

KORELASI KADAR ASAM FITAT DAN PROTEIN TERLARUT TEPUNGTEMPE KEDELAI LOKAL KUNING (*Glycine max*) DAN HITAM (*Glycine soja*) SELAMA FERMENTASI

Arum Widyastuti Perdani¹, Zaki Utama²

¹Fakultas Teknik, Universitas Negeri Yogyakarta; ²Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada
E-mail: arumwperdani@uny.ac.id

ABSTRAK

Tempe merupakan sumber protein nabati yang tinggi dan dapat diolah menjadi tepung tempe untuk meningkatkan kualitasnya. Namun, kedelai sebagai bahan baku tempe memiliki anti-gizi berupa asam fitat. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kandungan asam fitat dan protein terlarut pada tepung tempe kedelai kuning (KK) Anjasmoro, KK Grobogan, KK impor dan kedelai hitam. Metode pembuatan tepung tempe diawali dengan pembuatan tempe secara basah yang dianalisis kadar asam fitat dan protein terlarutnya selama 0, 24, 48 dan 72 jam fermentasi. Pada fermentasi ke 48 jam kandungan asam fitat dari terendah hingga tertinggi yaitu KK impor $0,23 \pm 0,01\%$; KK Grobogan $0,33 \pm 0,01\%$; kedelai hitam $0,44 \pm 0,01\%$ dan KK Anjasmoro $0,48 \pm 0,01\%$. Sementara kadar protein terlarut tempe dari terendah hingga tertinggi pada fermentasi ke 48 jam yaitu kedelai kuning impor $4,07 \pm 0,04\%$; kedelai kuning Anjasmoro $4,26 \pm 0,06\%$; kedelai kuning Grobogan $4,51 \pm 0,05\%$ dan kedelai hitam $5,16 \pm 0,08\%$. Uji korelasi *Pearson 2-tailed* ($p < 0,01$) menunjukkan korelasi berbanding terbalik, yaitu selama fermentasi kadar asam fitat turun sedangkan protein terlarut naik dengan nilai korelasi KK Grobogan $-0,970$; KK impor $-0,972$; KK Anjasmoro $-0,987$; dan kedelai hitam $-0,996$. Hasil dari penelitian ini dapat digunakan untuk pengembangan tempe di Indonesia terkait kadar asam fitat dan protein terlarut.

Kata kunci: kedelai kuning, kedelai hitam, tepung tempe, asam fitat, protein terlarut

ABSTRACT

Tempeh contained high plant protein sources which can process into flour to improve its quality. In the other hand, soybeans as a raw material in tempeh had an anti-nutrient content such as phytic acid that bound protein and decreased its availability. The aim of this study was determined the content of phytic acid and soluble protein in tempeh flour from Anjasmoro yellow soybean, Grobogan yellow soybean, imported yellow soybean and black soybean. The methods to produce tempeh flour was done by wet process in tempeh making, which analyzed the content of soluble protein and phytic acid for 0, 24, 48 and 72 hours of fermentation. At 48 hours of fermentation, the phytic acid contents from the lowest to the highest was imported yellow soybean $0.23 \pm 0.01\%$; Grobogan yellow soybean $0.33 \pm 0.01\%$; black soybean $0.44 \pm 0.01\%$ and Anjasmoro yellow soybean $0.48 \pm 0.01\%$. Meanwhile, the soluble protein content of tempe from the lowest to the highest at 48 hours of fermentation were imported yellow soybean $4.07 \pm 0.04\%$; Anjasmoro yellow soybeans $4.26 \pm 0.06\%$; Grobogan yellow soybean $4.51 \pm 0.05\%$ and black soybean $5.16 \pm 0.08\%$. Pearson 2-tailed correlation test ($p < 0.01$) showed inversely proportional correlation, namely during fermentation the phytic acid contents decreased while the dissolved protein increased with the correlation value of Grobogan -0.970 ; Imported -0.972 ; Anjasmoro -0.987 ; and black soybeans -0.996 . The results of this study can be used for the development of tempeh in Indonesia regarding contents of phytic acid and soluble protein.

Keywords: yellow soybean, black soybean, tempeh flour, phytic acid

PENDAHULUAN

Kedelai merupakan sumber protein nabati yang tinggi. Kedelai banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku tempe. Kedelai yang diolah menjadi tempe diketahui memiliki asam amino esensial terlengkap dan mendekati protein hewani jika dibandingkan dengan jenis protein nabati lainnya [1]. Akan tetapi kedelai juga mengandung senyawa antigizi berupa asam fitat yang dapat menghambat availibilitas protein serta mineral di dalam tubuh. Hal tersebut dikarenakan asam fitat mampu membentuk kompleks dengan protein dan mineral menjadi protein tak larut sehingga daya cernanya turun [2]. Bahkan, protein dalam kedelai mentah berikatan dengan asam fitat [3].

Kedelai impor GMO (*Genetically Modified Organism*) banyak digunakan sebagai bahan baku pembuatan tempe di Indonesia. Namun, Kedelai impor GMO menimbulkan pro dan kontra di kalangan masyarakat dunia karena berbagai alasan tentang keamanannya terutama mengenai mutasi transgenik. Oleh karena itu, dalam jangka panjang kedelai GMO dikhawatirkan dapat membahayakan kesehatan. Terlebih lagi pada beberapa tahun terakhir harga kedelai semakin melonjak dan ketersediaan kedelai impor tidak kontinyu [4]. Upaya yang dapat dilakukan untuk mengatasi ketergantungan pada kedelai impor yaitu dengan cara menggunakan kedelai lokal yang non GMO. Akhir-akhir ini banyak varietas unggul kedelai lokal seperti Grobogan, Argomulyo, Bromo, Panderman, Burangrang dan Anjasmoro [5]. Selain kedelai kuning, Indonesia juga memiliki kedelai hitam yang kualitasnya cukup baik di dunia. Bila dibandingkan antara keduanya, kedelai hitam memiliki keunggulan, karena kandungan asam amino glutamatnya lebih tinggi dari kedelai kuning [6].

