

AKTIVITAS FITASE PADA TAHAP-TAHAP PEMBUATAN TEMPE KARA BENGUK, KARA PUTIH DAN GUDE MENGGUNAKAN INOKULUM *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710

Sutardi*), Tranggono*) dan Hartuti**)

*)Staf Pengajar pada Jurusan TPHP, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

**)Alumni Jurusan TPHP, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Pada penelitian ini telah dikaji aktivitas fitase pada tahap-tahap pembuatan tempe kara benguk, kara putih dan gude menggunakan inokulum *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710.

Aktivitas optimum fitase kara benguk dan kara putih pada pH 4,8 dan suhu 60°C, sedangkan aktivitas optimum fitase gude pada pH 5,0 dan suhu 50°C.

Aktivitas fitase kara benguk turun setelah perendaman 24 jam, dan mulai awal fermentasi hingga fermentasi 48 jam aktivitasnya naik dari 1,45 menjadi 135,64 μ mol Pa/menit/ml enzim atau terdapat kenaikan sebesar 94 kali. Kadar asam fitatnya turun sebesar 54% atau turun dari 0,37 menjadi 0,17% (bk).

Aktivitas fitase kara putih turun setelah perendaman 24 jam dan pada awal fermentasi hingga fermentasi 24 jam aktivitasnya naik, kemudian turun kembali setelah fermentasi 36 jam. Kadar asam fitatnya turun sebesar 87% atau turun dari 2,59 menjadi 0,34% (bk).

Fitase gude selama perendaman 24 jam tidak aktif karena perendaman gude dilakukan setelah perebusan. Namun demikian aktivitas fitase gude naik selama berlangsungnya fermentasi yaitu dari 0 menjadi 223,52 μ mol Pa/menit/ml enzim dan kadar asam fitat selama pembuatan tempe gude turun dari 0,45 menjadi 0,17% (bk) atau turun sebesar 63%.

PENDAHULUAN

Kara benguk, kara putih dan gude merupakan kacang-kacangan sumber protein nabati yang belum banyak dimanfaatkan untuk pemenuhan gizi makanan khususnya protein. Menurut Reddy dkk., (1978), Tabekhia dan Luh (1980) kacang-kacangan mengandung asam fitat [(mio-inositol 1,2,4,5,6-heksakis (dihidrogen fosfat)] yang berperanan sebagai senyawa anti gizi. Graf (1983) menyatakan bahwa kadar asam fitat biji gude dan biji kara berturut-turut 0,9 dan 2,5% (bk). Di alam asam fitat berikatan dengan logam membentuk "kelat" yang bersifat tidak larut. Selain mengikat ion logam, asam fitat juga berikatan dengan protein membentuk senyawa kompleks yang tidak larut (Reddy dan Salunkhe, 1980). Terbentuknya senyawa fitat-mineral dan fitat-protein menyebabkan turunnya ketersediaan mineral dan protein bagi tubuh dan

dengan demikian akan menurunkan nilai gizi produk pangan yang bersangkutan.

Pada kondisi tertentu asam fitat dapat dihilangkan melalui proses hidrolisis enzimatis oleh aktivitas fitase. Fitase atau mio-inositol heksakisfosfat fosfohidrolase (EC 3.1.3.8/ EC 3.1.3.26) merupakan salah satu enzim yang dapat membebaskan fosfor anorganik dari senyawa fosfat (Suzuki dkk., 1907; Peers, 1953) dan menghidrolisis asam fitat menjadi inositol dan orthofosfat (Peers, 1953; Sudarmadji dan Markakis, 1977). Fitase selain dijumpai pada tanaman, juga pada jaringan tubuh hewan dan beberapa spesies jamur serta bakteri (Cosgrove, 1966). Pada biji-bijian, fitase dijumpai pada kacang buncis (Lolas dan Markakis, 1977), dwarf bean (Gibbins dan Norris, 1963), kecambah kacang hijau (Mandal dkk., 1972). Beberapa jamur yang menghasilkan fitase antara lain *Aspergillus oryzae* NRRL 1988, *Rhizopus chinensis* NRRL 3671 (Wang dkk., 1980), *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710 (Sudarmadji dan Markakis, 1977; Sutardi, 1988) serta *Neurospora sitophilla* ATCC 14151 (Fardiaz dan Markakis, 1981).

