

# PENGARUH RATIO MOLAR FITAT: Zn PADA DIIT TEMPE TERHADAP PERTUMBUHAN DAN SPERMATOGENESIS

Mary Astuti

## ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai pengaruh ratio molar asam fitat: Zn dalam diit tempe terhadap pertumbuhan dan spermatogenesis. Sebagai hewan percobaan digunakan tikus putih jantan strain Wistar umur 21 hari. Untuk mendapatkan ratio molar yang bervariasi, digunakan tempe yang difermentasi selama 0, 36 dan 60 jam dan ditambahkan pula  $ZnSO_4$  sebanyak 7 ppm pada diit tempe tersebut. Hasil percobaan menunjukkan bahwa penambahan  $ZnSO_4$  dalam diit tempe meningkatkan nafsu makan dan berat badan tikus. Gambaran mikroskopik jaringan testis tikus yang diberi pakan tempe fermentasi 0, 36 dan 60 jam selama 28 hari dengan berbagai ratio molar fitat: Zn menunjukkan spermatogenesis dan berat organ testis yang normal. Penelitian ini menunjukkan bahwa diet tempe tidak berpengaruh negatif terhadap sistem reproduksi.

## PENDAHULUAN

Masalah penghambatan pertumbuhan tidak hanya disebabkan oleh karena kekurangan energi dan protein tetapi juga disebabkan karena dalam diit kekurangan mineral seng. Peranan mineral seng untuk pertumbuhan pertama kali dikemukakan oleh Raulin pada tahun 1896 (Mc. Collum, 1957) yaitu mineral seng sangat diperlukan bagi pertumbuhan jamur *Aspergillus niger*. Hubungan antara pertumbuhan dan kecukupan seng dalam diit pada manusia pertama kali dilaporkan oleh Prasad pada tahun 1961 (Prasad dkk., 1967).

Mineral seng yang tergolong dalam kelompok mineral mikro esensial mempunyai peranan yang sangat penting bagi kehidupan manusia. Seng merupakan komponen berbagai jenis enzim yang berperan dalam pertumbuhan dan fungsi seluler, seperti misalnya enzim polimerase yang berperan dalam metabolisme DNA dan RNA, karboksipeptidase A yang berperan dalam pencernaan protein, alkohol dehidrogenase yang berperan dalam metabolisme vitamin A, suksinat dehidrogenase yang berperan dalam perkembangan testis (Prasad, 1979). Seng di dalam tubuh terdistribusi pada berbagai jaringan, pada manusia dan tikus paling banyak terdapat dalam jaringan prostat (Underwood, 1977).

Penghambatan pertumbuhan oleh kekurangan seng dalam diit makanan tidak hanya berpengaruh pada pertumbuhan kearah linier saja tetapi berpengaruh pada ketidak-normalan pertumbuhan testis. Kasus tersebut dijumpai pada sekelompok pemuda yang hidup di delta

sungai Nil di beberapa desa di Iran, dimana dalam diit makanan mereka sehari-hari berupa roti yang masih banyak mengandung asam fitat karena pengolahan roti dilakukan tanpa proses fermentasi. Kadar asam fitat yang tinggi dalam roti menurunkan availabilitas seng (Prasad dkk., 1967).

Semenjak penemuan Prasad dkk pada tahun 1961, maka banyak dilakukan penelitian mengenai hubungan antara seng dengan hormon sex. Tikus yang mengalami kekurangan seng dalam diit mengakibatkan terjadinya *atrofi pada testis, rendahnya kadar seng dalam testis, testosteron dalam serum rendah*. Rendahnya kadar testosteron pada manusia dapat menimbulkan gangguan seperti impotensi, nafsu birahi menurun, hipertrofi kelenjar prostat dan spermatogenesis yang kurang sempurna dan lain sebagainya (Martin Muliawan, 1983).

