

PERUBAHAN KANDUNGAN ASAM FITAT DAN AKTIVITAS FITASE PADA PEMBUATAN, PENYIMPANAN DAN PEMASAKAN TEMPE

Oleh:
Sutardi^{*)}

Ringkasan

Tempe dengan bahan baku kedelai varitas *Forrest* dibuat dengan modifikasi cara tradisional yang biasa dilakukan oleh masyarakat Indonesia. Kedelai yang dipersiapkan diinokulasi dengan biakan murni *Rhizopus oligosporus* strain CT₁₁K₂ atau usar. Kedua jenis inokulum tersebut menghasilkan tempe dengan mutu baik.

Fitase yang dihasilkan oleh jamur inokulum terbukti dapat menurunkan kandungan asam fitat sebesar 40% selama berlangsungnya fermentasi tempe.

Penyimpanan tempe selama 3 minggu pada suhu 5°C dan atau selama 3 hari pada suhu 30°C menyebabkan penurunan lanjut kandungan asam fitat berturut-turut sebesar ± 70 dan 60%. Adapun penyebab penurunan kandungan asam fitat selama penyimpanan tempe adalah aktivitas fitase inokulum.

Tempe segar dan tempe yang telah disimpan pada kondisi penyimpanan seperti tersebut diatas mengalami penurunan kandungan asam fitat sebesar 39 — 72% setelah digoreng dengan minyak kedelai selama 2 — 3 menit pada suhu 180°C, sedangkan perebusan selama 10 menit menyebabkan penurunan kandungan asam fitat sebesar 45 — 75%.

Pendahuluan

Kedelai merupakan komoditi sumber protein, mineral dan vitamin bagi negara yang padat penduduknya terutama negara sedang berkembang dimana makanan hasil hewani sangat mahal dan tidak cukup tersedia. Namun demikian kedelai mempunyai rasa dan bau langu yang kuat dan mengandung beberapa senyawa antigi seperti asam fitat yang menyebabkan ter-

batasnya kedelai sebagai bahan pangan. Asam fitat dalam bentuk garamnya merupakan sumber fosfat yang penting untuk beberapa jenis kacang-kacangan, termasuk pula kedelai yang mencapai jumlah 60 — 90% dari total kandungan senyawa fosfat (Graf 1983).

Interaksi antara asam fitat dengan protein dan beberapa kation mineral bervalensi 2 dan 3 dipandang sebagai salah satu faktor penyebab turunnya nilai gizi bahan makanan (Saio *et al* 1967, Okubo *et al* 1975). Beberapa studi menunjukkan bahwa senyawa fitat menurunkan daya serap usus terhadap zat mineral esensial seperti Zn, Mg, Cu, Ca dan Fe.

Beberapa keuntungan yang diperoleh dari proses pembuatan tempe ialah bahwa proses perendaman, perebusan dan pengukusan serta fermentasi dapat menghilangkan rasa dan bau langu dan menurunkan kandungan asam fitat. Pembuatan tempe memerlukan waktu relative singkat dibandingkan dengan pembuatan jenis makanan fermentasi lain dengan bahan dasar kedelai misal-nya kecap. Tempe mempunyai nilai gizi lebih tinggi dan lebih mudah dicerna apabila dibandingkan dengan kedelai itu sendiri.

Aktivitas fitase (myo-inositol-heksa-fosfat fosfohidrolase, E.C. 3.1.3. (8,26)) selama perendaman dan perkecambahan beberapa jenis kacang-kacangan telah banyak dilaporkan sangat efektif dalam penurunan kandungan asam fitat (Chang *et al* 1977, Mandal

^{*)} Staf Pengajar pada Fakultas Teknologi Pertanian, UGM, Yogyakarta.

and Biswas 1970, Walker 1974, Kuvaeva and Kretovich 1978, Tabekhia and Luh 1980).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah penurunan kandungan asam fitat selama pembuatan, penyimpanan dan pemasakan tempe disebabkan karena perlakuan fisikawi seperti perendaman, perebusan dan pemanasan atau disebabkan karena pemecahan secara enzimatis asam fitat oleh fitase kedelai atau fitase yang dihasilkan oleh jamur inokulum atau fitase yang dihasilkan oleh yeast dan bakteri yang tumbuh selama perendaman.

Bahan dan Cara Penelitian

Bahan

Kedelai varitas *Forrest* diperoleh dari Pacific Seed, Toowoomba, Queensland, Australia. Kedelai disimpan dalam kantong plastik dan dimasukkan dalam drum aluminium. Jamur *Rhizopus oligosporus* strain CT₁₁K₂ diperoleh dari Departemen Mikrobiologi, Fakultas Pertanian, UGM. Usar dibeli di pasar Kranggan, Yogyakarta.

Pembuatan Tempe

Kedelai kering direndam selama 18 jam (kedelai : air = 1 : 3), kemudian direbus selama 5 menit dengan jumlah kedelai : air = 1 : 3. Kedelai rebus dikupas secara manual dan selanjutnya dikukus selama 30 menit dengan dilanjutkan penirisan dan pendinginan. Selanjutnya kedelai diinokulasi dengan biakan murni *R. oligosporus* dan/atau usar, kemudian difermentasikan selama 36 — 40 jam pada suhu 30°C.

Penyimpanan Tempe

Tempe segar disimpan selama 3 minggu pada suhu 5°C dan atau selama 3

hari pada suhu 30°C dalam usaha untuk mengetahui pengaruh kondisi penyimpanan terhadap perubahan kandungan asam fitat dan aktivitas fitase. Sampel untuk tujuan analisa dikeringkan beku.

Penggorengan Tempe

Tempe segar maupun tempe yang telah disimpan digoreng dengan minyak kedelai. Kriteria selesainya penggorengan adalah perubahan warna tempe menjadi kecoklatan.