Pembuatan tempe kedele menurut Sudarmadji dan Markakis (1977) dapat menurunkan kadar asam fitat hingga sepertiganya. Sutardi (1988) menyatakan bahwa pengurangan kadar asam fitat mencapai 40% selama fermentasi tempe kedele dan pengurangan kandungan asam, fitat tersebut disebabkan oleh aktivitas fitase yang dihasilkan oleh jamur tempe atau inokulum.

Secara umum aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim dan ada tidaknya inhibitor atau aktivator. Suhu dan pH optimum untuk aktivitas fitase cukup bervariasi. Menurut Lolos dan Markakis (1977) suhu dan pH optimum untuk fitase kacang buncis berturut-turut 50°C dan 5,3; sedangkan untuk fitase kedele berturut-turut 60°C dan 4,8 (Sutardi, 1986).

Pada penelitian ini dikaji aktivitas fitase dan perubahan kadar asam fitat pada tahap-tahap pembuatan tempe kara benguk, kara putih dan gude menggunakan inokulum *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710.

BAHAN DAN METODE

Bahan Dasar

Kara benguk (*Mucuna pruriens var utilis*) dan gude (*Cajanus cajan*) dibeli di Pasar Wonosari, Gunung kidul, D.I. Yogyakarta; sedangkan kara putih (*Phaseolus lunatus*) dibeli di Pasar Prambanan, Prambanan, D.I. Yogyakarta.

Inokulum

Biakan murni *R. oligosporus* NRRL 2710 diperoleh dari Laboratorium Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Biakan jamur ditanam pada media agar miring MEA (Malt Extract Agar) sampai umur 2 hari. Biakan ini dijadikan biakan induk dan disimpan dalam almari pendingin pada suhu 4°C. Apabila digunakan sebagai inokulum, dilakukan inokulasi pada MEA dengan cara yang sama, diinkubasi selama 2 hari pada suhu kamar. Dari biakan yang telah dimudahkan kemudian diinokulasikan lagi ke media agar miring yang baru, diinkubasi selama 2 hari pada suhu kamar. Biakan inilah yang digunakan sebagai inokulum tempe. Spora dan miselia dari satu medium agar miring disuspensikan dengan 1 ml air suling deionisasi yang telah disterilkan, kemudian digojog kuat. Satu ml suspensi jamur cukup untuk inokulasi 500 g bahan yang telah disiapkan.

Preparasi Tempe

Metode pembuatan tempe yang digunakan merupakan metode tradisional Indonesia dengan inokulum biakan murni *R. oligosporus* NRRL 2710. Metode pembuatan tempe kara benguk sama dengan tempe kara putih, sedangkan tempe gude agak berbeda. Adapun metode pembuatan tempe kara benguk, kara putih dan gude disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Tahap-tahap pembuatan tempe kara benguk, kara putih dan gude

Tahap	Kara benguk/kara putih	Gude
1.	Perendaman I	Perebusan
2.	Perebusan	Pengupasan
3.	Pengupasan	Perendaman
4.	Perendaman II	Pengukusan
5.	Perendaman III	Penirisan
6.	Pengukusan	Pendinginan
7.	Penirisan	Inokulasi
8.	Pendinginan	Fermentasi
9.	Inokulasi	—
10.	Fermentasi	—

Keterangan:

- Perendaman = biji : air = 1 : 4, selama 24 jam
Perebusan = biji : air = 1 : 4, selama 30 menit
Pengukusan = selama 25 menit
Inokulasi = 1 tabung biakan murni *R. oligosporus* untuk 500 g bahan hasil pengukusan
Fermentasi = dalam kantong plastik yang diberi lubang-lubang pada suhu kamar selama 48 jam.