Fitat atau inositol heksafosfat merupakan zat gizi sebagai sumber fosfor bagi tanaman dan sebagai zat antigitizi yang menghambat absorpsi mineral divalen di dalam usus halus manusia dan beberapa hewan. Berdasarkan atas kemampuannya mengikat timah hitam (Pb) fitat juga disebut sebagai zat anti racun dan disebut pula sebagai antioksidan karena mampu mengikat zat besi (Brooks and Moor, 1984; Wise, 1983; Empson dkk., 1991).

Proses pengolahan secara fermentasi telah banyak dibuktikan mampu menghasilkan enzim fitase yang dapat menghidrolisis asam fitat sehingga jumlah dan kemampuannya untuk mengikat mineral divalen berkurang (Sudarmadji and Markakis, 1977; Sanberg dkk., 1989). Dengan demikian fermentasi merupakan salah satu cara pengolahan yang dapat meningkatkan availabilitas mineral seperti pada mineral seng (Mulyopawiro dkk., 1988).

Tempe kedelai merupakan salah satu produk fermentasi kedelai yang banyak dikonsumsi oleh orang Indonesia, bahkan saat ini tempe cukup populer bagi kaum vegetarian. Walaupun proses fermentasi tempe telah mampu menurunkan kandungan asam fitat namun bagaimana pengaruh ratio molar fitat: Zn yang ada dalam tempe tersebut terhadap pertumbuhan secara normal masih perlu dikaji secara mendalam, mengingat bahwa hambatan pertumbuhan tidak hanya disebabkan oleh adanya fitat yang menurunkan availabilitas seng te-

tapi yang penting adalah ratio molar fitat dengan seng tersebut seperti yang dikemukakan oleh Morris dan Ellis, pada tahun 1983.

## BAHAN DAN CARA PENELITIAN

### 1. Bahan

Bahan dasar penelitian adalah kedelai lokal varietas wilis yang diperoleh dari balai benih di Wonosari kabupaten Gunung Kidul. Inokulum tempe sebagai sumber jamur diperoleh dari Primkopti DIY. Bahan kimia yang dipergunakan dalam analisis adalah bahan kimia dengan merk BDH dan Merck. Tikus putih jantan (*Ratus-ratus Norwegius*) strain Wistar umur sapih diperoleh dari laboratorium hewan percobaan (UPHP) UGM.

### 2. Cara Penelitian

#### a. Pembuatan Tempe dan Tepung Tempe

Kedelai yang telah bersih direndam dalam aquades bebas ion dengan perbandingan 1 bagian kedelai dengan 3 bagian air, selama 24 jam, kemudian direbus selama 30 menit. Kedelai dikupas kulitnya kemudian dilakukan perendaman yang kedua dalam aquades bebas ion selama 24 jam. Selanjutnya kedelai dikukus selama 60 menit, ditiriskan dan didinginkan. Setelah suhu kedelai menca-

pai  $\pm 30^{\circ}\text{C}$ , diinokulasi dengan inokulum tempe sebanyak 2 g/kg kedelai. Kedelai dimasukkan dalam Petri dish dan difermentasikan pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 0, 36, dan 60 jam. Tempe yang dihasilkan dikukus selama 5 menit, diperkecil ukurannya dalam superblender, kemudian dikeringkan dalam freeze dryer dalam suhu  $-60^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam. Tempe yang telah kering ditepungkan dan disaring menggunakan ayakan 45 mesh. Tepung tempe yang diperoleh siap dipakai untuk analisis kimia maupun pembuatan pakan.

