

# Pengaruh variasi pengecilan ukuran dan lama fermentasi terhadap kadar asam sianida dan senyawa fenolik pada tempe koro babi (*Vicia faba*)

## Influence of size reduction variation and fermentation time towards cyanide acid contents and phenolic compound in faba bean (*Vicia faba*) tempeh

CHRISTIANA SEPTI INDRIYANI, SRI HANDAYANI, DIAN RACHMAWATI

Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 1 Februari 2010. Revisi disetujui: 22 Februari 2010.

**Abstract.** *Indriyani CS, Handayani S, Rachmawati D. 2010. Influence of size reduction variation and fermentation time towards cyanide acid contents and phenolic compound in faba bean (Vicia faba) tempeh. Biofarmasi 8: 31-36.* Tempeh is fermentation product which very known by Indonesian society and has been familiar with various western society. Tempeh can be made from various ingredient, but usually, tempeh is made from soybean. Due to the increasing soybean price, it has been found another Leguminosae to substitute soybean. One of legume was faba bean, Leguminosae, that generally contains phenol as antioxidant and cyanide acid as anti-nutrient and toxic material. The aim of this research was to determine the effect of size reduction variation and fermentation time variation of faba beans tempeh production to cyanide acid and total phenol contents. This research used a factorial experiment that arranged in a Randomized Complete Design (RCD) with two experimental factors including size reduction (chopped and sliced) and the time of fermentation (0, 30, 36, 42 and 48 hours). The result showed that cyanide acid content in fermentation of 0, 30, 36, 42 and 48 hours on faba beans tempeh by chopped seeds were 0.060 mg/g, 0.048 mg/g, 0.036 mg/g, 0 mg/g and 0 mg/g, respectively, then on faba beans tempeh by sliced seeds were 0.072 mg/g, 0.036 mg/g, 0.036 mg/g, 0 mg/g and 0 mg/g, respectively. Meanwhile, the content of total phenol on faba beans tempeh by chopped seeds were 0.014750%, 0.149900%, 0.201825%, 0.170400% and 0.234400%, while on faba beans tempeh by sliced seeds were 0.014750%, 0.152650%, 0.178300%, 0.162750% and 0.192620%, respectively. The fermentation time and the size of faba beans seeds affected on cyanide acid and total phenol contents of faba beans tempeh. The longer fermentation time of faba beans tempeh caused lower cyanide acid content and higher total phenol content. The smaller size of faba beans seeds on tempeh caused lower cyanide acid content and higher total phenol content. The lowest cyanide acid content was contained in faba beans tempeh with chopped and sliced seeds with 42 and 48 hours fermentation reached 0 mg/g. The highest total phenol content was contained in chopped faba beans tempeh with 48 hours fermentation reached 0.234400%.

**Keywords:** Cyanide acid contents, faba beans, fermentation time, size reduction, total phenol contents

### PENDAHULUAN

Tempe merupakan salah satu makanan khas Indonesia. Selain mengandung protein nabati yang tinggi, harga tempe juga sangat terjangkau dan memasyarakat. Tempe merupakan salah satu sumber protein nabati yang sering dikonsumsi dan pada umumnya berbahan baku kedelai. Bahan baku tempe selama ini masih diimpor dari Amerika, rata-rata sebesar 40%, karena produksi kedelai lokal terus mengalami penurunan (5,2%) dan tidak dapat memenuhi kebutuhan kedelai nasional yang terus meningkat (1,8% per tahun) (Pitojo 2003), sementara tingkat impor kedelai terus meningkat. Oleh karena itu, perlu alternatif bahan baku tempe, sehingga kebutuhan masyarakat akan sumber protein dapat terus terpenuhi. Di daerah-daerah tertentu di Indonesia telah ditemukan beberapa masyarakat yang menggunakan jenis kacang-kacangan lain yang dimanfaatkan sebagai bahan baku tempe.

Kacang-kacangan telah lama dikenal sebagai sumber protein yang saling melengkapi dengan bahan pangan dari biji-bijian, seperti beras dan gandum. Komoditas ini ternyata juga potensial sebagai sumber zat gizi lain selain

protein, seperti mineral, vitamin B, karbohidrat kompleks, dan serat makanan. Disamping diolah secara tradisional dengan direbus, dikukus, dan disayur, sebenarnya potensi penggunaan kacang-kacangan sangat luas untuk menghasilkan produk baru.