Tempe merupakan makanan khas Indonesia yang terbuat dari kedelai rebus dan difermentasi dengan jamur *Rhizopus oligosporus* [7]. Proses fermentasi tempe mampu meningkatkan kelarutan protein dan

mereduksi senyawa antigizi seperti asam fitat [8]. Hal tersebut dapat dijelaskan karena kapang yang terdapat pada tempe mampu memproduksi enzim protease untuk memecah protein serta *Rhizopus sp.* pada tempe dapat menghasilkan enzim fitase yang mendegradasi asam fitat yang terdapat pada kedelai [9], [10]. Tempe dapat diolah menjadi tepung tempe untuk meningkatkan kualitasnya. Proses fermentasi kacang-kacangan menjadi tepung tempe mampu meningkatkan sifat fisikokimia, nutrisi dan antioksidannya [11].

Dari paparan di atas dapat dijelaskan bahwa perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan asam fitat dan protein, khususnya protein terlarut yang berhubungan dengan kelarutan dan interaksinya dengan asam fitat selama fermentasi tempe dari berbagai jenis kedelai lokal. Hal tersebut dikarenakan Indonesia memiliki berbagai varietas kedelai lokal. Variasi jenis kedelai yang digunakan antara lain kedelai kuning impor, kedelai kuning Anjasmoro, kedelai kuning Grobogan dan kedelai hitam. Penelitian ini dilakukan karena penelitian mengenai tepung tempe masih sangat terbatas. Terlebih lagi belum ada penelitian sebelumnya yang mengkaji kadar asam fitat dan protein terlarut dari berbagai jenis tepung tempe kedelai lokal selama fermentasi. Maka dari itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis kedelai kuning Anjasmoro, kedelai kuning Grobogan, kedelai kuning impor dan kedelai hitam terhadap kandungan asam fitat selama fermentasi tempe.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan selama penelitian adalah kedelai kuning Anjasmoro, kedelai kuning Grobogan dan kedelai hitam yang dibeli di toko kedelai Jl. Bantul km 4,5, Yogyakarta serta kedelai impor di beli di pasar Pundong, Bantul, Yogyakarta. Ragi yang digunakan adalah merk RAPRIMA serta bahan untuk analisis dari Sigma Aldrich, USA.

Pembuatan Tepung Tempe

Proses pembuatan tepung tempe bermula dari fermentasi tempe hingga penepungan. Proses secara detail terdiri dari beberapa tahap yang mencakup sortasi, penimbangan, perendaman I, perebusan I, perendaman, pengupasan, perendaman II, perebusan II, penirisan, pendinginan, inokulasi, pengemasan, fermentasi dan penepungan.

1. Sortasi

Empat macam jenis kedelai yang mencakup tiga macam kedelai kuning (kedelai kuning Anjasmoro, Grobogan dan impor) dan satu macam kedelai hitam sebanyak masing-masing ditimbang sebanyak 500 gram sambil dilakukan sortasi. Kedelai yang cacat, retak, berbubuk serta cemaran fisik seperti ranting, krikil maupun bijian lain yang terikut (contoh: jagung dan kacang hijau) diambil dan dibuang. Kemudian kedelai dicuci dan lanjut ke tahap setelahnya.

2. Penimbangan

Penimbangan dilakukan pada masing-masing kedelai sebanyak 500 g setelah dilakukan sortasi. Penimbangan dilakukan agar perbandingan kedelai dan ragi sesuai.

3. Perendaman I

Masing-masing kedelai yang mencakup kedelai kuning Anjasmoro, Grobogan, impor serta kedelai hitam direndam dalam air bersuhu normal ($T=25-28^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam. Perbandingan air dengan kedelai yaitu 3:1 (v/v).

4. Perebusan I

Kedelai yang telah direndam kemudian dilakukan penirisan dan pencucian. Setelah itu, dilakukan perebusan dengan api kompor kecil selama ± 30 menit. Perbandingan air dengan kedelai yaitu 3:1 (v/v).

5. Pengupasan

Kedelai yang telah direbus selanjutnya dilakukan pengupasan. Sebelumnya kedelai ditiriskan dan dicuci terlebih dahulu. Pengupasan bertujuan untuk menghilangkan kulit ari kedelai agar

jamur *Rhizopus sp.* dapat tumbuh pada kedelai. Pengupasan dilakukan hingga kulit ari tidak menyelimuti kedelai sehingga fermentasi dapat berlangsung optimum.

6. Perendaman II

Perendaman kedelai dilakukan setelah semua kulit ari terkelupas. Kedelai yang bebas kulit ari dilakukan perendaman selama 24 jam. Perbandingan air dengan kedelai yaitu 3:1 (v/v). Perendaman dilakukan hingga pH mencapai 4.5-5.3.

7. Perebusan II

Perebusan II dilakukan untuk memperlunak tekstur kedelai sehingga jamur *Rhizopus sp.* dapat tumbuh optimum. Perebusan ini dilakukan selama ± 30 menit dengan perbandingan air dan kedelai yaitu 3:1 (v/v).

8. Penirisan

Kedelai yang telah direbus kemudian ditiriskan agar kering. Penirisan dilakukan pada udara terbuka.

9. Pendinginan

Pendinginan dilakukan dengan cara menghamparkan pada tampah dan mengangin-anginkan kedelai di udara terbuka. Pendinginan dilakukan hingga suhu kedelai mencapai 30°C .

10. Inokulasi

Inokulasi dilakukan dengan ragi komersial RAPRIMA sebanyak 1% dari berat kedelai kering, yaitu sebesar 5 gram untuk 500 gram kedelai. Ragi dan kedelai dilakukan pencampuran hingga ragi tercampur merata pada hamparan kedelai.

11. Pengemasan

Kedelai yang telah diberi ragi kemudian dikemas dalam plastik PE (*Poly Ethylene*) dengan ukuran 7 x 7 cm dan ketebalan 1,5 cm. Plastik dilubangi dengan tusuk gigi steril berjarak 1cm antar lubang.