#### b. Percobaan dengan Hewan

Tiga puluh lima ekor tikus putih jantan strain Wistar umur sapih masing-masing dimasukkan dalam kandang steinlesteel. Selama 5 hari semua tikus diberi pakan standar untuk penyesuaian. Pada akhir masa penyesuaian tikus ditimbang beratnya dan dibagi menjadi 6 kelompok dan diberi pakan diit tempe dengan variasi ratio molar asam fitat: Zn yang berbeda-beda seperti yang terlihat dalam susunan pakan (Tabel 1). Untuk mendapatkan ratio molar fitat: Zn yang berbeda pada kelompok II, IV dan VI ditambahkan  $\text{ZnSO}_4$ . Percobaan dilakukan selama 28 hari, jumlah pakan yang dikonsumsi setiap hari dicatat, setiap minggu dilakukan penimbangan berat badan tikus. Pada akhir percobaan tikus dibunuh, abdomen dibuka kemudian testis diamobil dan ditimbang dan dibuat preparat jaringan testis untuk mengetahui spermatogenesisnya.

Tabel 1. Komposisi diit, g/kg

Macam	A	I	II	III	IV	V	VI
Kasein	200	-	-	-	-	-	-
Kedelai	-	417	417	-	-	-	-
Tempe	--	-	-	411	411	402	402
Minyak jagung	50	-	-	-	-	-	-
Camp. Mineral	35	25	25**	22	22**	18	18**
Camp. Vitamin	10	10	10	10	10	10	10
Serat	50	1	1	2	2	2	2
DL mentionin	3	3	3	3	3	3	3
Sukrosa	200	200	200	200	200	200	200
Pati jagung	452	344	344	352	352	365	365
Protein, %	21,0	21,92	21,57	21,16	21,08	21,15	20,92
Zn, ppm*	20	27	33	29	36	27	34

\* : Hasil analisis; \*\* ditambah  $\text{ZnSO}_4$  7mg

A : Pakan standard

I : Tempe fermentasi 0 jam, ratio molar fitat: Zn = 14:1

II : Tempe fermentasi 0 jam, ratio molar fitat: Zn = 12:1

III : Tempe fermentasi 36 jam ratio molar fitat: Zn = 9:1

IV : Tempe fermentasi 36 jam ratio molar fitat: Zn = 7:1

V : Tempe fermentasi 60 jam ratio molar fitat: Zn = 5:1

VI : Tempe fermentasi 60 jam ratio molar fitat: Zn = 4:1

### c. Analisis Kimia

Analisis yang dilakukan pada tepung tempe meliputi analisis kadar air, protein, lemak, abu, serat kasar (AOAC, 1984), asam fitat (Wheeler and Ferrel, 1971), seng dianalisis dengan metoda AAS setelah dilakukan digesti basah menggunakan asam nitrat-perklorat (Gordon and Robert, 1977).

### d. Analisis Jaringan Testis

Analisis jaringan testis tikus dilakukan dengan fiksasi jaringan dalam larutan formalin 10% dan dilakukan *embedding* dalam parafin diikuti pemotongan dan dilakukan pengecatan menggunakan hematoksilin-eosin.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

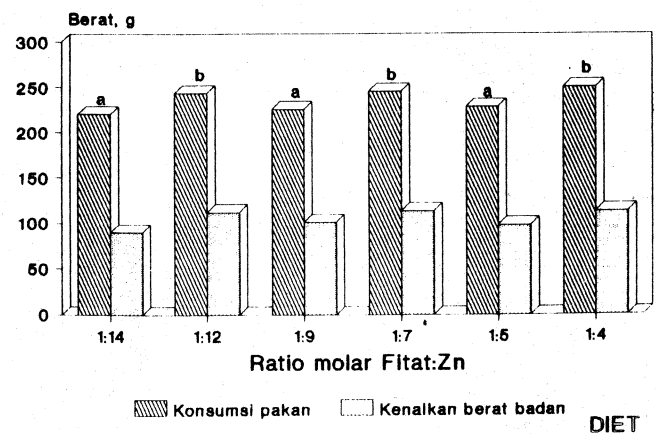
### 1. Konsumsi Pakan dan Pertumbuhan Tikus