Banyak ragam kacang-kacangan yang ada di Indonesia, salah satunya adalah koro babi (*Vicia faba*). Koro babi merupakan jenis kacang-kacangan yang potensial. Jika dibandingkan dengan kedelai, koro babi mempunyai kandungan protein dan lemak yang sedikit lebih rendah, sedangkan kandungan karbohidratnya lebih tinggi. Koro babi merupakan sumber riboflavin, niasin, fosfor, dan potasium. Selain itu, koro babi juga merupakan sumber folat, tembaga, dan mangan yang sangat baik. Akan tetapi, koro babi mempunyai biji yang keras dan mengandung senyawa antigizi seperti pada umumnya kacang-kacangan yang lain.

Koro babi merupakan salah satu jenis Leguminosae yang dapat digunakan sebagai salah satu alternatif bahan baku sumber protein non-kedelai yang dapat diolah menjadi tempe. Koro babi memiliki kandungan protein yang cukup tinggi (22%). Selain itu, koro babi diproduksi

secara lokal, sehingga tidak terpengaruh oleh biaya masuk impor.

Senyawa-senyawa antigizi yang terdapat dalam kacang-kacangan meliputi asam fitat, tanin, protease inhibitor (tripsin dan *chymotrypsin*),  *$\alpha$ -amylase inhibitor*, HCN, serta lektin. Selain itu, tingkat pencernaan pati dan proteinnya dalam tubuh juga rendah yang dikarenakan keberadaan senyawa-senyawa antigizi tersebut. Hal inilah yang menyebabkan pemanfaatan kacang-kacangan pada umumnya masih terbatas.

Asam sianida (HCN) merupakan senyawa racun yang dapat mengganggu kesehatan. Keberadaan senyawa tersebut dapat menimbulkan rasa pahit. Senyawa tersebut banyak dijumpai pada kacang koro. Keberadaan HCN dapat mengurangi ketersediaan nutrisi dalam tubuh.

Asam sianida (HCN) dikenal dengan nama lain sebagai racun biru. Tubuh manusia umumnya tidak tahan terhadap HCN pada dosis 0,06 gram. Apabila mengonsumsi HCN pada dosis *lethal* (mematikan) tersebut, manusia dapat mengalami kematian. Namun demikian, terdapat juga manusia yang masih mampu bertahan hidup dan disembuhkan meskipun telah mengonsumsi HCN sebanyak tiga kali lipat dari dosis *lethal* tersebut.

Fermentasi sederhana, seperti pada pembuatan tempe kedelai, diduga dapat menjadi salah satu alternatif pemanfaatan koro babi. Menurut Kasmidjo (1990), fermentasi dapat mengurangi senyawa-senyawa antigizi serta dapat meningkatkan pencernaan protein dan senyawa gizi lainnya, karena pada proses fermentasi berlangsung proses perombakan senyawa makromolekul menjadi komponen-komponen yang lebih sederhana. Menurut Handajani (2008), pada proses pembuatan tempe koro benguk, fermentasi dapat menurunkan kandungan HCN biji koro benguk. Diduga proses fermentasi dapat menurunkan kadar HCN karena aktivitas kapang yang menghasilkan panas hingga 40°C, serta menaikkan kadar air selama fermentasi yang dapat mempengaruhi sifat HCN yang larut air dan mempunyai titik didih 26,5°C.

Sebagian besar senyawa organik bahan alam termasuk dalam golongan senyawa aromatik. Senyawa aromatik tersebut mengandung cincin karboaromatik yaitu cincin aromatik yang hanya terdiri dari atom karbon seperti benzena, naftalena, dan antrasena. Cincin karboaromatik tersebut biasanya tersubstitusi oleh satu atau lebih gugus hidroksil atau gugus lainnya yang ekuivalen ditinjau dari segi biogenetiknya. Oleh karena itu, senyawa bahan alam aromatik tersebut sering disebut sebagai senyawa fenol meskipun sebagian diantaranya bersifat netral karena tidak mengandung gugus fenol dalam keadaan bebas (Sovia 2006).

Senyawa fenol dalam tempe kedelai dan seperti pada Leguminosae yang lain, yaitu berupa isoflavon yang merupakan senyawa fungsional yang berperan sebagai antioksidan. Diduga di dalam tempe koro babi juga terdapat senyawa fenol. Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian tentang jumlah total fenol dalam tempe koro babi sebagai manfaatnya untuk manusia.