Preparasi Ekstrak Kasar Enzim

Lima g bubuk biji kering yang lolos ayakan 60 mesh atau sampel bahan hasil perendaman dan fermentasi dihancurkan dengan blender (Nasional), kemudian dihaluskan dengan mortar; diekstraksi dengan CaCl₂ 2%, rasio sampel: CaCl₂ 2% = 1 : 10 dan digojog secara mekanis (Kotterman 4010) pada kecepatan 160 rpm selama 45 menit pada suhu kamar. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm (Minifug Heraeus Sepatech 129450) pada suhu 4°C selama 30 menit. Supernatan disaring dengan kertas saring Whatman No. 42. Selanjutnya dilakukan fraksinasi I dengan ammonium sulfat hingga 35% jenuh selama 30 menit pada suhu 4°C, sambil diaduk. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 30 menit pada suhu 4°C. Residu dibuang dan supernatan difraksinasi untuk yang kedua kalinya dengan menambahkan ammonium sulfat hingga 80% jenuh selama 30 menit pada suhu 4°C, sambil diaduk. Supernatan dibuang dan endapannya dilarutkan dengan 12,5 ml buffer tris maleat 0,01 M pada pH 6,5; kemudian dimasukkan dalam kantong dialisis yang terbuat dari selofan. Dialisis dilakukan dalam buffer yang sama selama 48 jam pada suhu 4°C. Dialisat yang diperoleh disebut sebagai ekstrak kasar fitase dan siap digunakan untuk uji aktivitas fitase.

Uji Aktivitas Fitase

Uji aktivitas fitase menggunakan metode Lolas dan Markakis (1977) yang telah dimodifikasi. Uji dilakukan dalam tabung reaksi bertutup yang diisi campuran 0,2 ml buffer asetat 0,6 M, pH disesuaikan dengan pH optimum; 0,6 ml Natrium-fitat 5 mM, yang telah disesuaikan pH-nya dengan HCl 0,5 N dan atau 1 N (penyesuaian pH hingga sama dengan pH optimum untuk aktivitas fitase); 0,2 ml ekstrak kasar fitase dan 0,2 ml air suling deionisasi. Campuran tersebut diinkubasikan selama 30 menit dalam penangas air (GFL tipe 1008) pada suhu optimum aktivitas fitase masing-masing jenis kacang-kacangan. Setelah inkubasi, protein dalam sampel diendapkan dengan menambahkan 1 ml TCA 1,54 N. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dianalisis kandungan fosfor anorganiknya. Nilai aktivitas fitase dikoreksi dengan membuat kontrol yang terdiri atas ekstrak kasar fitase yang telah dididihkan selama 15 menit.

Penentuan Fosfor Anorganik (Pa)

Aktivitas fitase dinyatakan dalam Unit Internasional, yaitu jumlah μ mol Pa yang dibebaskan per menit pada kondisi pengujian yang ditetapkan. Pa yang dibebaskan dianalisis menurut metode Asam Askorbat (Watanabe dan Olsen, 1965). Labu takar 25 ml diisi dengan 1 ml supernatan hasil uji enzim, 20 ml air suling deionisasi dan 4 ml reagen B (1,056 g asam askorbat/200 ml reagen A); reagen A terdiri atas 12 g ammonium

molibdat dan 0,2908 g antimoni kalium tartrat dalam 2 L H₂SO₄ 2,5 N). Larutan digojog dan dibiarkan selama 30 menit. Dibuat blanko dengan mengganti 1 ml ekstrak kasar fitase dengan 1 ml air suling deionisasi. Absorbansi diukur dengan Spectronic 21 pada panjang gelombang 840 nm.

Analisis Protein Terlarut

Protein terlarut dianalisis dengan reagen Folin-Ciocalteu (Lowry dkk., 1951). Absorbansi diukur dengan Spectronic 21 pada panjang gelombang 750 nm.

Analisis Asam Fitat

Kadar asam fitat sampel dianalisis dengan metode Wheeler dan Ferrel (1971). Absorbansi diukur dengan Spectronic 21 pada panjang gelombang 470 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Terdapat 12 sampel yang seharusnya ditentukan aktivitas fitasnya selama tahap-tahap pembuatan tempe kara benguk dan kara putih mulai dari bahan mentah hingga produk tempe hasil fermentasi selama 48 jam. Tetapi pada penelitian ini hanya terdapat 7 sampel yang diuji aktivitas fitasnya yaitu bahan mentah, bahan hasil perendaman, bahan hasil fermentasi 0, 12, 24, 36 dan 48 jam, sedangkan sampel dari 5 tahap lainnya tidak dianalisis yaitu bahan dari hasil perebusan, pengupasan, perendaman II dan III serta pengukusan. Hal ini dilakukan dengan pertimbangan bahwa setelah perebusan dan perlakuan lain yang mengikuti perebusan tersebut fitase pada bahan tidak aktif atau rusak terdenaturasi karena panas. Menurut Sutardi (1988) pada pembuatan tempe kedele, setelah proses perebusan ternyata fitase dalam biji kedele tidak aktif sama sekali. Namun demikian analisis asam fitat tetap dilakukan terhadap 12 macam sampel sesuai dengan tahap-tahap pengolahan pembuatan tempe yang digunakan.