Perebusan

Tempe segar dan tempe yang telah disimpan direbus selama 10 menit. Baik tempe goreng maupun rebus dikeringkan dengan cara beku untuk tujuan analisa selanjutnya.

Prosedur Analisis

Penentuan kandungan fosfat anorganik

Fosfat anorganik untuk percobaan enzim

Fosfat anorganik (P_i) ditentukan dengan metoda asam askorbat dari Watanabe dan Olsen (1965).

Fosfat anorganik kedelai, hasil antara dan tempe

Kandungan fosfat anorganik kedelai, hasil antara dan tempe ditentukan dengan metoda yang dimodifikasi dari Pon dan Guthrie (1946) dengan metoda Watanabe dan Olsen (1965).

Penentuan Kandungan asam Fitat

Kandungan asam fitat kedelai, hasil antara dan tempe ditentukan dengan metode ion-exchange dari Harland dan Oberleas (1986).

Penentuan Kandungan Total P

Kandungan total P kedelai, hasil antara dan tempe ditentukan dengan metoda Lopez *et al* (1983) yang dimodifikasikan dengan metoda Watanabe dan Olsen (1965).

Penentuan aktivitas fitase

Ekstraksi

Kedelai, hasil antara dan tempe yang telah dikeringkan diekstraksi dengan cara sebagai berikut: Bubuk sampel ($250 \mu\text{m}$) ditambah CaCl_2 2% dengan perbandingan 1 bagian sampel dan 10 bagian CaCl_2 2%. Digojok secara mekanis selama 30 menit pada suhu kamar dan kecepatan putaran 300 rpm. Dipusingkan selama 30 menit pada suhu 2°C dan putaran $15.000 \times \text{g}$, supernatannya disaring.

Fraksinasi dengan ammonium sulfat

Kedalam larutan sampel ditambah amonium sulfat dan diaduk secara kontinyu. Penambahan amonium sulfat dapat ditentukan dengan monogram atau tabel tersedia. Larutan sampel dibiarkan selama 30 menit pada suhu 2°C dan dilakukan pengadukan, kemudian dipusingkan selama 20 menit pada suhu 2°C dan putaran $15.000 \times \text{g}$. Endapannya dibuang sedangkan supernatannya ditambah amonium sulfat sampai 80% kejenuhan. Fraksi yang mengendap diantara perlakuan amonium sulphat 35% dan 80% kejenuhan dilarutkan dengan 0.01 M tris-maleat buffer pH 6,5 dilakukan dialisis selama 48 jam dalam larutan buffer yang sama pada suhu 2°C . Larutan enzim yang dimurnikan secara parsial ini digunakan untuk percobaan selanjutnya.

Esai Enzim

Esai enzim dilakukan dengan menggunakan metoda Lolas dan Markakis (1977)

yang dimodifikasi. Aktivitas fitase diukur berdasarkan kecepatan bertambahnya P, yang dibebaskan dari natrium fitat atau asam fitat oleh fitase dengan metoda Watanabe dan Olsen (1965).

Nilai aktivitas enzim dikoreksi dengan menggunakan kontrol yang terdiri atas larutan enzim yang sebelumnya telah dididihkan selama 10 menit. Aktivitas enzim dinyatakan dalam unit internasional, satu unit merupakan aktivitas enzim yang dapat membebaskan 1 umole P_i/menit pada kondisi esai yang ditetapkan.

Analisa statistik untuk hasil percobaan

Data hasil percobaan penentuan kandungan asam fitat, fosfat anorganik total P dan aktivitas fitase kedelai, hasil antara dan tempe selama proses pembuatan, penyimpanan dan pemasakan tempe dianalisa secara statistik dengan t-test dan analisa varian (program SPSS) untuk menentukan ada tidaknya perbedaan diantara perlakuan.

Hasil dan Pembahasan

Kandungan Asam Fitat dan Aktivitas Fitase Kedelai, Hasil Antara dan Tempe

Perubahan kandungan asam fitat dan aktivitas fitase selama pembuatan tempe disajikan dalam Tabel 1. Perendaman kedelai pada suhu kamar selama 18 jam sedikit berpengaruh pada penurunan kandungan asam fitat yaitu dari 10.39 ± 0.04 menjadi 9.61 ± 0.04 mg/g (BBK). Penurunan kandungan asam fitat selama perendaman sebesar 8% dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu aktivitas fitase yang dihasilkan oleh mikroba kontaminan seperti yeast dan bakteri yang dapat tumbuh selama perendaman kedelai; terlarutnya asam fitat kedalam air rendaman dan aktivitas fitase endogen kedelai. Adanya aktivitas fitase