12. Fermentasi

Fermentasi dilakukan menempatkan plastik berisi kedelai tersebut pada suhu ruang, kelembaban 65-75%. Fermentasi dilakukan hingga tempe mengalami over

fermentasi (0, 24, 48 dan 72 jam untuk uji kadar asam fitat dan protein terlarut). Selama fermentasi 0, 24, 48 dan 72 jam masing-masing sampel tempe dilakukan analisis kadar asam fitat dan protein terlarut.

13. Penepungan

Tempe hasil fermentasi dari jam ke-0, 24, 48 dan 72 diiris tipis kemudian dikeringkan menggunakan pengering kabinet 50 °C selama 10 jam. Tempe yang sudah kering dihaluskan hingga melewati ayakan 60 mesh.

Analisis Protein Terlarut

Analisis kadar protein terlarut pada tepung tempe kedelai lokal dan impor dengan inkubasi 0 jam, 24 jam, 48 jam, dan 72 jam dilakukan dengan metode [12] dengan modifikasi. Tepung tempeditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian dilarutkan menggunakan aquadest hingga 100 ml. Selanjutnya suspensi disaring menggunakan kertas saring. Filtrat diambil 1 ml dan direaksikan dengan 1 ml Larutan Lowry D yaitu, Lowry A:B:C (20:1:1). Kemudian dihomogenisasi. Setelah itu, larutan diinkubasi selama 15 menit pada suhu ruang. Setelah dilakukan inkubasi, larutan direaksikan dengan 3 ml larutan Folin Ciau-Calteau 2 N (Lowry E) dan dihomogenisasi. Kemudian, larutan tersebut didiamkan selama 45 menit. Selanjutnya, larutan campuran ditera menggunakan spektrofotometer *Genesys TM 20* dengan panjang gelombang 750 nm. Kadar protein terlarut diketahui dari nilai absorbansi yang diplotting pada kurva standar. Kurva standar dibuat menggunakan protein standar BSA (*Bovine Serum Albumin*) dengan konsentrasi 0 µm/ml hingga 300 µm/ml dan ditera dengan panjang gelombang 750 nm.

Analisis Asam Fitat

Analisis kadar asam fitat pada tepung tempe kedelai lokal dan impor dengan inkubasi 0 jam, 24 jam, 48 jam, dan 72 jam dilakukan dengan metode [13] dengan modifikasi. Sebelum dianalisis, tempe

dikecilkan ukuran. Kemudian dikeringkan dengan pengering kabinet suhu 50 °C selama 10 jam. Setelah itu, bahan dihaluskan hingga melewati ayakan 60 mesh. Sampel hasil ayakan pun dianalisis. Bubuk kedelai yang berukuran 60 mesh diambil 0,5 g dan diekstrak dengan HNO₃ 20 ml 0,5 M. Suspensi diekstraksi menggunakan *waterbath shaker* selama 4 jam pada suhu kamar. Kemudian ekstrak disaring. Filtrat diambil untuk dianalisis asam fitat. Sebelumnya, filtrat diencerkan sebanyak 10 kali atau 20 kali dengan HNO₃ agar masuk dalam peneraan kurva standar. Setelah itu, filtrat yang telah diencerkan kemudian diambil sebanyak 1 ml dan ditambah aquades 0,4 ml. Kemudian, suspensi tersebut ditambah FeCl₃ sebanyak 1ml (mengandung ion besi 50 µg/ml). Tabung ulir kemudian ditutup dan dimasukkan dalam air mendidih selama 20 menit. Setelah itu dilakukan pendinginan menggunakan air mengalir. Ketika tabung sudah dingin, suspensi ditambah 5 ml n-amyl alkohol dan 0,1 ml amonium tiosianat. Suspensi divortex dan didiamkan selama 15 menit. Setelah itu, larutan dapat ditera dengan λ 465 nm. Blanko yang digunakan adalah larutan n-amyl alkohol. Proses analisis kadar asam fitat dapat dijelaskan pada diagram alir di Gambar 3.2. Sebagai standar digunakan Na-Fitat(BM: 660,04 g/mol). Dibatasi larutan stok 0,0056 g/100 ml. Dari larutan stok kemudian dibuat seri pengenceran 0,0280 mg/ml; 0,0224 g/ml; 0,0168 g/ml; 0,0122 g/ml; 0,0056mg/ml; dan 0 mg/ml.

Kadar Air

Penentuan kadar air pada penelitian ini bertujuan untuk mengubah kadar yang dianalisis dalam bentuk berat kering. Oleh karena itu, sampel yang dianalisis sama dengan sampel yang dianalisis untuk pengujian kadar fitat dan protein terlarut. Penentuan kadar air berdasarkan [14].

Statistik

Perlakuan eksperimen untuk pengujian kadar fitat dan protein terlarut dilakukan

menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) non-faktorial. Faktor bebas jenis kedelai adalah yang ditinjau pada penelitian ini. Sementara faktor bebas lama fermentasi digunakan untuk meyakinkan teori yang ada bahwa selama fermentasi terjadi penurunan asam fitat dan kenaikan protein terlarut. Penelitian ini memiliki 2 faktor bebas masing-masing memiliki faktor 4 taraf untuk waktu fermentasi dan 4 taraf untuk jenis kedelai. Penelitian ini dilakukan 2 kali ulangan eksperimen. Dengan demikian, unit eksperimen dasar yang digunakan yaitu 16 unit dan unit eksperimen total yaitu taraf x ulangan eksperimen = $16 \times 2 = 32$ unit.

Analisis data untuk kandungan asam fitat dan protein terlarut digunakan uji ANOVA *one way* dan uji lanjutan Duncan dengan tingkat signifikansi 5%. Sementara uji korelasi asam fitat dan protein terlarut digunakan uji korelasi *Pearson 2-tailed* dengan tingkat signifikansi 1%. Analisis statistik ini digunakan aplikasi SPSS (*Statistical Product Service Solution*) versi 22.