Mengacu pada penelitian sebelumnya (Laela 2008) pada tempe koro benguk yang juga dilakukan pengecilan ukuran biji, dimana pengecilan ukuran biji dapat

menurunkan kadar asam fitat dan komponen lainnya maka pengecilan ukuran biji pada pembuatan tempe koro babi, diharapkan juga dapat memberikan pengaruh terhadap kadar asam sianida dan total fenol, akibat perbedaan luas permukaan biji.

Senyawa antigizi biji koro babi merupakan kelemahan yang harus dapat diatasi secara baik dan benar pada pengolahan koro babi, salah satunya dengan pembuatan tempe, sehingga dapat dihasilkan produk yang aman dan layak untuk dikonsumsi oleh masyarakat. Oleh karena itu diperlukan suatu upaya untuk mengurangi jumlah senyawa antigizi pada produk tempe koro babi. Dengan perbedaan ukuran biji tersebut diharapkan akan didapatkan perlakuan yang efektif untuk mempersingkat waktu fermentasi.

Tujuan penelitian ini adalah: (i) Mengetahui pengaruh pengecilan ukuran biji koro babi dan lama fermentasi terhadap kadar asam sianida pada pembuatan tempe koro babi, serta (ii) Mengetahui pengaruh pengecilan ukuran biji koro babi dan lama fermentasi terhadap senyawa fenolik pada pembuatan tempe koro babi.

## BAHAN DAN METODE

### Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Proses Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Laboratorium Biologi Tanah Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian, Laboratorium MIPA Pusat Universitas Sebelas Maret, Surakarta, dan Laboratorium CV. Chemix Pratama, Bantul, Yogyakarta. Penelitian dilaksanakan mulai April hingga September 2009.

### Alat dan bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan tempe meliputi koro babi yang dibeli dari pasar tradisional di Wonosobo, Jawa Tengah, ragi tempe merek "RAPRIMA" produksi Bandung yang diperoleh dari Koperasi "Makmur" Mojosoongo, Surakarta, air sumur, daun pisang, dan kertas koran.

Pada pengujian asam sianida digunakan metode AOAC. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis asam sianida antara lain akuades, 0,02 N AgNO<sub>3</sub>, 0,02 N HNO<sub>3</sub>, K-Thiosianat, dan indikator ferri.

Pada pengujian total fenol digunakan metode Folin-Ciocalteu. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis total fenol antara lain etanol, akuades, reagen Folin-Ciocalteu, dan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7%.

Alat yang digunakan yaitu oven (merek Memmert UNM 400) dan spektrofotometer (merek Thermo Electron Corporation). Alat-alat untuk analisis asam sianida meliputi labu Kjeldahl, erlenmeyer, krus Gooch, dan buret. Alat yang diperlukan untuk analisis total fenol dengan metode Folin-Ciocalteu meliputi erlenmeyer, botol gelas, labu takar, tabung reaksi, pipet ukur, blender, baskom, timbangan mekanik, dan kertas saring. Sementara itu, alat-alat untuk pembuatan tempe meliputi kompor, panci, alat perajang, baskom, dan timbangan mekanik.

### Rancangan percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian hubungan fungsional yang pendekatan variabelnya melalui suatu eksperimen dengan menggunakan sampel tempe koro babi. Rancangan dasar yang digunakan berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu variasi pengecilan ukuran (2 macam) serta variasi lama fermentasi (4 macam) (Tabel 1).

### Parameter/peubah yang diamati

Peubah yang digunakan dalam penelitian ini adalah: (i) Variabel bebas, yaitu lama fermentasi dan pengecilan ukuran pada tempe koro babi, serta (ii) Variabel terikat utama, yaitu kadar total fenol dan kadar asam sianida pada tempe koro babi.

### Cara kerja

#### Persiapan bahan dan sortasi

Koro babi disortasi dari cemaran fisik kemudian ditimbang, lalu dicuci terlebih dahulu sebelum diproses ke tahap berikutnya.

#### Perebusan

Koro babi direbus sampai mendidih. Perbandingan air dan koro babi yang digunakan adalah 4:1. Setelah mendidih, airnya dibuang dan diganti dengan air dingin kemudian direbus kembali sampai mendidih. Setelah dingin, biji koro babi dikupas kulitnya.

#### Perendaman selama 6x12 jam

Koro babi yang telah dikupas kulitnya direndam kembali dengan air selama 6x12 jam. Perbandingan air dan koro babi adalah 4:1. Tiap 12 jam air diganti.