selama proses perendaman dibuktikan melalui pengujian terhadap air rendaman dan ternyata terdapat aktivitas fitase sebesar 0,03 $\mu\text{mol P}_i/\text{menit/ml}$ enzim. Aktivitas fitase dalam air rendaman merupakan fitase ekstraseluler yang dihasilkan oleh yeast dan bakteri dan fitase kedelai yang mungkin dapat keluar ke air rendaman (Tabel 1). Tabel 1 juga menunjukkan bahwa selama proses perendaman, aktivitas fitase kedelai meningkat sedangkan kandungan asam fitatnya menurun, maka hasil percobaan ini sejalan dengan hasil percobaan yang dilaporkan oleh Chang *et al* (1977). Penurunan kandungan asam fitat (dari 10,39 \pm 0,04 menjadi 9,61 \pm 0,04 mg/g BBK) selama perendaman kedelai adalah lebih besar apabila dibandingkan dengan sampel dimana pertumbuhan yeast dan bakteri dihambat dengan penambahan antibiotik (dari 10,39 \pm 0,04 menjadi 10,06 \pm 0,09 mg/g BBK) (Tabel 2). Gejala ini menunjukkan bahwa enzim fitase yang dihasilkan oleh mikrobia kontaminan lebih berperan dalam pemecahan asam fitat selama perendaman apabila dibandingkan dengan fitase endogen kedelai. Penurunan kandungan asam fitat kedelai sebesar 36,9% selama perendaman semalam pada suhu kamar telah dilaporkan oleh Chang *et al* (1977). Ologobo dan Fetuga (1984) melaporkan bahwa kedelai yang direndam dalam air yang sebelumnya dilakukan deionisasi selama 3 hari pada suhu 27°C, maka penurunan kandungan asam fitat sebesar 9,9—10,5% adalah lebih rendah apabila dibandingkan dengan penurunan kandungan asam fitat kedelai yang dikecambahkan (20,9 — 33,3%). Namun demikian ada perbedaan pendapat seperti yang dilaporkan oleh Sudarmadji dan Markakis (1977) dan Sutardi dan Buckle (1985) bahwa selama perendaman kedelai terjadi kenaikan kandungan asam fitat yang kemungkinan disebabkan oleh berlangsungnya biosintesa

asam fitat. Karena perendaman merupakan tahap awal dari proses perkecambahan sebagaimana dilaporkan oleh Mayumder *et al* (1972) untuk jenis kacang hijau.

Perlakuan selanjutnya seperti perebusan juga menurunkan kandungan asam fitat dari 9,61 \pm 0,04 menjadi 8,73 \pm 0,05 mg/g BBK. Kehilangan asam fitat selama perebusan kedelai disebabkan oleh terlarutnya asam fitat kedalam air rebusan. Hal ini dapat diketahui dari hasil analisa terhadap kandungan asam fitat air rebusan yaitu sebesar 0,15 \pm 0,02 mg/ml (Tabel 2). Dari hasil percobaan menunjukkan bahwa kedelai rebus tidak mengandung fitase sampai pada tahap kedelai difermentasi menjadi tempe.

Kandungan asam fitat kedelai turun sampai lebih dari 50% yaitu dari 10,4 menjadi 4,9 mg/g BBK pada tempe segar setelah fermentasi selama 40 jam pada suhu 30°C (Tabel 3). Hasil ini sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan hasil (33%) yang telah dilaporkan oleh Sudarmadji dan Markakis (1977) dan Sutardi dan Buckle (1985) tetapi lebih rendah dari hasil yang dilaporkan oleh Van der Riet *et al* (1987) yaitu 75 — 88% untuk 2 jenis kedelai yang difermentasikan selama 48 jam pada suhu 31 — 35°C.

Perbedaan besarnya penurunan kandungan asam fitat ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan lama fermentasi, inokulum dan jenis kedelai yang digunakan. Penurunan kandungan asam fitat selama proses fermentasi tempe dapat dipastikan oleh aktivitas fitase yang dihasilkan oleh jamur inokulum. Tabel 1 menunjukkan bahwa kedelai kukus tidak memiliki aktivitas fitase akan tetapi setelah kedelai kukus diinokulasi dengan jamur *Rhizopus spp* atau usar kemudian diinkubasikan maka tempe yang dihasilkan memiliki aktivitas fitase dan aktivitas fitase akan naik apabila waktu fermentasi diperpanjang namun sampai waktu tertentu aktivitas fitase turun (Tabel 3 dan 5).

Tempe yang dibuat dengan biakan murni *Rhizopus oligosporus* strain CT₁₁K₂ atau usar secara nyata kandungan asam fitatnya turun, meskipun setelah 40 jam fermentasi tidak ada beda nyata dari kedua sampel tempe.

Kandungan Fosfat Anorganik Kedelai, Hasil Antara dan Tempe

Tabel 1, 2 dan 3 menunjukkan kandungan fosfat anorganik kedelai, hasil antara dan tempe. Kandungan P_i kedelai turun dari 0,53 ± 0,02 menjadi 0,13 ± 0,02 mg/g BBK selama preparasi kedelai untuk tempe. Penurunan kandungan P kedelai sejalan dengan kenaikan kandungan P_i dalam air rendaman dan rebusan (Tabel 2). Kehilangan P_i selama perendaman, perebusan, pengupasan dan pengukusan terutama karena kelarutan P_i kedalam air yang digunakan untuk pengolahan. Tabel 3 dan 4 menunjukkan bahwa penurunan kandungan asam fitat selama fermentasi tempe disertai adanya kenaikan P_i yang mungkin disebabkan pemecahan asam fitat oleh fitase jamur.

Kandungan P_i kontrol (sampel yang ditambah antibiotik) dan sampel tanpa antibiotik adalah sama, sedangkan P_i kedelai sebelum dan sesudah fermentasi tempe menunjukkan perbedaan yang tidak nyata. Tabel 3 juga menunjukkan bahwa aktivitas fitase naik secara nyata selama fermentasi tempe dan hal ini sejalan dengan kenaikan kandungan P_i selama fermentasi tempe, ternyata tidak ekuivalen dengan penurunan kandungan asam fitat, hal ini kemungkinan disebabkan sejumlah P_i digunakan oleh jamur inokulum untuk metabolisme.

Kedelai yang difermentasi dengan *Rh. oligosporus* strain CT₁₁K₂ mempunyai kandungan P_i lebih tinggi daripada kedelai yang difermentasi dengan usar. Hal ini dapat dimungkinkan bahwa *Rh. oligosporus* strain

CT₁₁K₂ lebih banyak memproduksi fitase daripada jamur usar (Tabel 3). Usar adalah inokulum yang terdiri atas campuran mikrobia seperti jamur, bakteri dan yeast (Hadisepoetra *et al* (1979)) yang memungkinkan lebih banyak menggunakan P_i yang disebabkan untuk metabolisme daripada *Rh. oligosporus* strain CT₁₁K₂. Namun tidak tertutup pula adanya kemungkinan bahwa mikrobia seperti yeast dan bakteri dari usar memproduksi fitase yang dapat membebaskan P_i.