HASIL PENELITIAN

Kadar Protein Terlarut

Pada tempe fermentasi 0 jam, kadar protein terlarut tertinggi yaitu pada sampel tepung tempe kedelai kuning Anjasmoro $1,93 \pm 0,06\%$ dan yang terendah adalah kedelai kuning impor $1,58 \pm 0,02\%$. Sementara itu, kadar protein terlarut kedelai hitam rebus dan kedelai kuning Grobogan tidak menunjukkan beda nyata dengan kadar berturut-turut $1,77 \pm 0,03\%$ dan $1,79 \pm 0,03\%$ (Tabel 1.). Pada

waktu fermentasi 0 jam, kedelai baru mengalami proses pengolahan dalam bentuk perebusan, belum terfermentasi. Selama perebusan akan terjadi degradasi protein dan denaturasi protein.

Kedelai lokal varietas unggul memiliki kadar protein total yang tinggi, lebih dari 40% (bk) sementara kedelai kuning impor memiliki kadar protein total 35-37% (bk)[5]. Kedelai lokal varietas unggul yang memiliki kadar protein tinggi antara lain Grobogan 43,90% (bk) dan Anjasmoro 41,80-42,10% (bk)[15]. Sementara itu, kedelai hitam memiliki kadar protein total 41-45%. [5]. Beberapa varietas unggul kedelai hitam seperti varietas detam mempunyai kadar protein total 45,40-45,60% [5]. Sementara itu kedelai hitam memiliki keunggulan, karena kandungan asam aminonya lebih tinggi dari kedelai kuning[6].

Penjelasan di atas menunjukkan bahwa kadar protein total kedelai kuning Grobogan dan kedelai hitam lebih tinggi daripada kedelai kuning Anjasmoro. Akan tetapi, menurut penelitian ini kedelai kuning Anjasmoro memiliki kadar protein tertinggi pada fermentasi 0 jam jika dibandingkan dengan kedelai lain. Pada fermentasi 0 jam, kedelai kuning Anjasmoro memiliki kadar protein terlarut yang lebih tinggi daripada kedelai kuning Grobogan dan kedelai hitam. Hal tersebut dikarenakan selama perebusan kedelai kuning Grobogan dan kedelai hitam mengalami denaturasi yang lebih efektif daripada kedelai kuning Anjasmoro. Kedelai kuning Grobogan memiliki tekstur yang lebih lunak dan kadar air yang lebih tinggi daripada

Tabel 1. Kadar protein terlarut (% bk) tepung tempe dari berbagai jenis kedelai selama fermentasi

Fermentasi (Jam)	Jenis kedelai			
	Anjasmoro	Grobogan	Impor	Hitam
0	$1,93 \pm 0,06^{Ca}$	$1,79 \pm 0,03^{Ba}$	$1,58 \pm 0,02^{Aa}$	$1,77 \pm 0,03^{Ba}$
24	$2,39 \pm 0,03^{Bc}$	$2,69 \pm 0,03^{Cb}$	$2,27 \pm 0,03^{Ab}$	$2,88 \pm 0,01^{Db}$
48	$4,26 \pm 0,06^{Bc}$	$4,51 \pm 0,05^{Cc}$	$4,07 \pm 0,04^{Ac}$	$5,16 \pm 0,08^{Dc}$
72	$5,28 \pm 0,15^{Bd}$	$5,64 \pm 0,02^{Cd}$	$5,10 \pm 0,03^{Ad}$	$5,65 \pm 0,11^{Cd}$

Keterangan:

- Superskript huruf kapital yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)
- Superskript huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)
- bk : berat kering

kedelai kuning Anjasmoro [6]. Jika ditinjau dari sisi kedelai hitam, maka kedelai hitam memiliki ukuran biji yang relatif kecil daripada kedelai kuning [5]. Denaturasi protein adalah terjadinya modifikasi struktur sekunder, tersier dan kuartar dari protein tanpa menyebabkan pemutusan ikatan peptida [16]. Protein yang telah mengalami denaturasi akan kehilangan sifat kelarutan dan biologisnya[16]. Dikarenakan kedelai kuning Grobogan memiliki tekstur yang lebih lunak maka denaturasi akan lebih efektif karena panas akan lebih mudah masuk. Sementara itu, kedelai hitam memiliki ukuran yang lebih kecil sehingga kontak panasnya lebih efektif dari pada kedelai kuning. Oleh karena itu, proses denaturasi yang lebih efektif akan menyebabkan kelarutan protein yang lebih rendah.

Kadar protein terlarut tepung antar sampel pada fermentasi tempe 24 jam dan 48 jam masing-masing menunjukkan beda nyata dengan urutan dari yang tertinggi yaitu kedelai hitam $2,88 \pm 0,01\%$ pada 24 jam dan $5,16 \pm 0,08\%$ pada 48 jam; kedelai kuning Grobogan $2,69 \pm 0,03\%$ pada 24 jam dan $4,51 \pm 0,05\%$ pada 48 jam; kedelai kuning Anjasmoro $2,39 \pm 0,03\%$ pada 24 jam dan $4,26 \pm 0,06\%$ pada 48 jam serta kedelai kuning impor $2,27 \pm 0,03\%$ pada 24 jam dan $4,07 \pm 0,04\%$ pada 48 jam (Tabel 1.). Kinerja enzim sangat dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Pada konsentrasi substrat yang sangat rendah, kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim juga sangat rendah. Sebaliknya, kecepatan reaksi akan meningkat dengan meningkatnya konsentrasi substrat sampai tercapai titik tertentu, yaitu titik batas kecepatan reaksi maksimum[17]. Setelah titik batas, enzim menjadi jenuh oleh substratnya, sehingga tidak dapat berfungsi lebih cepat. Oleh karena itu, kadar protein terlarut akan sejalan dengan jumlah protein total. Semakin banyak protein total sebagai substrat maka semakin banyak protein sederhana, asam amino dan protein terlarut yang terbentuk selama fermentasi tempe akibat adanya enzim protease. Kadar protein terlarut juga akan