Analogi dengan tempe kara benguk dan atau kara putih, pada pembuatan tempe gude setelah proses perebusan hingga pengukusan tidak dilakukan uji aktivitas fitase. Untuk tempe gude terdapat 6 sampel yang perlu diuji aktivitas fitasnya yaitu bahan mentah, tempe hasil fermentasi 0, 12, 24, 36, dan 48 jam. Pada tempe gude juga dilakukan analisis kandungan asam fitat untuk setiap tahap pengolahan tempe.

Isolasi dan Pemurnian Fitase

Tahap pertama isolasi dan pemurnian fitase adalah ekstraksi. Pada percobaan ini digunakan CaCl₂ 2% untuk ekstraksi fitase dan menurut Lolos dan Markakis (1977), CaCl₂ 2% dapat memisahkan dengan baik enzim fitase dari asam fitat yang terdapat di dalam bahan.

Fraksinasi fitase dilaksanakan dengan ammonium sulfat dan diikuti dialisis dalam kantong selofan. Menurut Bartnik dan Szafranska (1987) ammonium sulfat konsentrasi tinggi (jenuh) dapat digunakan dengan baik untuk memisahkan enzim dari cemarannya yang terdapat dalam campuran, seperti gula, asam-asam amino bebas, dan nukleotida. Lolos dan Markakis (1977) juga melaporkan bahwa fraksi yang berhasil diendapkan dengan ammonium sulfat antara kejenuhan 35 dan 80% mengandung semua aktivitas fitase kacang buncis.

Pada percobaan ini ekstrak kasar enzim yang digunakan untuk uji aktivitas fitase diperoleh dari fraksinasi dengan ammonium sulfat antara kejenuhan 35 dan 80% yang diikuti dengan dialisis dalam larutan buffer tris maleat 0,01 M pada pH 6,5.

Penentuan pH dan Suhu Optimum Aktivitas Fitase

Uji aktivitas fitase dilakukan pada kondisi optimum. Penentuan pH optimum dilakukan pada variasi pH 4,4; 4,6; 4,8; 5,0; 5,2; dan 5,4. Kisaran pH tersebut didasarkan pada beberapa pH optimum aktivitas fitase yang telah dilakukan oleh peneliti terdahulu antara lain pH optimum fitase kedele 4,8 (Sutardi, 1986), kacang buncis 5,3 (Lolos dan Markakis, 1977), dwarf bean 5,2 (Gibbins dan Norris, 1963). Hasil pengujian menunjukkan bahwa pH optimum untuk fitase kara benguk dan kara putih 4,8 sedangkan untuk gude 5,0.

Lolos dan Markakis (1977) melaporkan bahwa suhu optimum untuk aktivitas fitase kacang buncis adalah 50°C, fitase kecambah kacang hijau 57°C (Peers, 1953) dan fitase kedele 60°C (Sutardi, 1986). Penentuan suhu optimum fitase dilakukan pada variasi suhu 40, 45, 50, 55, 60, 65 dan 70°C. Ternyata suhu optimum aktivitas fitase kara benguk dan kara putih 60°C dan untuk gude 50°C.

Aktivitas Fitase dan Perubahan Kandungan Asam Fitat

Aktivitas fitase dan perubahan kandungan asam fitat selama tahap-tahap pembuatan tempe kara benguk, kara putih dan gude disajikan pada Tabel 2.