Kandungan Total P Kedelai, Hasil Antara dan Tempe

Hasil analisa kandungan total P disajikan dalam Tabel 2, 4 dan 5. Dari Tabel 2 dapat diperkirakan bahwa fitat-P kedelai berjumlah 62,3% dari total P yang ada. Hasil ini sedikit lebih rendah dari hasil yang pernah dilaporkan oleh Sutardi dan Buckle (1985) (69,8%) namun pada kisaran (60 — 90%) seperti yang pernah dilaporkan oleh beberapa peneliti terdahulu (Graf 1986) untuk beberapa jenis kacang-kacangan. Sedangkan fitat-P kedelai yang telah dipersiapkan untuk tempe dan tempe sendiri sebesar 49,5 dan 34% dari total P (Tabel 4).

Perbedaan proporsi antara fitat-P terhadap total P kemungkinan disebabkan oleh perbedaan jenis kedelai. Sebagaimana dilaporkan oleh Lolos dan Markakis (1975) bahwa 90% dari asam fitat dalam jenis kacang-kacangan adalah larut dalam air. Oleh sebab itu beberapa tahap penyiapan kedelai untuk tempe mempunyai pengaruh turunnya kandungan fitat-P dan total P. Hal ini dapat dilihat dari besarnya kandungan fitat-P dan total P dalam air rendaman dan rebusan (0,41 ± 0,02 dan 0,45 ± 0,04 mg/ml)(Tabel 2). Penurunan kandungan total P selama fermentasi tempe disebabkan pemecahan asam fitat oleh fitase jamur (Tabel

4). Tabel 4 juga menunjukkan bahwa penurunan total P karena aktivitas fitase sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan penurunan total P sebagai akibat perlakuan fisikawi seperti perendaman dan perebusan (Tabel 2). Kandungan total P pada kontrol tidak berubah secara nyata selama perlakuan kedelai sebelum fermentasi, kecuali pada perendaman. Perbedaan kandungan total P secara nyata antara kontrol dan sampel terjadi pada perendaman dan perebusan (Tabel 2).

Pengaruh Penyimpanan pada Kandungan Asam Fitat, P, Total P dan Aktivitas Fitase Tempe

Pengaruh penyimpanan terhadap kandungan asam fitat tempe disajikan pada Tabel 5. Kandungan asam fitat tempe turun dengan bertambahnya lama penyimpanan baik pada suhu 5°C atau 30°C dan penurunan kandungan asam fitat berlangsung cepat pada awal penyimpanan pada suhu 30°C. Hal ini merupakan petunjuk bahwa fermentasi tempe masih berlangsung pada kedua kondisi penyimpanan. Setelah 2 minggu penyimpanan pada suhu 5°C, penurunan kandungan asam fitat sebesar 61 dan 59% untuk tempe yang dibuat dengan biakan murni *Rh. oligosporus* strain CT₁₁K₂ dan usar. Sementara itu setelah penyimpanan 2 hari pada suhu 30°C maka kandungan asam fitat tempe turun sebesar 50 dan 45% untuk kedua jenis tempe tadi. Setelah penyimpanan 3 minggu pada suhu 5°C atau setelah 3 hari pada suhu 30°C maka kecepatan penurunan kandungan asam fitat menjadi lambat, hal ini sejalan dengan penurunan aktivitas fitase. Pada saat ini penurunan kandungan asam fitat mencapai 69 dan 72% untuk kedua jenis tempe yang disimpan pada suhu 5°C dan turun 59% untuk kedua jenis tempe yang disimpan pada suhu 30°C.

Penurunan kandungan asam fitat tempe

selama penyimpanan terbukti disebabkan oleh aktivitas fitase yang dihasilkan oleh jamur inokulum, oleh karena kedelai sebelum diinokulasi atau difermentasi sama sekali tidak memiliki aktivitas fitase (Tabel 1 dan 2). Aktivitas fitase naik secara nyata sampai 2 minggu penyimpanan pada suhu 5°C dan 2 hari penyimpanan pada suhu 30°C. Setelah periode waktu penyimpanan tersebut di atas aktivitas fitase turun secara nyata untuk tempe yang dibuat dengan *Rh. oligosporus* strain CT₁₁K₂, sedangkan aktivitas fitase tempe yang dibuat dengan usar penurunannya tidak nyata.

Penurunan asam fitat selama penyimpanan tempe sejalan dengan kenaikan kandungan P, sebagai hasil pemecahan asam fitat oleh fitase. Sekali lagi bahwa kenaikan kandungan P, tempe yang dibebaskan oleh fitase jamur tidak ekuivalen dengan berkurangnya kandungan asam fitat tempe, oleh karena ada kemungkinan sejumlah P, digunakan kembali oleh jamur untuk metabolisme (Tabel 5). Pengaruh penyimpanan terhadap total P ditunjukkan pada Tabel 5 dimana kandungan total P tempe yang dibuat dari *Rh. oligosporus* strain CT₁₁K₂ dan usar menurun secara nyata selama penyimpanan 3 minggu pada suhu 5°C atau 3 hari pada suhu 30°C.