Pertumbuhan tikus dinyatakan sebagai kenaikan berat badan selama 28 hari percobaan. Jumlah konsumsi pakan dan kenaikan berat badan yang terdapat dalam Gambar 1 menunjukkan bahwa pada diit makanan yang ditambah dengan seng meningkatkan nafsu makan tikus yang ditunjukkan oleh semakin banyaknya makanan yang dimakan. Pada kelompok II, IV, dan VI dengan ratio molar fitat: Zn sebesar 12:1, 7:1 dan 4:1 jumlah pakan yang dikonsumsi lebih banyak daripada kelompok I, III, dan V yang mempunyai ratio molar fitat: Zn sebesar 14:1, 9:1 dan 5:1. Hasil analisis kimia menunjukkan bahwa kandungan seng dalam diit dengan ratio molar 12:1, 7:1 dan 4:1 sebesar 33, 36 dan 34 ppm sedangkan kandungan seng dalam diit dengan ratio molar fitat: Zn 14:1, 9:1, dan 4:1 sebesar 27, 29, dan 27 ppm. Menurut Underwood (1977) mineral seng mempunyai peranan untuk meningkatkan nafsu makan sehingga apabila jumlah mineral seng dalam diit lebih besar maka nafsu makannya meningkat.

Peningkatan nafsu makan tikus terlihat pada kelompok II yang mempunyai ratio molar 12:1 konsumsi pakan sebesar 243,65 g dibandingkan dengan kelompok I dengan ratio molar 14:1, jumlah pakan yang dikonsumsi sebesar 220,45 g. Kedua kelompok tikus tersebut diberi pakan dengan sumber protein yang sama yaitu tempe yang difermentasi 0 jam dengan kandungan fitat yang sama, tetapi berbeda kandungan mineral sengnya. Tikus yang diberi pakan dengan sumber protein tempe yang difermentasi 36 jam terlihat pula bahwa jumlah pakan yang dikonsumsi pada kelompok IV dengan ratio molar fitat: Zn 7:1 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok III yang mempunyai ratio molar 9:1. Pada

kelompok III jumlah pakan yang dikonsumsi sebesar 225,75 g dan pada kelompok IV sebesar 245,35 g. Konsumsi pakan pada kelompok V dan VI yaitu kelompok tikus yang diberi pakan dengan sumber protein tempe fermentasi 60 jam dengan ratio molar fitat: Zn sebesar 5:1 dan 4:1. Pada kelompok VI jumlah pakan yang dikonsumsi sebesar 250,33 g sedangkan pada kelompok V yang tidak ditambah seng konsumsi pakan sebanyak 228,67 g.

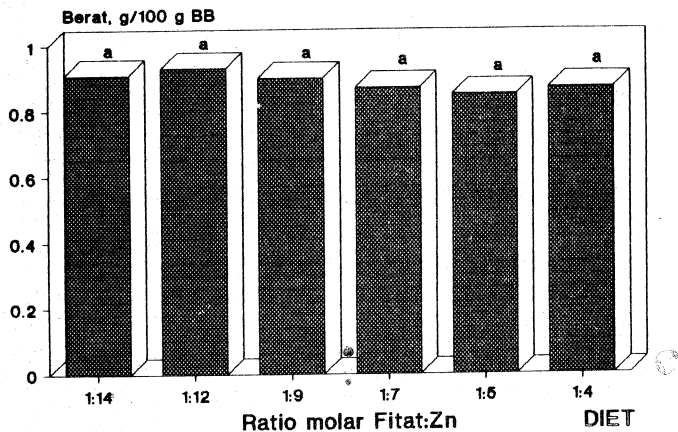
Kenaikan berat badan untuk setiap ekor tikus pada kelompok I, II, III, IV, V dan VI yang mempunyai ratio molar fitat: Zn berturut-turut sebesar 14:1, 12:1, 9:1, 7:1, 5:1, dan 4:1 adalah sebesar 90, 90, 112, 101, 113, 98, dan 113 g. Pada hasil kenaikan berat badan tersebut terlihat bahwa pada ratio molar 12:1, 7:1, dan 4:1 sedikit lebih tinggi daripada kelompok tikus yang diberi pakan dengan ratio molar 14:1, 9:1, dan 5:1. Hal ini erat kaitannya dengan jumlah pakan yang dikonsumsi. Untuk menghindari dari pengaruh jumlah pakan yang dikonsumsi maka kenaikan berat badan juga dihitung berdasarkan atas kenaikan berat (g) untuk setiap satuan berat pakan (g) yang dikonsumsi yaitu sebesar 0,408 g, 0,459 g, 0,447 g, 0,460 g, 0,428 g, dan 0,451 g berturut-turut untuk kelompok ratio molar fitat:Zn 14:1, 12:1, 9:1, 7:1, 5:1, dan 4:1.