Bahan Mentah

Biji kara benguk, kara putih dan gude kering mempunyai total aktivitas fitase paling tinggi dibandingkan dengan aktivitas fitase untuk sampel dari masing-masing tahap pengolahan tempe maupun tempe hasil fermentasi yaitu berturut-turut 313,02; 190,18 dan 428,23 μ mol Pa/menit/ml enzim; tetapi aktivitas spesifiknya rendah berturut-turut 0,48; 1,16 dan 4,36 μ mol Pa/menit/ml enzim/mg protein.

Perendaman

Aktivitas fitase kara benguk dan kara putih hasil perendaman 24 jam berturut-turut turun sebesar 42 dan 86%. Menurut Setyono (1987), proses perendaman

sebenarnya meningkatkan aktivitas fitase, karena fitase tergolong enzim hidrolase yang memerlukan air untuk aktivitasnya. Hasil diatas sebenarnya tidak bertentangan dengan hasil penelitian Setyono (1987), hal ini kemungkinan karena tidak tercapainya kondisi optimum untuk aktivitas fitase pada saat proses perendaman dilaksanakan. Telah dibuktikan diatas bahwa kondisi optimum aktivitas fitase kara benguk dan kara putih adalah pada pH 4,8 dan suhu 60°C, sedangkan air perendaman kara benguk dan kara putih pada suhu kamar masing-masing mempunyai pH 5,4 dan 6,1.

Tabel 2. Aktivitas fitase dan kadar asam fitat pada tahap-tahap pembuatan tempe kara benguk, kara putih dan gude menggunakan inokulum *R. oligosporus* NRRL 2710

Bahan	Tahap Pengolahan	Total Aktivitas (a)	Aktivitas Spesifik (b)	Asam (c)	Fitat (d)
Kara Benguk	Bahan mentah	149,02	0,48	0,37	100
	Perendaman I	86,05	0,62	0,37	99
	Perebusan	—	—	0,31	83
	Pengupasan	—	—	0,28	75
	Perendaman II	—	—	0,24	64
	Perendaman III	—	—	0,29	78
	Pengukusan	—	—	0,24	65
	Fermt. 0 jam	1,45	0,12	0,20	55
	Fermt. 12 jam	3,42	0,34	0,19	52
	Fermt. 24 jam	23,12	4,96	0,18	50
	Fermt. 36 jam	24,40	2,85	0,18	49
	Fermt. 48 jam	135,64	13,92	0,17	47
	Kara Putih	Bahan mentah	190,18	1,16	2,59
Perendaman I		25,78	0,10	1,70	66
Perebusan		—	—	1,72	67
Pengupasan		—	—	0,83	36
Perendaman II		—	—	0,82	32
Perendaman III		—	—	0,96	37
Pengukusan		—	—	0,64	25
Fermt. 0 jam		0,00	0,00	0,50	19
Fermt. 12 jam		11,65	10,04	0,44	17
Fermt. 24 jam		38,04	23,12	0,37	14
Fermt. 36 jam		6,45	6,16	0,32	12
Fermt. 48 jam		3,22	2,34	0,34	13
Gude		Bahan mentah	428,23	4,36	0,45
	Perebusan	—	—	0,41	93
	Pengupasan	—	—	0,41	93
	Perendaman	—	—	0,36	81
	Pengukusan	—	—	0,32	72
	Fermt. 0 jam	0,00	0,00	0,27	60
	Fermt. 12 jam	3,26	6,70	0,26	57
	Fermt. 24 jam	6,50	3,74	0,22	48
	Fermt. 36 jam	32,81	9,48	0,19	42
	Fermt. 48 jam	223,52	33,98	0,17	37

Keterangan:

- (a) : μ mol Pa/menit/ml enzim
- (b) : μ mol Pa/menit/ml enzim/mg protein
- (c) : % (berat kering)
- (d) : rasio kadar asam fitat setelah tahap pengolahan terhadap bahan mentah (%)

Penurunan aktivitas fitase kara benguk lebih kecil daripada kara putih, dan aktivitas spesifik fitase kara benguk hasil perendaman sedikit naik apabila dibanding dengan bahan mentahnya yaitu dari 0,48 menjadi

0,62 μ mol Pa/menit/ml enzim/mg protein. Sedangkan aktivitas spesifik fitase kara putih turun dari 1,16 menjadi 0,10 μ mol Pa/menit/ml enzim/mg protein. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kondisi perendaman kara benguk lebih mendekati dengan kondisi optimum aktivitas fitase, sehingga aktivitas fitase kara benguk selama perendaman lebih tinggi daripada kara putih.