Pengaruh Pemasakan pada Kandungan Asam Fitat dan Aktivitas Fitase Tempe

Pengaruh metode pemasakan tempe yaitu penggorengan dan perebusan terhadap kandungan asam fitat tempe segar dan tempe yang telah disimpan disajikan dalam Tabel 6. Kandungan asam fitat tempe segar yang dibuat dengan *Rh. oligosporus* strain CT₁₁K₂ atau usar turun sebesar 67 dan 72% setelah digoreng dalam minyak kedelai selama 2 — 3 menit, sedangkan perebusan menyebabkan penurunan kandungan asam fitat sebesar 70% dan 75%

untuk kedua jenis tempe segar. Perebusan ternyata lebih banyak menurunkan kandungan asam fitat tempe baik yang segar maupun yang telah disimpan apabila dibandingkan dengan proses penggorengan (Tabel 6), hal ini mungkin disebabkan karena perebusan lebih bersifat ekstraksi senyawa yang bersifat larut dalam air termasuk asam fitat daripada proses penggorengan yang lebih bersifat memecah asam fitat karena panas. Penggorengan dan perebusan dapat menurunkan kandungan asam fitat sebesar 55 dan 61% untuk tempe yang dibuat dengan biakan murni setelah disimpan 3 minggu pada suhu 5°C, dan penurunan sebesar 58 dan 63% untuk tempe yang dibuat dengan usar dan disimpan selama 3 minggu pada suhu 5°C. Penurunan kandungan asam fitat juga terjadi pada penggorengan dan perebusan kedua jenis tempe yang disimpan 3 hari pada suhu 30°C (Tabel 6). Setelah penggorengan dan perebusan, penurunan kandungan asam fitat tempe yang disimpan 3 minggu pada suhu 5°C adalah lebih besar dibandingkan dengan tempe yang disimpan 3 hari pada suhu 30°C. Kedua jenis tempe yang disimpan selama 3 minggu pada suhu 5°C yang selanjutnya digoreng atau direbus mempunyai kandungan asam fitat yang relative rendah yang berarti meningkatkan nilai gizi dan aseptabilitas tempe. Fitase jamur tempe menjadi tidak aktif karena proses penggorengan dan perebusan, oleh sebab itu hasil pengamatan menunjukkan bahwa tempe goreng dan rebus tidak memiliki aktivitas fitase.

Kesimpulan

Penurunan kandungan asam fitat selama pembuatan tempe dapat disebabkan oleh perlakuan fisis seperti perendaman dan perebusan dan oleh kegiatan enzim fitase

endogen biji kedelai dan fitase yang dihasilkan oleh kontaminan seperti yeast dan bakteri selama berlangsungnya proses perendaman serta oleh enzim fitase yang dihasilkan oleh jamur tempe yang berlangsung selama fermentasi.

Penurunan asam fitat selama penyimpanan tempe utamanya disebabkan oleh aktivitas fitase jamur tempe, sedangkan selama pemasakan tempe, penurunan kandungan asam fitat semata-mata disebabkan oleh perlakuan fisis seperti perebusan dan penggorengan.

Besarnya penurunan kandungan asam fitat selama penyiapan, penyimpanan dan pemasakan tempe mencapai 95% atau dari 10,39 mg/g bbk pada kedelai kering turun menjadi 0,51 — 0,68 mg/g bbk untuk kedua jenis tempe setelah penyimpanan kemudian digoreng atau direbus.

Daftar Pustaka

- Chang, R., Schwimmer, S. and Burr, H.K. Phytate: Removal from whole dry beans by enzymatic and diffusion. *J. Food Sci.* 42: 1098 — 1011; 1977.
- Graf, E. Application of phytic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 60: 1861 — 1867; 1983.
- Graf, E. Phytic acid: Chemistry and application. Minneapolis: Pilatus Press; 1986: 343 pp.
- Hadiseptetro, E.S.S., Takada, N. and Oshima, Y. Microflora in ragi and usar. *J. Ferment. Technol.* 57: 251 — 259; 1979.
- Harland, B.F. and Oberleas, D. Anion-exchange method for determination of phytate in foods: Collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 69: 667 — 670; 1986.

- Kuvaeva, E.B. and Kretovich, V.L. Phytase of germinating pea seeds. *Soviet Plant Physiol.* 25: 290—295; 1978.
- Lolas, G.M. and Markakis, P. The phytase of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Food Sci.* 42: 1094—1106; 1977.
- Lopez, Y., Gordon, D.T. and Fields, M.L. Release of phosphorus from phytate by natural lactic acid fermentation. *J. Food Sci.* 48: 953—954; 1983.
- Majumder, A.L., Mandal, N.C. and Biswas, B. Phosphoinositol kinase from germinating mung bean seeds. *Phytochemistry* 11: 503—508; 1972.
- Mandal, N.C. and Biswas, B.B. Metabolism of inositol phosphates. 1. Phytase synthesis during germination in cotyledons of mung beans (*Phaseolus aureus*) *Plant. Physiol.* 45: 4—7; 1970.
- Okubo, K., Waldrop, A.D., Iacobucci, G.A. and Myers, D.V. Preparation of low phytate soybean protein isolate and concentrate by ultrafiltration. *Cereal Chem.* 52: 263—271; 1975.
- Pon, W.A. and Guthrie, J.D. Determination of inorganic phosphorus in plant materials. *Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.)* 18: 184—190; 1946.
- Saio, K., Koyama, E. and Watanabe, T. protein-calcium phytic acid relationship in soybean. II. Effect of calcium and phosphorus on solubility characteristics of soybean meal protein. *Agric. Biol. Chem.* 31: 1195—1200; 1967.
- Shurtleff, W. and Aoyagi, A. *The book of tempe*. New York: Harper and Row; 1979: 245 pp.
- Steinkraus, H., Culle, R.E., Pederson, C.S., Nellis, L.F. and Gavitt, B.K. *Handbook of indigenous fermented foods*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1983: 6—87.
- Sudarmadji, S. and Markakis, P. The Phytate and phytate of soybean tempeh. *J. Sci. Food Agric.* 28: 381—383; 1977.
- Sutardi and Buckle, K.A. Phytic acid changes in soybeans fermented by traditional inoculum and six strains of *Rhizopus oligosporus*. *J. Appl. Bacteriol.* 38: 539—543; 1985.
- Tabekhia, M.M. and Luh, B.S. Effect of germination cooking and canning on phosphorus and phytate retention in dry beans. *J. Food Sci.* 45: 406—408; 1980.
- Van der Riet, W.B., Wighat, A., Cilliers, J.J.L. and Datel, J.M. Food chemical analysis of tempeh prepared from South African-grown soybeans. *Food Chem.* 25: 197—206; 1987.
- Walker, K.A. Changes in phytic acid and phytase during early development of *Phaseolus vulgaris*. *Planta* 116: 91—98; 1974.
- Watanabe, E.S. and Olsen, S.R. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus in water and NaHCO_3 ekstrak from soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 29: 677—678; 1965.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada ADAB (Australian Development Assistance Bureau) yang telah memberikan dana penelitian dan Prof. K. A. Buckle, UNSW yang telah memberikan bimbingan.