Gambar 1. Konsumsi pakan dan berat badan tikus. Hasil rata-rata dari 6 ekor tikus pada tiap kelompok. Tanda huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata.

Hasil penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan Oberleas (1983) yang mendapatkan bahwa semakin kecil ratio molar fitat: Zn semakin besar kenaikan berat badan tikus. Perbedaan hasil penelitian ini disebabkan karena adanya perbedaan pada kandungan Zn dalam diit. Pada penelitian Oberleas, semakin rendah ratio fitat: Zn semakin banyak jumlah Zn dalam diit yaitu untuk ratio fitat/Zn 26,1, 5,7, dan 3,2 kandungan seng berturut-turut sebesar 15, 70, dan

125 ppm sedangkan jumlah fitatnya masing-masing sebesar 0,4%. Pada penelitian ini kandungan Zn pada kelompok tikus dengan ratio molar 12:1, 7:1, dan 4:1 hampir sama yaitu sebesar 33, 36, dan 34 ppm sedangkan pada diit dengan ratio molar 14:1, 9:1, dan 5:1 sebesar 27, 29, dan 27 ppm. Dengan demikian pada penelitian ini bukan ratio molar fitat: Zn yang berpengaruh terhadap jumlah pakan yang dikonsumsi maupun kenaikan berat badan tetapi jumlah Zn dalam diit.



Gambar 2. Berat testis  
Hasil rata-rata dari masing-masing 6 ekor tikus.  
Tanda huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

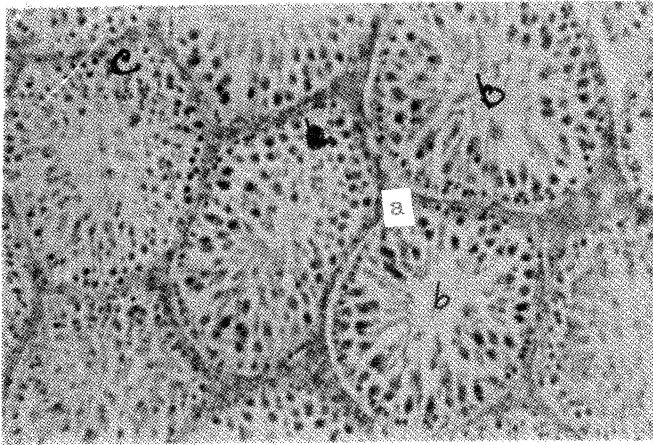
## 2. Berat Testis

Kecukupan seng berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangan sistem reproduksi yang dapat diketahui dari ukuran ataupun berat testis. Berat testis tikus pada berbagai kelompok perlakuan terdapat dalam Gambar 2. Berat testis rata-rata tikus yang diberi pakan dengan ratio molar yang berbeda-beda masih menunjukkan keadaan yang normal. Hal ini menunjukkan bahwa pengujian selama 28 hari tidak ada pengaruh yang nyata terhadap berat organ testis dari diit dengan ratio molar fitat: Zn yang berbeda-beda. Pada kelompok III ada satu ekor tikus percobaan yang hanya mempunyai satu testis sehingga apabila tikus ini diikuti sertakan dalam perhitungan rata-rata pada kelompok III maka rata-rata berat testis turun dari 0,9 g/100 g berat badan menjadi 0,67 g/100 g berat badan. Sebagaimana diketahui bahwa testis berkembang dalam *abdomen* pada embryo yang kemudian turun ke dalam sistem reproduksi (Ham, 1969). Pada tikus yang normal testis turun pada umur 3 minggu. Dengan demikian tidak turunnya testis pada salah satu anggota kelompok tikus tersebut bukan karena pengaruh diit yang diberikan, mengingat bahwa tikus yang dipakai sebagai hewan percobaan berumur 21