semakin tinggi. Hal tersebut dapat mendukung kadar protein terlarut pada tepung tempe kedelai hitam lebih tinggi daripada tepung tempe kedelai kuning Anjasmoro. Tingginya protein terlarut pada tepung tempe disebabkan oleh pemecahan molekul kompleks menjadi molekul sederhana dan larut dalam air selama fermentasi tempe[9]. Pemecahan ikatan peptida pada kompleks protein lebih berpengaruh pada kelarutan dan daya cerna protein dibandingkan proses denaturasi protein [16]. Tingginya protein terlarut selama fermentasi tempe juga ditentukan oleh asam amino yang bersifat polar pada bahan [16]. Sementara itu asam amino polar seperti serin, histidin dan tirosin pada kedelai hitam lebih tinggi daripada kedelai kuning[6]. Oleh karena itu, kadar protein terlarut tepung tempe dari kedelai hitam lebih tinggi daripada kedelai kuning Anjasmoro, Grobogan dan impor.

Pada fermentasi ke 72 jam, kadar protein terlarut tepung tempe dari kedelai hitam dan kedelai kuning Grobogan tidak menunjukkan beda nyata dengan kadar masing-masing $5,65 \pm 0,11\%$ dan $5,64 \pm 0,02\%$. Tepung tempe dari kedelai hitam dan kedelai kuning Grobogan memiliki kadar protein terlarut tertinggi. Kadar protein terlarut tepung tempe dari kedelai kuning Anjasmoro yaitu $5,28 \pm 0,15\%$. Sementara kadar protein terendah yaitu kedelai kuning impor dengan kadar $5,10 \pm 0,03\%$ (Tabel 1.). Kadar protein terlarut kedelai kuning Grobogan dan kedelai hitam tidak berbeda nyata pada fermentasi 72 jam. Hal ini disebabkan karena kadar protein total bahan baku tempe yakni, kedelai kuning Grobogan dan kedelai hitam hampir sama yaitu 41-45% [5]. Pada waktu fermentasi ke 72 jam, tempe telah terfermentasi lanjut yang ditandai dengan menipisnya kapang. Artinya produksi enzim protease sudah berhenti sehingga, jumlahnya akan menurun seiring berjalannya waktu. Pada periode ini, protein kompleks kedelai hitam yang dipecah menjadi protein sederhana dapat dikatakan sudah maksimum sesuai dengan jumlah protein totalnya. Oleh karena itu, kadar protein terlarut tempe fermentasi 72 jam antara tepung tempe

kedelai kuning Grobogan dan kedelai kuning hitam tidak berbeda nyata.

Kadar Asam Fitat

Pada kedelai rebus yang telah diberi ragi (fermentasi 0 jam), kadar asam fitat tepung tempe kuning Anjasmoro berbeda nyata dengan kadar asam fitat tepung tempe kedelai hitam, kedelai kuning Grobogan dan kedelai kuning impor (Tabel 2.). Tepung tempe kedelai kuning Anjasmoro memiliki kadar asam fitat tertinggi yaitu $1,29 \pm 0,02$ % kemudian diikuti kadar asam fitat kedelai hitam yakni $1,26 \pm 0,01$ %. Sementara itu, kadar asam fitat kedelai kuning Grobogan tidak berbeda nyata dengan kedelai kuning impor. Kadar asam fitat tepung tempe kedelai kuning Grobogan dan kedelai kuning impor masing-masing $1,15 \pm 0,01\%$ dan $1,13 \pm 0,01\%$. Perbedaan kadar asam fitat ini disebabkan karena jenis kedelai antar varietas ditanam pada daerah yang berbeda-beda. Kandungan zat hara tanah setiap daerah memiliki ciri khas masing-masing. Salah satu unsur zat hara yang memiliki kaitan dengan asam fitat adalah fosfor. Di samping itu, kedelai kuning varietas Anjasmoro juga memiliki kemampuan yang bagus dalam penyerapan fosfor sebagai zat hara dibandingkan dengan kedelai kuning varietas lain. Asam fitat digunakan sebagai penyimpan fosfor untuk menjaga keberlangsungan hidup pada tanaman biji-bijian. Oleh sebab itu, kedelai kuning varietas Anjasmoro memiliki kadar asam fitat tertinggi

daripada jenis kedelai kuning lainnya[2].

Selama fermentasi, kadar asam fitat semakin rendah akibat adanya aktivitas enzim fitase yang diproduksi oleh kapang tempe. Kadar asam fitat tepung tempe antar jenis kedelai selama fermentasi 24 jam dan 48 jam masing-masing berbeda nyata dengan urutan dari tertinggi hingga terendah yaitu kedelai kuning Anjasmoro $1,06 \pm 0,01\%$ pada 24 jam dan $0,48 \pm 0,01\%$ pada 48 jam; kedelai hitam $0,93 \pm 0,02\%$ pada 24 jam dan $0,44 \pm 0,01\%$ pada 48 jam; kedelai kuning Grobogan $0,83 \pm 0,01\%$ pada 24 jam dan $0,33 \pm 0,01\%$ pada 48 jam serta kedelai kuning impor $0,78 \pm 0,00\%$ pada 24 jam dan $0,23 \pm 0,01\%$ pada 48 jam (Tabel 2.). Pada fermentasi ke 72 jam, kedelai kuning impor memiliki kadar asam fitat terendah dengan nilai $0,15 \pm 0,01\%$ kemudian diikuti kedelai kuning Grobogan dengan nilai $0,29 \pm 0,01\%$. Sementara itu, kedelai kuning Anjasmoro sama dengan kedelai hitam yaitu $0,32 \pm 0,01\%$. Kedua jenis kedelai ini memiliki kadar asam fitat tertinggi pada fermentasi ke 72 jam dibandingkan dengan jenis kedelai kuning Grobogan maupun impor (Tabel 2.). Menurut penelitian [18], kedelai hitam memiliki senyawa antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan kedelai kuning varietas Grobogan dan impor. Di samping berperan sebagai anti gizi, asam fitat juga berperan sebagai antioksidan [19]. Hal tersebut memungkinkan kadar asam fitat kedelai hitam lebih tinggi dari pada kedelai kuning Grobogan dan kedelai impor.