Tabel 1. Rata-rata (\pm s.d.)^{*} kandungan asam fitat dan aktivitas fitase kedelai selama penyiapan untuk tempe

Sampel	Asam fitat (mg/g BBK) ⁺		Aktifitas fitase (μ mole P/menit/ml enz.) ⁺	
	Ditambah Antibiotik [#]	Tanpa Antibiotik	Ditambah Antibiotik [#]	Tanpa Antibiotik
Kedelai kering	10.39 \pm 0.04 ^a	10.39 \pm 0.04 ^a	0.04 \pm 0.01 ^a	0.04 \pm 0.01 ^a
Setelah perendaman	10.06 \pm 0.09 ^b	9.61 \pm 0.04 ^b	0.06 \pm 0.01 ^b	0.06 \pm 0.01 ^b
Setelah perebusan	9.36 \pm 0.04 ^c	8.73 \pm 0.05 ^c	0	0 [@]
Setelah pengupasan	8.42 \pm 0.04 ^d	8.46 \pm 0.04 ^d	0	0
Setelah pengukusan	8.30 \pm 0.04 ^e	8.38 \pm 0.06 ^e	0	0
Kulit		0.66 \pm 0.02		
Air rendaman	0.04 \pm 0.00 ^{**}	0.20 \pm 0.02	0.01 \pm 0.01	0.01 \pm 0.01
Air rebusan	0.15 \pm 0.02	0.15 \pm 0.02		

^{*} Diperoleh dari 3 kali percobaan

⁺ Perbedaan ditentukan dengan t-test.

Data dalam kolom dengan tanda huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata pada $P < 0.05$.

[#] Campuran antibiotik (300 mg/kg dari oxytetracycline, penicillin, streptomysin dan cycloheximide) ditambahkan kedalam air rendaman.

[@] Tidak ada aktivitas phytase.

^{**} (mg/ml)

Tabel 2. Rate-rata (\pm s.d.)^{*} kandungan asam fitat, fosfat anorganik dan total P kedelai selama penyediaan untaik tempo

Sampel	Asam phytat (mg/g BBK) +			P anorganik (mg/g BBK) +			Total P (mg/g BBK) [*]		
	Ditambah Antibiotik #	Tempa Antibiotik	Tingkat Signifi-kansi	Ditambah Antibiotik	Tempa Antibiotik	Tingkat Signifi-kansi	Ditambah Antibiotik	Tempa Antibiotik	Tingkat Signifi-kansi
Kedelai kering	10.39 \pm 0.04a	10.39 \pm 0.04a	tb	0.53 \pm 0.02a	0.53 \pm 0.02a	tb	4.70 \pm 0.02a	4.70 \pm 0.02a	tb
Setelah perendaman	10.06 \pm 0.09b	9.61 \pm 0.04b	0.0005	0.43 \pm 0.02b	0.44 \pm 0.01b	0.0005	4.47 \pm 0.01b	4.66 \pm 0.04b	tb
Setelah perubasan	9.36 \pm 0.04c	8.73 \pm 0.05c	0.0005	0.29 \pm 0.01c	0.31 \pm 0.01c	0.10	4.63 \pm 0.02c	4.63 \pm 0.02c	tb
Setelah pengupasan	8.42 \pm 0.04d	8.46 \pm 0.04d	tb	0.14 \pm 0.01d	0.14 \pm 0.02d	tb	4.60 \pm 0.01c	4.54 \pm 0.04d	0.05
Setelah pengukusan	8.30 \pm 0.04e	8.38 \pm 0.06e	tb	0.12 \pm 0.01d	0.13 \pm 0.02d	0.10	4.58 \pm 0.02c	4.53 \pm 0.03d	0.000
Kulit		0.66 \pm 0.02		0.04 \pm 0.01	0.04 \pm 0.02		0.85 \pm 0.02	0.79 \pm 0.02	
Air rendaman	0.04 \pm 0.00 ^{**}	0.20 \pm 0.02 ^{**}		0.12 \pm 0.02 ^{**}	0.11 \pm 0.01 ^{**}		0.40 \pm 0.01 ^{**}	0.40 \pm 0.02 ^{**}	
Air rebusan	0.15 \pm 0.02	0.15 \pm 0.02		0.30 \pm 0.02	0.30 \pm 0.02		0.45 \pm 0.02	0.45 \pm 0.04	

^{*} Diperoleh dari 3 kali percobaan

Asam fitat (mg/g BBK) \times 28,2/100 = fitat-p.

+ Perbedaan ditentukan dengan t-test.