#### Pengukusan

Pengukusan dilakukan selama 20 menit dengan api kecil.

#### Penirisan

Penirisan dilakukan dengan menggunakan saringan.

#### Pendinginan

Pendinginan dilakukan dalam suhu kamar dan udara terbuka.

#### Perlakuan pengecilan ukuran

Koro babi dibagi menjadi dua bagian yang sama banyak, satu bagian dirajang (1 lembaga dibelah secara vertikal menjadi 3) dengan dimensi kurang lebih  $2,5 \times 0,5 \times 0,5 \text{ cm}^3$ , dan satu bagian lagi dicacah (1 lembaga dibelah secara vertikal menjadi 3 bagian, kemudian dibelah secara horisontal menjadi 5-7 bagian) dengan dimensi kurang lebih  $0,5 \times 0,5 \times 0,5 \text{ cm}^3$ .

#### Inokulasi

Inokulasi dilakukan dengan menggunakan ragi tempe dengan perbandingan 2 g ragi tempe dalam 1 kg koro babi kemudian dilakukan pencampuran secara homogen. Selanjutnya, koro dibungkus dengan daun pisang.

Tabel 1. Rancangan percobaan yang digunakan

Lama Fermentasi (jam)	Perlakuan	
	Koro rajang	Koro cacah
0	0R	0C
30	30R	30C
36	36R	36C
42	42R	42C
48	48R	48C

#### Fermentasi

Koro babi yang telah diberi ragi tempe selanjutnya diinkubasi dengan menata sampel di atas rak pada suhu kamar selama 30 jam, 36 jam, 42 jam, dan 48 jam.

### Analisis laboratorium

#### Uji kadar asam sianida

Uji kadar asam sianida merupakan pengujian untuk mengetahui kadar asam sianida dalam tempe koro babi. Pengujian kadar asam sianida dilakukan dengan menggunakan metode AOAC. Sebelum dianalisis, tempe pada tiap perlakuan dikecilkan ukurannya kemudian dioven pada suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 2 jam. Setelah itu, bahan dihaluskan dengan menggunakan blender hingga melewati ayakan 80 mesh. Semua bahan yang telah halus disimpan dalam botol kering dan ditutup rapat untuk selanjutnya dilakukan analisis asam sianida.

#### Uji total fenol

Pengujian kadar total fenol dilakukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteu. Tujuan dilakukannya analisis ini adalah untuk mengetahui jumlah komponen fenolik, terutama dalam bentuk asam galat yang terdapat pada kacang. Sebagai standar digunakan asam galat dan hasilnya dinyatakan dalam satuan *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Reagen Folin-Ciocalteu merupakan larutan ion kompleks yang terbentuk dari asam fosfotungstat dan asam. Reagen ini dapat bereaksi dengan fenol, sehingga campuran asam fosfotungstat-asam fosfomolibdat tersebut tereduksi menjadi kompleks berwarna biru dalam larutan basa.

### Analisis data

Analisis statistik untuk parameter asam sianida dan total fenol dilakukan dengan mengaplikasikan *software* SPSS 13.0 dengan menggunakan analisis variansi (ANOVA) pada  $\alpha=5\%$ , kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Asam sianida (HCN)

Glikosida sianogenik merupakan senyawa yang terdapat dalam bahan pangan nabati dan secara potensial dapat bersifat racun karena dapat terurai dan menghasilkan hidrogen sianida yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Pengujian yang dilakukan ini merupakan pengujian untuk mengetahui kadar asam sianida dalam tempe koro babi. Pengujian kadar asam sianida dilakukan dengan menggunakan metode titrasi AOAC. Sebelum dianalisis,