Perebusan - Pengukusan

Setelah perebusan dan pengukusan, baik kara benguk, kara putih maupun gude tidak dilakukan uji aktivitas fitaseny, tetapi kadar asam fitatnya tetap dianalisis. Pada beberapa tahapan proses pembuatan tempe maka kadar asam fitat turun sebesar 34%, 75% dan 28% berturut-turut untuk kara benguk, kara putih dan gude. Pada perendaman ketiga untuk kara benguk dan kara putih terjadi kenaikan kadar asam fitat sebesar 14 dan 5% apabila dibandingkan dengan tahap proses sebelumnya. Hal ini belum diketahui secara pasti penyebabnya, kemungkinan disebabkan oleh sifat khas biji kara benguk maupun kara putih. Meskipun demikian keseluruhan perlakuan mulai dari perendaman hingga pengukusan menyebabkan kadar asam fitat turun secara nyata dan penyebab utama turunnya kadar asam fitat tersebut adalah akibat perlakuan fisis seperti perendaman dan perebusan. Dengan perlakuan demikian sebagian asam fitat mengalami "leaching" menuju ke air perendaman ataupun air rebusan. Terdapatnya asam fitat pada air rendaman ataupun air rebusan telah dibuktikan oleh Sutardi (1988).

Fermentasi

Sejak awal fermentasi sampel dengan fermentasi 48 jam terjadi kenaikan aktivitas fitase pada tempe kara benguk dan gude. Aktivitas fitase tempe kara benguk naik dari 1,45 menjadi 135,64 μ mol Pa/menit/ml enzim atau terjadi kenaikan sebesar 94 kali. Sedangkan aktivitas fitase tempe gude naik dari 0 pada awal fermentasi menjadi 223,52 μ mol Pa/menit/ml enzim pada akhir fermentasi 48 jam atau terdapat kenaikan sebesar 223 kali. Sejalan dengan kenaikan aktivitas fitase maka kadar asam fitat pada tempe kara benguk dan gude turun secara nyata berturut-turut sebesar 18 dan 35%. Aktivitas fitase tempe kara benguk menunjukkan pola yang berbeda dibandingkan dengan kedua jenis biji lainnya. Baik total aktivitas maupun aktivitas spesifik fitase tempe kara putih naik mulai dari awal fermentasi sampai fermentasi 24 jam, kemudian turun. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas fitase tempe kara putih tertinggi dicapai pada fermentasi 24 jam yaitu sebesar 38,04 μ mol Pa/menit/ml enzim. Sejalan dengan kenaikan aktivitas fitase maka kadar asam fitat tempe kara putih turun sebesar 23% sampai pada fermentasi 48 jam yaitu dari 0,44 menjadi 0,34% (bk).

Menurut Sudarmadji dan Markakis (1977) aktivitas fitase selama fermentasi tempe berasal dari inokulum tempe yaitu *R. oligosporus*.

Berdasarkan uraian diatas jelas bahwa fitase yang dihasilkan oleh *R. oligosporus* selama fermentasi tempe kara bengkak dan gude sangat erat kaitannya dengan turunnya kadar asam fitat tempe, dan secara jelas kenaikan aktivitas fitase diikuti oleh penurunan kadar asam fitat. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sutardi (1988) tentang aktivitas fitase selama pembuatan tempe kedele.

KESIMPULAN

Kara bengkak, kara putih dan gude mengandung fitase dengan total aktivitas berturut-turut 149,02; 190,18 dan 428,23 μ mol Pa/menit/ml enzim serta mengandung asam fitat berturut-turut sebesar 0,37; 2,58 dan 0,45% (bk).

Aktivitas fitase tempe kara bengkak dan gude naik selama fermentasi 48 jam berturut-turut dari 1,45 dan 0 menjadi 135,64 dan 223,52 μ mol Pa/menit/ml enzim. Sedangkan aktivitas tempe kara putih naik mulai dari awal fermentasi hingga fermentasi 24 jam yaitu dari 0 menjadi 38,84 μ mol Pa/menit/ml enzim, kemudian turun sampai fermentasi 48 jam yaitu menjadi 3,22 μ mol Pa/menit/ml enzim. Terbukti bahwa kenaikan aktivitas selama fermentasi tempe diikuti oleh turunnya kadar asam fitat.