Data dalam kolom dengan tanda huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada P 0,05, sedangkan data diantara kolom tingkat perbedaan ditunjukkan dalam tabel

Campuran antibiotik (300 mg/kg oxytetracycline, penicillin, streptomycin dan cycloheximide) ditambahkan kedalam air.
^{**} (mg/ml)

Tabel 3. Rata-rata (\pm s.d.) kandungan asam fitat, fitat-P dan aktivitas fitase selama fermentasi tempo pada suhu 30°C

Sampel Tempo	Waktu Inkubasi (Jam)	Asam fitat (mg/g BBK) +			Fitat-P (mg/g BBK)			Aktivitas Fitase (umol P/menit/ml enzim)			
		Ditambah Antibiotik#	Tanpa Antibiotik	P < 0.005	Ditambah Antibiotik	Tanpa Antibiotik	P < 0.0005	Ditambah Antibiotik	Tanpa Antibiotik	P < 0.005	
Dibuat dengan <i>Rh. oligosporus</i> strain CT11K2	0	8.30 \pm 0.04a	8.38 \pm 0.06a	2.34 \pm 0.01a	2.36 \pm 0.02a	0 ^⓪	0a	0.01 \pm 0.00a	0.01 \pm 0.01b	0	0.04 \pm 0.01b
	12	8.27 \pm 0.05a	6.12 \pm 0.02b	2.33 \pm 0.02a	1.73 \pm 0.01b	0	0	0.04 \pm 0.01b	0.04 \pm 0.01b	0	0.09 \pm 0.01c
	24	7.97 \pm 0.02b	5.50 \pm 0.04c	2.25 \pm 0.01b	1.55 \pm 0.01c	0	0	0.14 \pm 0.01d	0.09 \pm 0.01c	0	0.14 \pm 0.01d
	36	7.86 \pm 0.06c	5.12 \pm 0.06d	2.23 \pm 0.02c	1.44 \pm 0.01d	0	0	1.38 \pm 0.01e	0.14 \pm 0.01d	0	0.14 \pm 0.01d
40	7.80 \pm 0.04c	4.89 \pm 0.04e	2.20 \pm 0.01d	1.38 \pm 0.01e	0	0	P < 0.0005	P < 0.0005	0	P < 0.005	
Dibuat dengan inokulum tradisional (usar)	0	8.30 \pm 0.04a	8.38 \pm 0.06a	2.34 \pm 0.01a	2.36 \pm 0.02a	0	0a	0.02 \pm 0.01b	0.02 \pm 0.01b	0	0.04 \pm 0.00c
	12	8.27 \pm 0.05a	6.04 \pm 0.08b	2.33 \pm 0.02a	1.70 \pm 0.10	0	0	0.04 \pm 0.00c	0.04 \pm 0.00c	0	0.08 \pm 0.02d
	24	7.97 \pm 0.02b	5.57 \pm 0.07c	2.25 \pm 0.01b	1.57 \pm 0.02c	0	0	0.13 \pm 0.02e	0.13 \pm 0.02e	0	0.13 \pm 0.02e
	36	7.86 \pm 0.06c	5.27 \pm 0.02d	2.23 \pm 0.02c	1.49 \pm 0.01d	0	0	P < 0.0005	P < 0.0005	0	P < 0.005
40	7.80 \pm 0.04c	4.98 \pm 0.06e	2.20 \pm 0.01d	1.40 \pm 0.02e	0	0	P < 0.0005	P < 0.0005	0	P < 0.005	

* Diperoleh dari 3 kali percobaan

+ Perbedaan ditentukan dengan analisa varian

Data dalam kolom dengan tanda huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada P yang tercantum

Campuran antibiotik (Lihat Tabel 1) ditambahkan pada kedelai yang dipersiapkan untuk tempe

⓪ Tidak ada aktivitas fitase

Tabel 4. Rata-rata (\pm s.d.)^{*} kandungan fitat-P, P anorganik dan total P tempe selama fermentasi pada suhu 30°C

Sampel Tempe	Waktu Inkubasi (Jam)	Fitat-P (mg/g BBK) [*]			P anorganik (mg/g BBK) +			Total P (mg/g BBK) +			Fitat-P (% total P)		
		Ditambah Antibiotik [#]	Tanpa Antibiotik	P < 0.0005	Ditambah Antibiotik	Tanpa Antibiotik	P < 0.05	Ditambah Antibiotik	Tanpa Antibiotik	P < 0.0025	Ditambah Antibiotik	Tanpa Antibiotik	Ditambah Antibiotik
Dibuat dengan <i>Rh. oligosporus</i> strain CT11K2	0	2.34 ± 0.01a	2.36 ± 0.02a	0.12 ± 0.01a	0.13 ± 0.02a	4.58 ± 0.02a	4.53 ± 0.01a	51	52				
	12	2.33 ± 0.02a	1.37 ± 0.01a	0.13 ± 0.02b	0.44 ± 0.01b	4.56 ± 0.02a	4.35 ± 0.01b	51	40				
	24	2.25 ± 0.01b	1.55 ± 0.01c	0.13 ± 0.01a	0.56 ± 0.01c	4.50 ± 0.01b	4.26 ± 0.03c	50	37				
	36	2.23 ± 0.02c	1.44 ± 0.01d	0.14 ± 0.01a	0.84 ± 0.01d	4.46 ± 0.01c	4.06 ± 0.02d	50	36				
	40	2.20 ± 0.01d	1.38 ± 0.01e	0.15 ± 0.01a	0.87 ± 0.02d	4.44 ± 0.02c	3.99 ± 0.01e	50	35				
		P < 0.05	P < 0.0005	P < 0.05	P < 0.025	P < 0.05	P < 0.0005						
Dibuat dengan inokulum tradisional (usar)	0	2.34 ± 0.01a	2.36 ± 0.02a	0.12 ± 0.01a	0.13 ± 0.02a	4.58 ± 0.02a	4.53 ± 0.01a	51	52				
	12	2.33 ± 0.02a	1.70 ± 0.03b	0.13 ± 0.02b	1.26 ± 0.02b	4.56 ± 0.02a	4.45 ± 0.02a	51	38				
	24	2.25 ± 0.01b	1.57 ± 0.02c	0.13 ± 0.01a	0.29 ± 0.01b	4.50 ± 0.01b	4.38 ± 0.02c	50	36				
	36	2.23 ± 0.02c	1.49 ± 0.01d	0.14 ± 0.01a	0.38 ± 0.02c	4.46 ± 0.01c	4.19 ± 0.01d	50	36				
	40	2.20 ± 0.01d	1.40 ± 0.02e	0.15 ± 0.01a	0.42 ± 0.02c	4.44 ± 0.02c	4.10 ± 0.02e	50	34				
		P < 0.05	P < 0.0005	P < 0.05	P < 0.025	P < 0.05	P < 0.0005						

