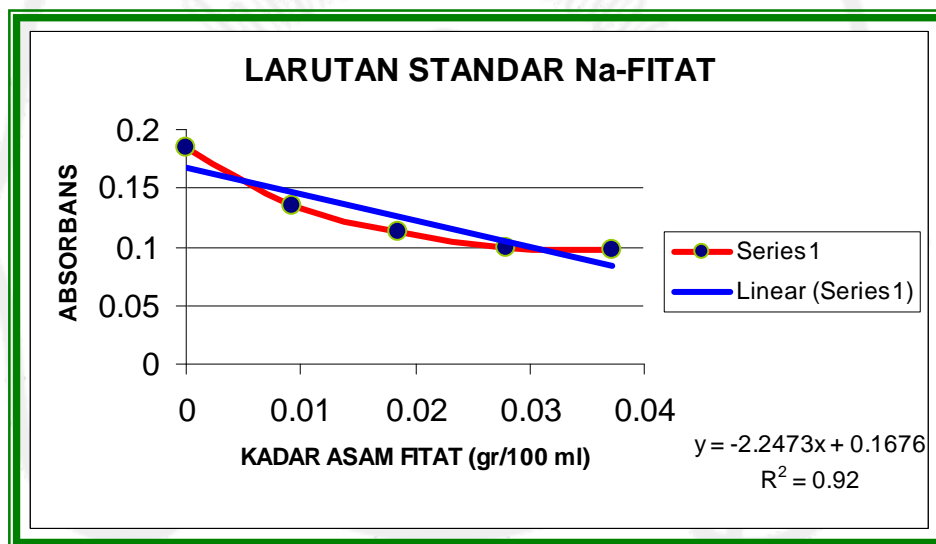
LAMPIRAN 3

Data larutan standar Na-Fitat

Tabel Larutan Standar Na-Fitat

No	mM	Kadar (X) (gr/100 ml)	Abs (Y)
1	0	0	0.184
2	0.1	0.0093	0.135
3	0.2	0.0186	0.113
4	0.3	0.0279	0.1
5	0.4	0.0372	0.097

Sumber : Hasil Percobaan



Gambar 1. Kurva Standar Na-Fitrat

LAMPIRAN 4

Data Absorbansi Analisis Asam Fitat

No	Sampel	g/100 ml	Asam Fitat mg/0.5 ml	mg/g (wb)	Kadar Air (%)	Berat Kering bhn	mg/g (db)	Rata-rata mg/g (db)
1	P1U	0.0730	0.365106	3.6511	27.48	0.7252	5.034561	5.1113
		0.0749	0.374509	3.7451			5.164213	
		0.0745	0.372399	3.7240			5.135124	
2	P1B	0.0764	0.381794	3.8179	8.41	0.9159	4.168512	4.665284
		0.0859	0.429271	4.2927			4.686876	
		0.0942	0.470815	4.7082			5.140463	
3	P1G	0.0724	0.362230	3.6223	7.44	0.9256	3.913459	4.041101
		0.0788	0.394150	3.9415			4.258314	
		0.0732	0.365754	3.6575			3.951529	
4	P2U	0.0804	0.402100	4.0210	21	0.7900	5.089873	5.056624
		0.0804	0.402120	4.0212			5.090126	
		0.0788	0.394200	3.9420			4.989873	
5	P2B	0.0728	0.364140	3.6414	15.87	0.8413	4.328301	4.568897
		0.0694	0.346750	3.4675			4.121598	
		0.0884	0.442254	4.4225			5.256791	
6	P2G	0.0607	0.303474	3.0347			3.418654	3.737077

		0.0691	0.345437	3.4544			3.891372	
		0.0693	0.346310	3.4631	11.23	0.8877	3.901205	
7	P3U	0.0878	0.439052	4.3905			4.812584	
		0.0897	0.448528	4.4853			4.916452	
		0.0923	0.461481	4.6148	8.77	0.9123	5.058435	4.929157
8	P3B	0.0710	0.354986	3.5499			3.987259	
		0.0715	0.357446	3.5745			4.014893	
		0.0694	0.346997	3.4700	10.97	0.8903	3.897526	3.966559
9	P3G	0.0591	0.295300	2.9530			3.2833	
		0.0671	0.335600	3.3560			3.731376	
		0.0535	0.267357	2.6736	10.06	0.8994	2.972619	3.329098
10	P4U	0.0685	0.342606	3.4261			3.691875	
		0.0724	0.361760	3.6176			3.898276	
		0.0438	0.219103	2.1910	7.2	0.9280	2.361028	3.31706
11	P4B	0.0388	0.194040	1.9404			2.085103	
		0.0370	0.184969	1.8497			1.987629	
		0.0346	0.172760	1.7276	6.94	0.9306	1.856437	1.976389
12	P4G	0.0301	0.150720	1.5072			1.631522	
		0.0148	0.073777	0.7378			0.798623	
		0.0194	0.097219	0.9722	7.62	0.9238	1.052379	1.160841
13	P5U	0.0640	0.319940	3.1994	8.17	0.9183	3.484047	3.085484
		0.0527	0.263730	2.6373			2.871937	