tempe dari tiap perlakuan dikecilkan ukurannya kemudian dioven pada suhu 100°C selama 2 jam yang bertujuan untuk memaksimalkan hidrolisis HCN dalam bahan. Setelah itu, bahan dihaluskan dengan menggunakan blender hingga melewati ayakan 80 mesh. Semua bahan yang telah halus disimpan dalam botol kering dan ditutup rapat untuk selanjutnya dianalisis. Kadar asam sianida (HCN) pada tempe koro babi dengan variasi lama fermentasi dan pengecilan ukuran dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada fermentasi selama 0 jam, tempe koro babi dengan perlakuan pencacahan dan perajangan menunjukkan hasil yang berbeda nyata, hal ini disebabkan karena variasi ukuran biji koro sebelum difermentasi. Pada tempe koro babi dengan perlakuan pencacahan selama 0 jam, kadar asam sianidanya lebih rendah dibandingkan tempe koro babi dengan perlakuan perajangan selama 0 jam. Pada fermentasi tempe koro babi selama 30 jam menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan waktu fermentasi 0 jam, dan pada perlakuan pencacahan dan perajangan menunjukkan perbedaan yang nyata. Sementara itu, pada fermentasi selama 36 jam, perlakuan pencacahan dan perajangan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Pada fermentasi selama 42 jam menunjukkan perbedaan yang nyata dengan waktu fermentasi sebelumnya, tetapi antara tempe dengan perlakuan perajangan dan pencacahan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Pada waktu fermentasi selanjutnya, yaitu 48 jam, hasil yang diperoleh menunjukkan tidak berbeda nyata dengan tempe fermentasi selama 42 jam. Begitu juga pada variasi pengecilan ukuran tidak memberikan pengaruh pada kadar HCN tempe koro babi.

Dari hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa variasi pengecilan ukuran dengan perajangan dan pencacahan menunjukkan perbedaan yang nyata pada kadar HCN tempe koro babi. Variasi lama fermentasi tempe koro babi selama 0 jam sampai dengan 36 jam berpengaruh terhadap kadar HCN tempe koro babi yang kadar HCN-nya terus mengalami penurunan. Fermentasi selama 42 jam ke atas juga memberikan pengaruh terhadap kadar HCN tempe koro babi, dimana kandungannya dapat mencapai 0 mg.

Apabila dilihat dari kadar HCN tempe koro babi pada fermentasi selama 0 jam, yaitu sebesar 0,072 mg/g sampel, maka diperkirakan biji mentahnya mempunyai kadar asam sianida yang lebih tinggi dari 0,072 mg/g. Kandungan HCN yang ada diduga telah banyak tereliminasi karena sifat HCN yang larut air, dan sebelumnya telah dilakukan perendaman selama 3 hari dengan penggantian air setiap harinya. Setelah proses fermentasi, kadar HCN mengalami penurunan hingga 0 mg/g. Pola penurunannya dapat dilihat pada Gambar 1.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan kadar HCN pada tempe koro babi dengan perajangan lebih tinggi. Hal ini disebabkan oleh perbedaan luas permukaan sampel akibat perbedaan pengecilan ukuran antara perlakuan pencacahan dan perajangan. Ukuran biji pada tempe cacah lebih kecil, sehingga lebih banyak jumlah HCN yang tereleminasi, sedangkan pada tempe dengan perlakuan perajangan yang ukurannya lebih besar, lebih banyak

kandungan HCN yang terperangkap dalam sampel. Menurut Kanetro dan Hastuti (2006), langkah pertama untuk menghilangkan kandungan HCN yaitu dengan cara pengirisan dan perendaman. Langkah selanjutnya adalah dengan cara pemanasan atau perebusan.

Perlakuan perendaman dan pemanasan efektif dalam mengeliminasi HCN yang terikat pada senyawa glikosida dan pada prinsipnya adalah mengusahakan terjadinya hidrolisis untuk membebaskan HCN pada bahan. Cheeke and Shull (1985) menjelaskan bahwa koro babi dipengaruhi oleh sifat asam sianida yang mempunyai titik didih 26,5°C dan sangat larut dalam air, sehingga proses perebusan pada suhu di atas titik didih asam sianida, dapat menurunkan kadar asam sianida yang terkandung di dalam koro babi. Proses pengolahan seperti perendaman, pengirisan, dan penghancuran dapat menyebabkan terjadinya hidrolisis sehingga membebaskan senyawa HCN. Selain mengeliminasi senyawa HCN, proses perebusan juga dapat menyebabkan biji koro menjadi lebih lunak sehingga lebih aman dan mudah untuk dikonsumsi.

Penurunan kadar HCN diduga dipengaruhi oleh adanya aktivitas bakteri. Diketahui bahwa titik didih HCN sekitar 26,5°C. Pada 24 jam fermentasi, suhu tempe meningkat hingga 40°C, lalu pada 36-48 jam suhunya berkisar antara 25-37°C (Kasmidjo 1990), hal ini diduga HCN rusak akibat suhu tempe lebih tinggi dari titik didihnya. Kemungkinan yang lain diduga peningkatan kadar air pada tempe selama fermentasi juga turut melarutkan HCN dalam tempe dan HCN ikut teruap pada saat penguapan.