* Diperoleh dari 3 kali percobaan

+ Perbedaan ditentukan dengan analisa variance

Data dalam kolom dengan tanda huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada harga P yang tercantum

Campuran antibiotik (Lihat Tabel 1) ditambahkan pada kedelai yang dipersiapkan untuk tempe.

Tabel 5. Rata-rata (\pm s.d.)^{*} kandungan asam fitat, P anorganik, total P dan aktivitas fitase selama penyimpanan tempe

Sampel Tempe	Kondisi + Penyimpanan	Asam Fitat + (mg/g BBK)	P anorganik + (mg/g BBK)	Total P* (mg/g BBK)	Aktivitas Fitase + (μ mole P./men/ml enz.)
Dibuat dengan <i>Rh. oligosporus</i> strain CT ₁₁ K ₂	0	4.89 \pm 0.04a	0.87 \pm 0.02a	4.25 \pm 0.05a	0.15 \pm 0.01a
	1 minggu, 5°C	2.33 \pm 0.02b	1.52 \pm 0.01b	3.78 \pm 0.01b	0.15 \pm 0.01a
	2 minggu, 5°C	1.93 \pm 0.03c	2.41 \pm 0.01c	3.53 \pm 0.03c	0.20 \pm 0.01b
	3 minggu, 5°C	1.51 \pm 0.01d	2.83 \pm 0.02d	3.42 \pm 0.02d	0.10 \pm 0.01c
	1 hari, 30°C	2.92 \pm 0.03e	1.04 \pm 0.01e	3.81 \pm 0.01e	0.01 \pm 0.01d
	2 hari, 30°C	2.41 \pm 0.02f	1.13 \pm 0.01f	3.58 \pm 0.01f	0.02 \pm 0.01d
	3 hari, 30°C	2.00 \pm 0.03g	1.80 \pm 0.03g	3.56 \pm 0.01f	0.01 \pm 0.00d
		P < 0.005	P < 0.005	P < 0.05	P < 0.10
Dibuat dengan inokulum tradisional (usar)	0	4.98 \pm 0.06a	0.42 \pm 0.02a	4.10 \pm 0.02a	0.12 \pm 0.01a
	1 minggu, 5°C	2.52 \pm 0.03b	1.66 \pm 0.03b	3.78 \pm 0.03b	0.13 \pm 0.01a
	2 minggu, 5°C	2.04 \pm 0.01c	2.47 \pm 0.02c	3.66 \pm 0.02c	0.17 \pm 0.01b
	3 minggu, 5°C	1.37 \pm 0.01d	2.56 \pm 0.02d	3.51 \pm 0.01d	0.10 \pm 0.00c
	1 hari, 30°C	3.28 \pm 0.02e	0.97 \pm 0.01e	3.90 \pm 0.03e	0.04 \pm 0.02d
	2 hari, 30°C	2.75 \pm 0.02f	1.30 \pm 0.02f	3.77 \pm 0.01b	0.04 \pm 0.01d
	3 hari, 30°C	2.05 \pm 0.02c	1.55 \pm 0.04g	3.69 \pm 0.02f	0.03 \pm 0.01d
		P < 0.005	P < 0.005	P < 0.05	P < 0.10

* Diperoleh dari 3 kali percobaan

+ Perbedaan ditentukan dengan analisa varian

Data dalam kolom dengan tanda huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada harga P tercantum.

Tabel 6. Rata-rata (\pm s.d.)^{*} kandungan asam fitat tempo segar dan tempo setelah disimpan selama proses pemakanan

Sampel Tempo	Kondisi Penyimpanan	Asam Fitat (mg/g BBK) [*]			Tingkat Signifikansi (P) [†]		Penurunan (%)	
		Mentah	Digerang	Direbus	Gerang	Rebus		
Dibuat dengan <i>Rh. oligosporus</i> strain CT11K2	0	4.89 \pm 0.04a	1.60 \pm 0.05b	1.49 \pm 0.05b	0.05	67	70	
	3 minggu, 5°C	1.51 \pm 0.03a	0.68 \pm 0.01b	0.59 \pm 0.02b	0.01	55	61	
	3 hari, 30°C	2.00 \pm 0.03a	1.23 \pm 0.02b	0.99 \pm 0.03c	0.005	39	51	
Dibuat dengan inokulum tradisional (usar)	0	4.89 \pm 0.06a	1.40 \pm 0.02b	1.27 \pm 0.01c	0.005	72	75	
	3 minggu, 5°C	1.37 \pm 0.02a	0.58 \pm 0.00b	0.51 \pm 0.02c	0.005	58	63	
	3 hari, 30°C	2.05 \pm 0.03a	1.16 \pm 0.02b	1.12 \pm 0.02b	0.05	43	45	

^{*} Diperoleh dari 3 kali percobaan

[†] Perbedaan ditentukan dengan analisa varian

Data dalam kolom dengan tanda huruf yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata pada harga P tercantum.