Selama fermentasi 24 jam, 48 jam dan

Tabel 2. Kadar asam fitat (% bk) tepung tempe dari berbagai jenis kedelai selama fermentasi tempe

Fermentasi (Jam)	Jenis kedelai			
	Anjasmoro	Grobogan	Impor	Hitam
0	$1,29 \pm 0,02$ ^{Cd}	$1,15 \pm 0,01$ ^{Ad}	$1,13 \pm 0,01$ ^{Ad}	$1,26 \pm 0,01$ ^{Bd}
24	$1,06 \pm 0,01$ ^{Dc}	$0,83 \pm 0,01$ ^{Bc}	$0,78 \pm 0,00$ ^{Ac}	$0,93 \pm 0,02$ ^{Cc}
48	$0,48 \pm 0,01$ ^{Db}	$0,33 \pm 0,01$ ^{Bb}	$0,23 \pm 0,01$ ^{Ab}	$0,44 \pm 0,01$ ^{Cb}
72	$0,32 \pm 0,01$ ^{Ca}	$0,29 \pm 0,01$ ^{Ba}	$0,15 \pm 0,01$ ^{Aa}	$0,32 \pm 0,01$ ^{Ca}

Keterangan:

- Superskript huruf kapital yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)
- Superskript huruf kecil yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata ($p < 0,05$)
- bk : berat kering

72 jam, kadar asam fitat tepung tempe kedelai impor berbeda nyata lebih rendah dibandingkan dengan tepung tempe kedelai kuning Grobogan (Tabel 2). Hal ini dikarenakan kedelai impor merupakan kedelai rekayasa genetika, yang sering disebut sebagai kedelai GMO (*Genetically Modified Organism*). Menurut [20] biji-bijian yang dilakukan rekayasa genetika seperti mutasi, meskipun kandungan total fosfornya tidak berubah tetapi asam fitatnya dapat berkurang sebesar 55% hingga 66%. Oleh karena itu, kadar asam fitat tepung tempe dari kedelai impor selama fermentasi memiliki kadar asam fitat terendah.

Oleh karena itu, kadar asam fitat tepung tempe selama fermentasi 0, 24, 48 dan 72 jam berbeda nyata. Semakin lama waktu fermentasi, kadar asam fitat semakin rendah. Selama proses fermentasi tempe, terjadi pemecahan asam fitat oleh enzim fitase yang dihasilkan dari *Rhizopus sp.*

Korelasi Protein Terlarut dan Asam Fitat

Tabel 3. Menunjukkan bahwa adanya korelasi yang signifikan antara kadar asam fitat dan protein terlarut pada masing-masing jenis tepung tempe. Harga korelasi yang semakin mendekati nilai 1 atau -1 maka semakin besar korelasinya. Nilai korelasi yang positif menunjukkan bahwa ada korelasi berbanding lurus, sementara nilai korelasi yang negatif menunjukkan bahwa ada korelasi berbanding terbalik. Pada Tabel 4.5. nilai korelasi menggunakan uji korelasi *Pearson 2-tailed* antara kadar asam fitat dan protein terlarut tepung tempe pada kedelai varietas Anjasmoro adalah -0,987; kedelai kuning varietas Grobogan adalah -0,970; kedelai kuning impor adalah -0,972 dan kedelai hitam adalah -0,996. Korelasi antara kadar asam fitat dan protein terlarut berbanding terbalik yang ditunjukkan dengan harga negatif nilai korelasi

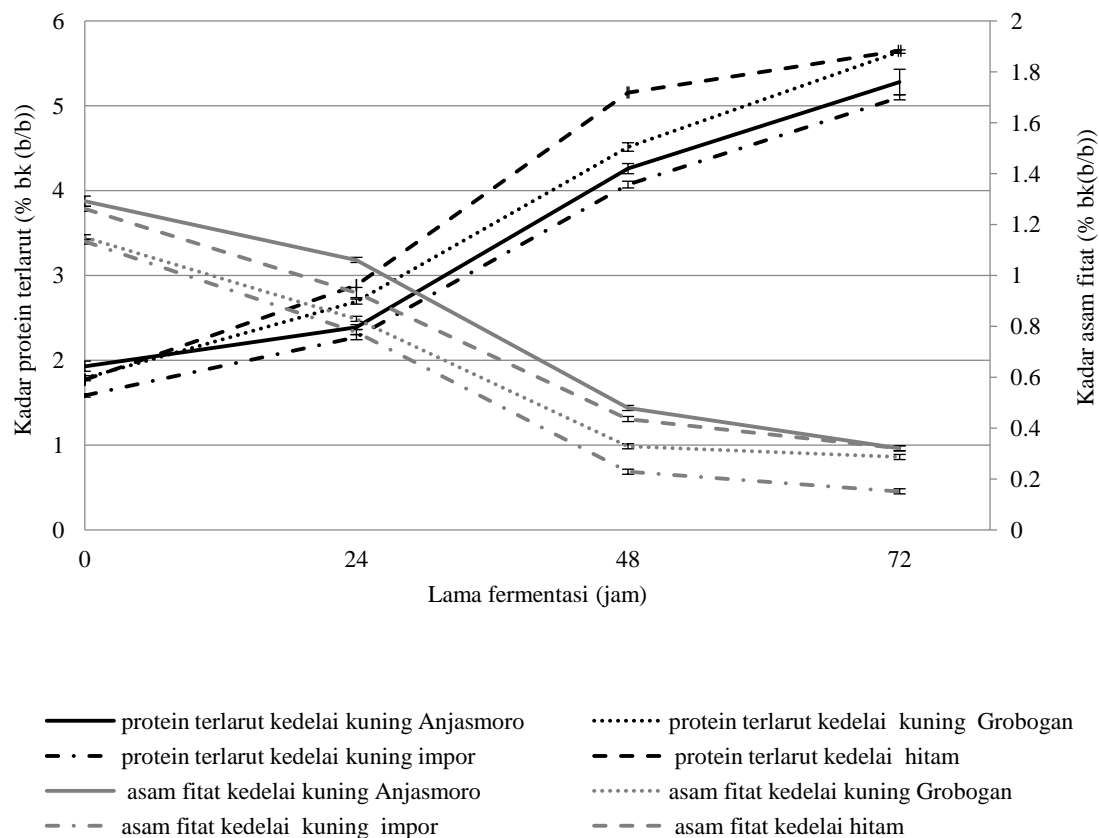
Tabel 3. Korelasi kadar asam fitat dan protein terlarut tepung tempe dari berbagai jenis kedelai fermentasi