Turunnya kadar asam fitat selama proses pembuatan tempe dapat disebabkan oleh perlakuan fisis seperti perendaman dan perebusan dan karena aktivitas fitase yang dihasilkan oleh jamur tempe atau inokulum.

Proses pembuatan tempe yang dimulai dari perendaman atau perebusan sampai pada fermentasi ternyata mampu menurunkan kadar asam fitat kara bengkak, kara putih dan gude berturut-turut sebesar 53, 87 dan 63%. Oleh sebab itu ditinjau dari kadar asam fitat ketiga jenis kacang-kacangan tersebut maka jenis kacang-kacangan lebih baik dikonsumsi dalam bentuk produk olahan khususnya dibuat tempe.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada **Hitachi Scholarship Foundation** yang telah memberikan bantuan dana untuk pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bartnik, M. and I. Szafranska, 1987. Changes in phytate content and phytase during the germination of some cereals. *J. Cereal Sci.*, 5: 23 — 28.
- Chang, R. 1977. Phytate: Removal from whole cry beans by enzymatic hydrolisis and diffusion *J. Food Agric.*, 17: 550-544.
- Fardiaz, D. and P. Markakis, 1981. Degradation on phytic acid in oncom (fermented peanut press cake). *J. Food Sci.* 46: 523 — 525.
- Gibbins, L.N. and F.W. Norris, 1963. Phytase and acid phosphatase in the dwarf bean (*Phaseolus vulgaris*). *Biochem. J.* 86: 67 — 71.
- Graf, E., 1983. Application of phytic acid. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 60: 1861 — 1867.
- Lolas, G.M. and P. Markakis, 1977. The phytase of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Food Sci.*, 42: 1094 — 1106.
- Lowry, O.H., N.J. Rosenbrough, A.L. Farr and R.J. Randall, 1951. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *J. Bio., Chem.* 193: 265 — 275.
- Mandal, N.C., S. Burman and B.B. Biswas, 1972. Isolation, purification and characterization of phytase from germination of mung bean. *Phytochemistry*, 11: 495 — 502.
- Peers, F.G., 1953. The phytase of wheat. *Biochem. J.*, 53: 102 — 109.
- Reddy, N.R., C.V. Balakrishnan and D.K. Salunkhe, 1978. Phytate phosphorus and mineral changes during germination and cooking of black gram (*Phaseolus mungo*) seeds. *J. Food Sci.*, 43: 540 — 543.
- Ranhotra, G.S., 1973. Factors affecting hydrolysis during bread making of phytic acid in wheat protein concentrate. *Cereal Chem.* 53: 353 — 357.
- Setyono, A., 1987. Perilaku asam fitat dalam kedelai pada waktu diolah. Disertasi Program S-3 dalam Ilmu dan Teknologi Pangan. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sudarmadji, S. and P. Markakis, 1977. The phytate and phytase of soybean tempeh. *J. Sci. Food Agric.*, 28: 381 — 383.
- Sutardi, and K.A. Buckle, 1986. The characteristics of soybean phytase. *J. Food Biochem.* 10: 197 — 216.
- Sutardi, 1988. Phytase activity during tempe production. Thesis Submitted for The Degree of Doctor of Philosophy. Department of Food Science and Technology, The University of New South Wales, Sydney.
- Tabekhia, M.M. and B.S. Luh, 1980. Effect of germination, cooking and canning on phosphorus and phytate retention in dry beans. *J. Food Sci.*, 45: 406 — 408.
- Wang, H.L., E.W. Swain and C.W. Hesseltine, 1980. Phytate of moulds used in oriental food fermentation. *J. Food Sci.*, 45: 1262 — 1266.
- Watanabe, F.S. and S.R. Olsen, 1965. Test of an ascorbic acid method for determining phosphorus and NaHCO_3 extracts from soil. *Soil Sci. Soc. Proceeding.*
- Wheeler, E.L. and R.E. Ferrel, 1971. A method for phytic acid determination in wheat and wheat fractions. *Cereal Chem.*, 48: 312 — 320.