Menurut Winarno (2002), kapang menghasilkan enzim untuk memecah ikatan glukosidik. Enzim yang berperan dalam memecah ikatan glukosidik adalah enzim glukosidik (Mega dan Matsushima 1979). Menurut Medikasari dan Marniza (2007), pada fermentasi kecap koro bengkuk, penurunan kadar HCN yang terkandung di dalam kecap diduga terjadi akibat adanya senyawa HCN yang dipecah oleh kapang. HCN kemudian diuapkan oleh pemasakan moromi, sehingga kadarnya berkurang. Menurut Werdhastri (1993), *Rhizopus oryzae* dapat menurunkan kadar HCN (67,79%), demikian juga *Aspergillus oryzae* (37,20%). Diduga terjadi mekanisme yang sama pada fermentasi tempe koro babi.

Data kadar HCN yang didapat dari penelitian dibandingkan dengan *lethal dose* atau kadar HCN maksimal yang dapat diterima tubuh menunjukkan kandungan HCN dapat menyebabkan kematian pada dosis 0,5-3,5 mg HCN/kg berat badan (Winarno 2002). Berdasarkan hasil penelitian, diasumsikan bahwa apabila orang mengonsumsi 100 g tempe koro babi maka total HCN yang masuk ke tubuh sebesar 0,072 mg/g bahan (jumlah tertinggi dari hasil penelitian) dikalikan dengan 100 g bahan, yaitu sebesar 7,2 mg HCN. Jika rata-rata berat manusia diasumsikan 50 kg maka didapatkan hasil HCN yang masuk ke tubuh sebesar 7,2 mg/50 kg berat badan atau 0,144 mg/kg berat badan. Dibandingkan dengan dosis HCN yang dapat menyebabkan kematian tersebut maka dapat dikatakan bahwa tempe koro babi dengan kadar HCN tertinggi pun masih layak untuk dikonsumsi. Tubuh manusia umumnya tidak tahan terhadap HCN pada dosis 0,06 gram. Apabila mengonsumsi HCN pada dosis *lethal*

(mematikan) tersebut, biasanya manusia sudah dapat mengalami kematian. Namun, ada juga yang masih mampu bertahan hidup dan disembuhkan meskipun telah mengonsumsi HCN sebanyak tiga kali lipat dari dosis *lethal* tersebut.

**Total fenol**

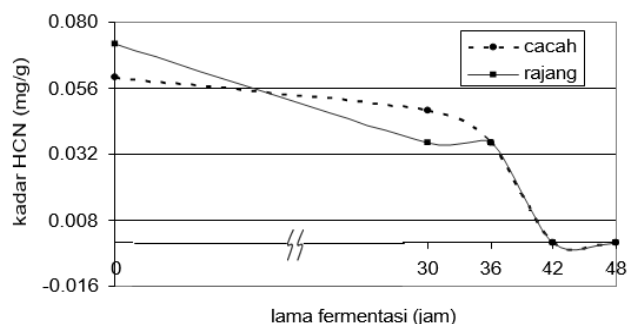
Komponen fenolik, atau disebut juga polifenol, merupakan produk metabolisme sekunder tanaman yang banyak terdapat pada tanaman. Substansi tersebut mempunyai berbagai macam struktur dan fungsi yang berbeda-beda. Secara umum, fenolik terdiri atas cincin aromatik yang mengikat satu atau lebih gugus hidroksil (Robards et al. 1999). Kadar total fenol pada tempe koro babi dengan variasi lama fermentasi dan pengecilan ukuran dapat dilihat pada Tabel 3.

Pada fermentasi selama 0 jam, kadar total fenol pada tempe dengan perlakuan pencacahan dan perajangan menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata, hal ini diduga disebabkan koro babi sama-sama belum terfermentasi. Begitu juga pada fermentasi selama 30 jam, kadar total fenol tempe dengan perlakuan pencacahan dan perajangan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Adapun pada fermentasi selama 36 jam, kadar total fenol tempe dengan perlakuan pencacahan dan perajangan menunjukkan perbedaan yang nyata. Pada fermentasi selama 42 jam,