Jenis kedelai	Waktu Fermentasi (jam)	Kadar (% bk)		Korelasi
		Asam fitat	Protein terlarut	
Anjasmoro	0	1,29±0,02	1,93±0,06	-0,987*
	24	1,06±0,01	2,39±0,03	
	48	0,48±0,01	4,26±0,06	
	72	0,32±0,01	5,28±0,15	
Grobogan	0	1,15±0,01	1,79±0,03	-0,970*
	24	0,83±0,01	2,69±0,03	
	48	0,33±0,01	4,51±0,05	
	72	0,29±0,01	5,64±0,02	
Impor	0	1,13±0,01	1,58±0,02	-0,972*
	24	0,78±0,01	2,27±0,03	
	48	0,23±0,01	4,07±0,04	
	72	0,15±0,01	5,10±0,03	
Hitam	0	1,26 ± 0,01	1,77±0,03	-0,996*
	24	0,93 ± 0,02	2,88±0,01	
	48	0,44 ± 0,01	5,16±0,08	
	72	0,32 ± 0,01	5,65±0,11	

Keterangan:

*Adanya korelasi yang signifikan $p < 0,01$

bk : berat kering



Gambar 1. Korelasi kadar asam fitat dan protein terlarut tepung tempe dari berbagai jenis kedelai selama 72 jam fermentasi

pada Tabel 3. Semakin kecil kadar asam fitat maka semakin besar kadar protein terlarut selama fermentasi tempe, baik tepung tempe kedelai kuning Anjasmoro, Grobogan, impor dan kedelai hitam.

Asam fitat memiliki fosfor bermuatan negatif yang besar sehingga asam fitat mampu berikatan dengan protein yang bermuatan positif [21]. Selain terkenal sebagai aktifitas antigizinya dalam menurunkan ketersediaan mineral di dalam tubuh, asam fitat juga dapat berikatan dengan protein dan menurunkan kelarutannya. Asam fitat mempunyai sifat antigizi terhadap protein dengan cara mengikat protein sehingga protein akan mengendap dan tidak tercerna [1]. Fitat memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks yang kuat dengan beberapa protein dan menghambat pemecahan protein kompleks menjadi protein sederhana. Secara umum, interaksi fitat dengan protein

tergantung pada pH lingkungannya sehingga ketika nilai pH lebih rendah dari titik isoelektrik protein, maka gugus asam fosfat pada fitat akan berikatan dengan asam amino kationik membentuk kompleks fitat-protein [22]. Pembentukan kompleks tersebut dapat mempengaruhi struktur protein yang dapat menghambat aktivitas enzimatis, kelarutan protein dan pencernaan protein. Studi *in vitro* menunjukkan bahwa tingkat interaksi protein-fitat diatur oleh beberapa faktor, seperti pH, sumber dan kelarutan protein serta tingkat konsumsi kalsium dan magnesium [22]. Dalam biji kedelai mentah sejumlah protein berikatan dengan asam fitat yang berada di dalam kedelai [3]. Hal tersebut menyebabkan kelarutan protein berkurang. Selama fermentasi tempe, asam fitat efektif direduksi oleh enzim fitase yang dihasilkan oleh kapang

tempe. Selain karena aktivitas protease, peningkatan protein terlarut dapat disebabkan karena protein tidak terikat oleh asam fitat membentuk protein yang mengendap (fitat-protein). Hal tersebut dikarenakan asam fitat telah direduksi selama fermentasi tempe. Hal ini didukung oleh data korelasi Tabel 3. bernilai mendekati -1.

Pada waktu fermentasi 0 jam hingga 24 jam menunjukkan bahwa kadar asam fitat keempat jenis kedelai mengalami penurunan (Gambar 1.). Sementara kadar protein terlarut mengalami kenaikan. Pada waktu fermentasi tempe ke 24 hingga 48 jam kadar asam fitat mengalami penurunan yang lebih tajam dibanding sebelumnya. Begitupula kadar protein terlarut juga mengalami peningkatan yang lebih tajam daripada sebelumnya. Pada kurun waktu 48 hingga 72 jam kadar asam fitat menurun namun penurunannya lebih landai dari sebelumnya. Begitu pula kenaikan kadar protein terlarut juga lebih landai dari sebelumnya. Di samping keefektifan dari enzim fitase maupun protease yang dihasilkan kapang, adapun kaitannya dengan protein yang terikat dengan asam fitat. Ketika asam fitat direduksi oleh enzim fitase, maka kelarutan protein akan meningkat. Hal tersebut disebabkan karena asam fitat telah dipecah menjadi fosfat organik dan inositol sehingga tidak berikatan dengan protein maupun asam amino yang mengandung kation [22].