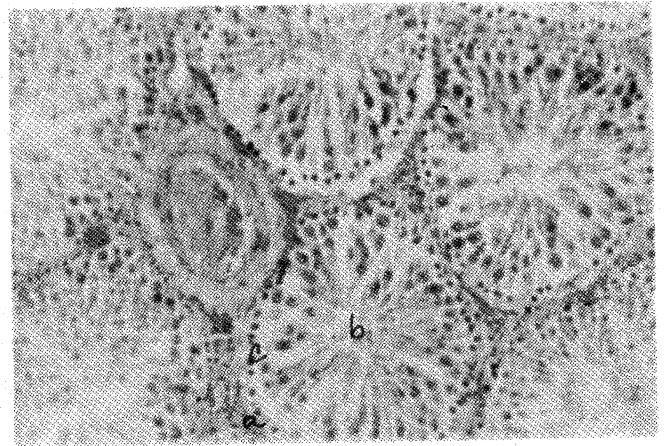
hari tetapi kemungkinan disebabkan oleh faktor yang lain. Turunnya testis dari *abdomen* ke dalam sistem reproduksi dipengaruhi oleh suhu. Normalnya, suhu di dalam sistem reproduksi lebih rendah daripada suhu badan. Apabila suhu tidak sesuai maka testis tidak turun. Oleh karena bukan karena faktor diit yang diberikan maka tikus yang tidak normal pada kelompok III tersebut tidak diikuti sertakan dalam perhitungan rata-rata berat testis.

## 3. Mikroskopik Jaringan Testis

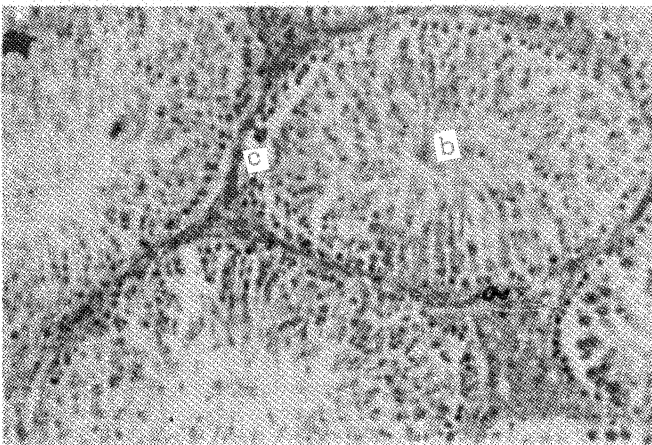
Gambaran mikroskopik jaringan testis terlihat pada Gambar no. 3 sampai dengan no. 8. Pada Gambar tersebut terlihat bahwa pada semua kelompok tikus terjadi proses spermatogenesis secara normal. Proses spermatogenesis yang merupakan proses perubahan spermatogonia menjadi spermatozoa pada masa puber terjadi mulai dari membran tubuli seminiferi ke arah lumen di dalam tubuli. Apabila proses spermatogenesis berlangsung dengan normal maka dalam lumen hanya terdapat spermatozoa yang bebas. Pada Gambar 3 sampai dengan 8 pada semua kelompok tikus masih terdapat spermatogonia pada daerah dekat membran tubuli seminiferi, hal ini menunjukkan bahwa proses spermatogenesis berlangsung secara terus menerus selama masih terjadi aktivitas seksual (Maximow dan Bloom, 1960). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsumsi tempe tidak berpengaruh negatif terhadap perkembangan sistem reproduksi. Tidak adanya pengaruh yang nyata pada semua kelompok tikus yang diberi diet tempe dengan berbagai ratio molar fitat:Zn, mungkin disebabkan karena waktunya kurang lama. Oleh karena itu perlu penelitian lebih lanjut dengan jangka waktu penelitian yang lebih lama dan ratio molar fitat:Zn yang lebih tinggi.