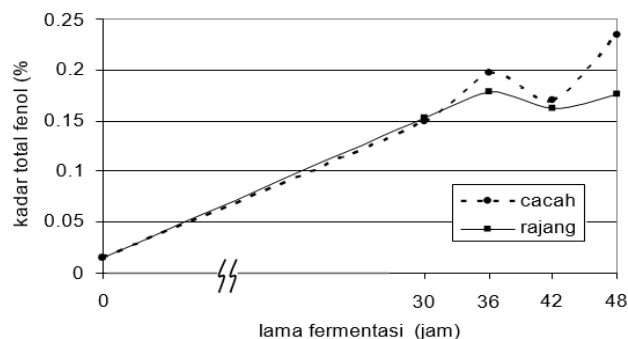
kadar total fenol berbeda nyata dengan waktu fermentasi sebelumnya, tetapi antara tempe dengan perlakuan perajangan dan pencacahan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Pada waktu fermentasi selanjutnya, yaitu selama 48 jam, kadar total fenol berbeda nyata dengan tempe dengan fermentasi selama 42 jam. Begitu juga perlakuan variasi pengecilan ukuran juga memberikan pengaruh terhadap kadar total fenol tempe koro babi.

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa variasi pengecilan ukuran biji koro babi berpengaruh terhadap kadar total fenol tempe koro babi. Variasi lama fermentasi tempe koro babi, dari 0 jam sampai dengan 48 jam juga berpengaruh terhadap kadar total fenol tempe koro babi. Selanjutnya, kenaikan kadar total fenol tempe koro babi dapat dilihat pada Gambar 2.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan kadar total fenol pada tempe koro babi dengan perlakuan perajangan lebih tinggi dibandingkan tempe koro babi dengan perlakuan pencacahan. Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa kadar total fenol yang diperoleh mengalami kenaikan pada masing-masing perlakuan pengecilan ukuran dan lama fermentasi, dengan demikian pengecilan ukuran dan lama fermentasi dapat meningkatkan kadar total fenol pada tempe koro babi.



**Gambar 1.** Kadar HCN selama fermentasi tempe koro babi



**Gambar 2.** Kenaikan kadar total fenol tempe koro babi

**Tabel 2.** Kadar asam sianida (mg/g db) tempe koro babi dengan berbagai perlakuan

Lama fermentasi (jam)	Pengecilan ukuran	
	Dicacah	Dirajang
0	0,060 <sup>d</sup>	0,072 <sup>e</sup>
30	0,048 <sup>c</sup>	0,036 <sup>d</sup>
36	0,036 <sup>d</sup>	0,036 <sup>d</sup>
42	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
48	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>

Keterangan: \*Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata antarperlakuan (p<0,05)

**Tabel 3.** Kadar total fenol (mg/g db) tempe koro babi dengan berbagai perlakuan

Lama fermentasi (jam)	Pengecilan ukuran	
	Dicacah	Dirajang
0	0,014750 <sup>a</sup>	0,014750 <sup>a</sup>
30	0,149900 <sup>b</sup>	0,152650 <sup>b</sup>
36	0,201825 <sup>f</sup>	0,178300 <sup>e</sup>
42	0,170400 <sup>d</sup>	0,162750 <sup>d</sup>
48	0,234400 <sup>g</sup>	0,192620 <sup>f</sup>

Keterangan: \*Superscript yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata antarperlakuan (p<0,05)

Pada kedua perlakuan pengecilan ukuran, dari fermentasi 0 jam hingga 36 jam, kadar total fenol terus mengalami peningkatan, namun pada fermentasi selama 42 jam kadar total fenol dengan perlakuan pencacahan dan perajangan mengalami penurunan. Lalu pada fermentasi selama 48 jam, kadar total fenol kembali mengalami kenaikan pada masing-masing variasi pengecilan ukuran.

Kemungkinan yang terjadi adalah pada 0-36 jam fermentasi terjadi pembentukan senyawa fenol oleh perombakan senyawa dalam tempe koro babi oleh mikrobia. Kadar total fenol paling tinggi diperoleh pada perlakuan fermentasi selama 36 jam, setelah itu terjadi penurunan kadar total fenol pada fermentasi selama 42 jam. Hal ini diduga disebabkan aktivitas mikrobia paling maksimal terjadi pada fermentasi selama 36 jam, setelah itu aktivitas mikrobia mengalami penurunan karena substrat telah habis dirombak, atau kondisi yang tidak lagi sesuai dengan syarat tumbuh mikrobia. Penyimpangan yang terjadi adalah pada fermentasi selama 48 jam, kadar total fenol kembali mengalami kenaikan. Hal ini diduga tempe telah mengalami *over fermented* akibat aktivitas lanjutan dari mikrobia yang menghasilkan bau dan terdeteksi sebagai fenol, sehingga kadar total fenol tempe koro babi kembali mengalami kenaikan setelah mengalami penurunan.