KESIMPULAN

Tepung tempe selama fermentasi tempe mengalami kenaikan protein terlarut dan penurunan asam fitat. Kadar protein terlarut tertinggi pada fermentasi ke-48 jam adalah kedelai hitam 5,64% dan kedelai kuning Grobogan 5,65% Asam fitat terendah pada fermentasi ke-48 adalah kedelai impor (0,23%) yang diikuti kedelai lokal Grobogan (0,33%). Terdapat pula korelasi berdasarkan analisis *Pearson 2-tailed* yaitu berbanding terbalik ($p < 0,01$) antara kadar asam fitat dan protein terlarut pada tepung tempe kedelai

kuning Anjasmoro (-0,987); kedelai kuning Grobogan (-0,970); kedelai kuning impor (-0,972) dan kedelai hitam (-0,996) selama fermentasi. Hasil dari penelitian ini dapat digunakan untuk pengembangan produksi tepung tempe dari berbagai macam kedelai lokal di Indonesia. Penelitian selanjutnya dapat menyempurnakan untuk melakukan analisis protein secara *in vivo* dan *in vitro* sehingga hasil kaitan dengan asam fitat akan memiliki data pendukung yang lebih kuat. Diharapkan pada penelitian kedepannya pengembangan tepung tempe lokal yang kaya protein dapat dieksplorasi lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] M. Astawan, T. Wresdiyati, and L. Maknun, *Tempe Sumber Zat Gizi dan Komponen Bioaktif untuk Kesehatan*. Bogor: IPB Press, 2017.
- [2] R. Aureli, Q. Ueberschlag, F. Klein, C. Noel, and P. Guggenbuhl, "Use of near infrared reflectance spectroscopy to predict phytate phosphorus, total phosphorus, and crude protein of common poultry feed ingredients," *Poult. Sci.*, vol. 96, no. 1, pp. 60–68, 2016.
- [3] R. Yasothai, "Antinutritional in Soybean Meal and its Deactivation," *Int. J. Sci. Environ. Technol.*, vol. 5, no. 6, pp. 3793–3797, 2016.
- [4] A. Milani, R. Rosmayari, and L. A. M. Siregar, "Pertumbuhan dan Produksi Beberapa Varietas Kedelai Terhadap Inokulasi *Bradyrhizobium*," *Agroteknologi*, vol. 1, no. 2, pp. 15–23, 2013.
- [5] S. Ginting, E., Antarlina, S.S., Widowati, "Varietas Unggul Kedelai untuk Bahan Baku Industri Pangan," *J. Litbang Pertan.*, vol. 28, no. 3, pp. 79–87, 2009.
- [6] Sardjono, *Teknologi Proses Fermentasi Kecap: Tinjauan Singkat Aspek Teknologi dan Mikrobiologi*. Yogyakarta.: Penerbit PT Kanisius, 2016.
- [7] A. P. Fauziah, F., Rasyid, R., Akbar, "Penetapan Kadar Vitamin B1 Pada Kacang Kedelai dan Tempe Yang Beredar di Pasar Raya Padang Secara

- Spektrofotometri Visibel,” *J. Farm. Higea*, vol. 8, no. 1, pp. 1–7, 2016.
- [8] A. Murdiati and Amaliah, *Panduan Penyiapan Pangan Sehat untuk Semua*. Jakarta: Kencana, 2013.
- [9] L. Huang, C. Wang, Y. Zhang, X. Chen, Z. Huang, and G. Xing, “Original article Degradation of anti-nutritional factors and reduction of immunoreactivity of tempeh by co-fermentation with *Rhizopus oligosporus* RT-3 and *Actinomyces elegans* DCY-1,” *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 54, no. 5, pp. 1836–1848, 2019.
- [10] J. P. Tamang, *Health Benefits of Fermented Foods and Beverages*. Boca Raton: CRC Press, 2015.
- [11] M. Reyes-Bastidas, E. Z. Reyes-Fernández, J. López-Cervantes, J. Milán-Carrillo, G. F. Loarca-Pina, and C. Reyes-Moreno, “Physicochemical, Nutritional and Antioxidant Properties of Tempeh Flour from Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.),” *Food Sci. Technol. Int.*, vol. 16, no. 5, pp. 427–434, 2010.
- [12] O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and J. A. Randall, “Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent,” *J. Biol. Chem.*, vol. 193, pp. 265–275, 1951.
- [13] N. T. Davies and H. Reid, “An evaluation of phytate, zinc, copper, iron and availability from soy based textured vegetable protein meat substitutes or meat extruders,” *Br. J. Nutr.*, vol. 41, pp. 579–589, 1979.
- [14] AOAC, *Official Methods of Analysis Association of Official Analytical*. Maryland: AOAC International, 2005.
- [15] Balitkabi, *Deskripsi Varietas Unggul Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*. Malang: Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian, 2008.
- [16] N. Andarwulan, Kusnandar, F., and D. Herawati, *Analisis Pangan*. Jakarta: Dian Rakyat, 2011.
- [17] Y. Deng, C. I. Butre, and P. A. Wierenga, “Influence of substrate concentration on the extent of protein enzymatic hydrolysis,” *Int. Dairy J.*, vol. 86, pp. 39–48, 2018.
- [18] Nurrahman, “Evaluasi komposisi zat gizi dan senyawa antioksidan kedelai hitam dan kedelai kuning,” *J. Apl. Teknol. Pangan*, vol. 4, pp. 89–93, 2015.
- [19] A. Diouf-Lewis, S. Commereuc, and V. Varney, “Toward greener polyolefins: Antioxidant effect of phytic acid from cereal waste,” *Eur. Polym. J.*, vol. 96, pp. 190–199, 2017.
- [20] M. B. Zimmermann and R. Hurrell, “Improving Iron, Zinc and Vitamin A Nutrition through Plant Biotechnology,” *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 13, pp. 142–145, 2002.
- [21] V. Handa, D. Sharma, A. Kaur, and S. K. Arya, “Biocatalysis and Agricultural Biotechnology Biotechnological applications of microbial phytase and phytic acid in food and feed industries,” *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, vol. 25, no. February, p. 101600, 2020.
- [22] J. Nissar, T. Ahad, and H. R. Naik, “A review phytic acid : As antinutrient or nutraceutical,” *J. Pharmacogn. Phytochem.*, vol. 6, no. 6, pp. 1554–1560, 2017.