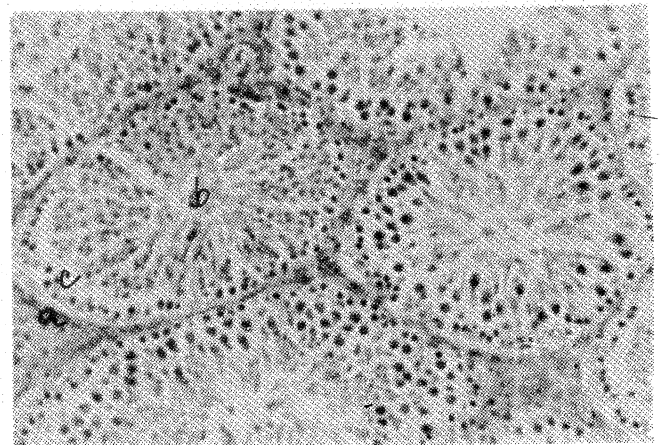
Gambar 3. Ratio molar Fitat:Zn 1:14



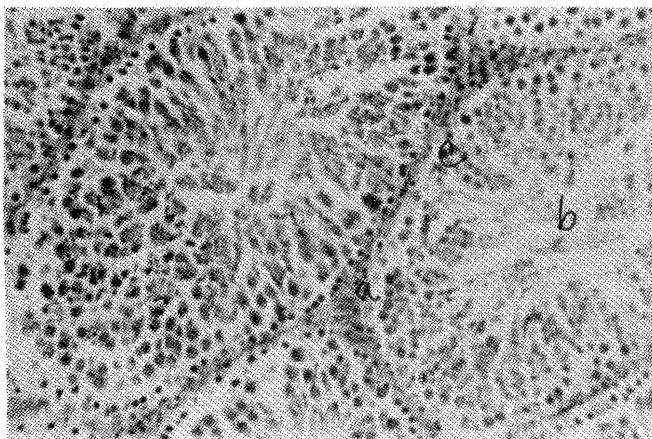
Gambar 4. Ratio molar Fitat:Zn 1:12



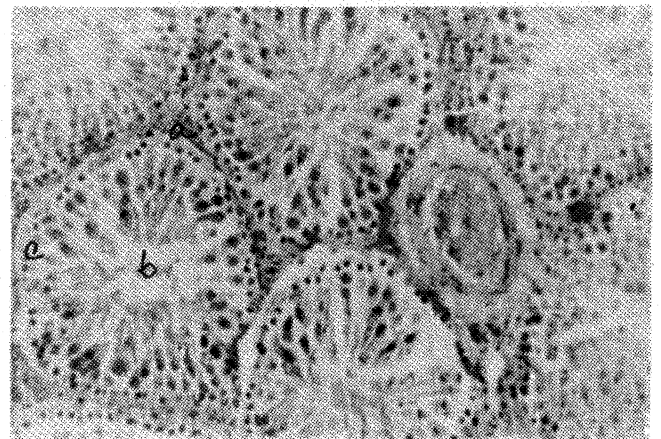
Gambar 5. Ratio molar Fitat:Zn 1:9



Gambar 6. Ratio molar Fitat:Zn 1:7



Gambar 7. Ratio molar Fitat:Zn 1:5



Gambar 8. Ratio molar Fitat:Zn 1:4

Gambar 3 - 8. Gambaran mikroskopis testis tikus  
Pengecatan dengan H & E, perbesaran 200 ×