		0.0533	0.266350	2.6635			2.900468	
14	P5B	0.0228	0.114060	1.1406			1.235218	
		0.0333	0.166420	1.6642			1.802253	
		0.0237	0.118520	1.1852	7.66	0.9234	1.283517	1.440329
15	P5G	0.0164	0.081812	0.8181			0.897853	
		0.0204	0.101805	1.0181			1.117265	
		0.0209	0.104658	1.0466	8.88	0.9112	1.148573	1.054563

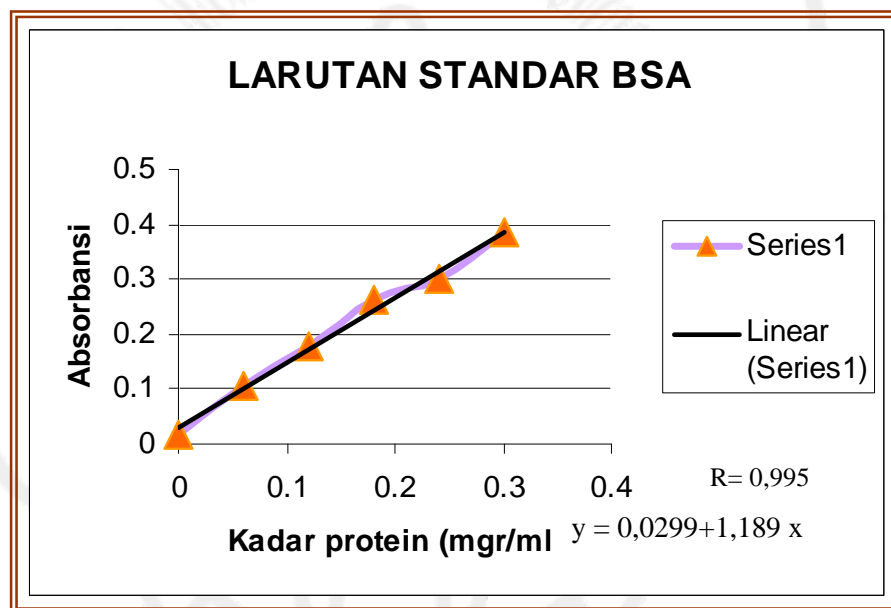
LAMPIRAN 5

Data larutan standar BSA

Tabel Larutan Standar BSA

No	ml BSA	[mg/ml] (X)	A°(Y)
1	0	0	0.017
2	0,2	0.06	0.108
3	0,4	0.12	0.178
4	0,6	0.18	0.262
5	0,8	0.24	0.301
6	1	0.3	0.384

Sumber : Hasil Percobaan



Gambar 2. Kurva Larutan Standar BSA

LAMPIRAN 6

Data Absorbansi Analisis Protein Terlarut

Sampel	mg/10 g	mg/g (wb)	Kadar Air (%)	Berat Kering bhn	mg/g (db)	Rata-rata
P1U	50.2000	5.02000	27.48	0.7252	6.922	7.321
	53.0400	5.30400			7.314	
	56.0400	5.60400			7.728	
P1B	83.3100	8.33100	8.41	0.9159	9.096	8.392
	88.3500	8.83500			9.646	
	58.9300	5.89300			6.434	
P1G	118.4189	11.84189	7.44	0.9256	12.794	12.920
	112.2773	11.22773			12.130	
	128.0638	12.80638			13.836	
P2U	97.61777	9.761777	21,00	0.7900	12.357	12.848
	101.2548	10.12548			12.817	
	105.6277	10.56277			13.370	
P2B	112.5440	11.25440	15.87	0.8413	13.377	14.101
	127.7500	12.77500			15.185	
	115.5906	11.55906			13.740	
P2G	160.1808	16.01808	11.23	0.8877	18.044	18.485
	171.0790	17.10790			19.272	
	161.0184	16.10184			18.139	
P3U	126.0228	12.60228	8.77	0.9123	13.814	14.268
	139.2795	13.92795			15.267	
	125.1948	12.51948			13.723	
P3B	124.9033	12.49033	10.97	0.8903	14.029	14.590
	124.9033	12.49033			14.029	
	139.8803	13.98803			15.712	
P3G	139.8283	13.98283	10.06	0.8994	15.547	15.759
	143.6535	14.36535			15.972	
	0	0			0	
P4U	184.2816	18.42816	7.20	0.9280	19.858	19.511
	173.4178	17.34178			18.687	
	185.4819	18.54819			19.987	
P4B	232.0959	23.20959	6.94	0.9306	24.940	23.728
	206.7105	20.67105			22.212	
	223.6342	22.36342			24.031	
P4G	230.2134	23.02134	7.62	0.9238	24.920	24.890
	234.4043	23.44043			25.374	
	225.1962	22.51962			24.377	
P5U	182.3871	18.23871	8.17	0.9183	19.861	21.435
	194.0225	19.40225			21.128	
	214.1109	21.41109			23.316	
P5B	230.8500	23.08500	7.66	0.9234	25.000	24.775
	226.6951	22.66951			24.550	
	0	0			0	

P5G	234.4730	23.44730			25.732	
	265.3325	26.53325	8.88	0.9112	29.119	26.527
	225.3441	22.53441			24.730	