a: membran      b: lumen      c: spermatogenia

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh disimpulkan bahwa ratio molar fitat:Zn pada semua diet yang diudji tidak berpengaruh negatif terhadap pertumbuhan maupun spermatogenesis testis. Peningkatan konsumsi pakan tikus disebabkan karena adanya penambahan seng sebanyak 7 ppm dalam diit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bukan ratio molar yang berpengaruh tetapi jumlah Zn dalam diit.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada PAU Pangan dan Gizi yang telah memberikan dana untuk penelitian, kepada Drh. Wasito Ph.D yang telah memberikan sumbang saran pada analisis mikroskopik jaringan testis dan juga kepada para teknisi di laboratorium Pangan dan Gizi FTP serta UPHP yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

## SUMBER ACUAN

- AOAC., 1984. Official Methods of Analysis, 1313 ed. Association of Official Analytical Chemist. Washington D.C.
- Brooks, J.R., and C.V. Morr, 1984. Phosphorous and phytate content of soybean protein components. *J. Agric. Food Chem* 32: 672 - 674.
- Empson, K.L., T.P. Labuza and E. Graf., 1991. Phytic acid as a food antioxidant. *J. Food Sci* 56(2): 560 - 563.
- Gordon, D.T., and G.L. Robert, 1977. Mineral and Proximate Composition of Pasific Coast Fish. *J. Agric Food Chem* 25:1262.
- Ham. A.W., 1969. Histology. 7<sup>th</sup>ed. J.B. Lippincott company, Philadelphia and Toronto. p. 900 - 928.
- Martin Muliawan, 1983. Ikhtisar Ringkasan vitamin dan Hormon Terpenting. Penerbit Djambatan. Hal. 67.
- Maximow, A.A., and W. Bloom., 1960. Histology. 6<sup>th</sup> ed. W.B. Saunders Company. p. 469 - 472.
- Mc. Collum, 1957. A History of Nutrition. Houghton Mifflin Company, Boston, p. 386.
- Morris, E.K., and R. Ellis., 1983. Dietary Phytate/Zinc Molar Ratio and Zinc Balance in Humans. Nutritional Bioavailability of Zinc. ACS Symposium Series. P 159 - 171.
- Mulyopawiro, S., M.L. Fields., and D. Gordon., 1988. Bio-availability of Zinc in Fermented Soybeans. *J. Food Sci* 53(2): 460 - 463.
- O'Dell, B.L., C.E. Burpo and J.E. Savage, 1972. Evaluation of zinc availability in foodstuffs of plant and animal origin. *J. Nutrition* 102: 653 - 660.
- Oberleas, D., 1983. The role of phytate in zinc bioavailability and homeostatis. *Am Chem Soc*: 145 - 157.
- Prasad, A.S., D. Oberleas, P. Wolf., and J.P. Horwitz, 1967. Studies on zinc deficiency: changes in trace elements and enzyme activities in tissue of zinc deficient rats. *J. Clin. Invest* 46: 549.
- Prasad, A.S., 1979. Zinc in human nutrition. CRC Press, Inc. Boca raton, Florida, p. 1 - 15.
- Sanberg, A.S., N.G. Carlsson., and U. Svanberg., 1989. Effects of inositol Tri-, Tetra-, Penta-, and Hexa phosphates on *In Vitro* Estimation of Iron Availability. *J. Food Sci* 54(1): 159 - 161.
- Sudarmadji, S., and P. Markakis., 1977. The Phytate and Phytase of Soybean Tempeh. *J. Sci. Food Agric.* 28: 381.
- Underwood, E.J., 1977. Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 4<sup>th</sup>ed. Academic Press. P. 197.
- Wheeler, E.L., and R.E. Ferrel., 1971. A Method for Phytic Acid Determination in Wheat and Wheat Fractions. *Cereal Chem.* 48: 312.