Koro babi mengandung senyawa antioksidan seperti asam fenolik, tanin, serta antosianin (Akroum 2009). Kemudian dalam tempe juga ditemukan suatu zat antioksidan dalam bentuk isoflavon. Seperti halnya vitamin C dan E serta karotenoid, isoflavon juga merupakan antioksidan yang sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk menghentikan reaksi pembentukan radikal bebas (Arthur 2009).

Menurut Arthur (2009), kedelai mengandung tiga jenis isoflavon, yaitu daidzein, glisitein, dan genistein. Disamping ketiga jenis isoflavon tersebut, tempe juga mengandung antioksidan faktor II (6,7,4-trihidroksi isoflavon) yang mempunyai sifat antioksidan paling kuat dibandingkan dengan isoflavon dalam kedelai. Antioksidan tersebut disintesis pada saat terjadinya proses fermentasi kedelai menjadi tempe oleh bakteri *Micrococcus luteus* dan *Coreyne bacterium*. Pada fermentasi tempe ditemukan adanya bakteri *Micrococcus* sp. Bakteri tersebut berbentuk kokus, termasuk gram positif, berpasangan tetrad atau kelompok kecil, bersifat aerob, tidak menghasilkan spora, serta dapat tumbuh baik pada media *nutrient agar* (NA) pada suhu 30°C dalam kondisi aerob. Bakteri tersebut menghasilkan senyawa isoflavon sebagai antioksidan.

## KESIMPULAN

Variasi pengecilan ukuran dan lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar HCN tempe koro babi,

semakin kecil ukuran biji koro dan semakin lama waktu fermentasi maka kadar asam sianidanya semakin rendah. Pada fermentasi selama 0, 30, 36, 42, dan 48 jam, kadar asam sianida biji koro babi dengan perlakuan pencacahan berturut-turut sebesar 0,060 mg/g, 0,048 mg/g, 0,036 mg/g, 0 mg/g, dan 0 mg/g, sedangkan untuk biji koro babi dengan perlakuan perajangan adalah 0,072 mg/g, 0,036 mg/g, 0,036 mg/g, 0 mg/g, dan 0 mg/g. Kadar asam sianida terendah terdapat pada tempe koro babi dengan perlakuan perajangan maupun pencacahan pada tempe dengan lama fermentasi 42 dan 48 jam, yaitu mencapai 0 mg/g bahan. Variasi pengecilan ukuran dan lama fermentasi juga berpengaruh terhadap kadar total fenol tempe koro babi, semakin kecil ukuran biji koro dan semakin lama waktu fermentasi maka kadar total fenol semakin rendah. Pada fermentasi selama 0, 30, 36, 42, dan 48 jam, kadar total fenol biji koro babi dengan perlakuan pencacahan berturut-turut sebesar 0,014750%, 0,149900%, 0,201825%, 0,170400%, dan 0,234400%, sedangkan untuk biji koro babi dengan perajangan sebesar 0,014750%, 0,152650%, 0,178300%, 0,162750%, dan 0,192620%. Kadar total fenol terendah terdapat pada tempe koro babi dengan perlakuan cacah dengan lama fermentasi selama 48 jam.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akroum S. 2009. Antimicrobial, antioxidant, cytotoxic activities and phytochemical. *Eur J Sci Res* 31 (2): 289-295.
- Arthur S. 2009. Fermentasi tempe. [sutikno.staff.uns.ac.id](http://sutikno.staff.uns.ac.id). [15 Juli 2009].
- Cheeke PR, Shull LR. 1985. *Natural Toxicant in Feed and Poisonous Plants*. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- Handajani S. 2008. *Peningkatan gizi masyarakat*. Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi, Jakarta.
- Kanetro B, Hastuti S. 2006. *Ragam produk olahan kacang-kacangan*. Universitas Wangsa Manggala Press, Yogyakarta.
- Kasmidjo RB. 1990. *Tempe: Mikrobiologi dan biokimia pengolahan serta pemanfaatannya*. Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi. UGM, Yogyakarta.
- Laela NR. 2008. *Kajian Kadar Asam Fitat dan Kadar Protein Selama Pembuatan Tempe Koro Benguk (Mucuna pruriens) dengan Variasi Pengecilan Ukuran dan Lama Fermentasi*. [Skripsi]. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Medikasari, Marniza. 2007. *Studi mutu kecap benguk: Pengaruh jenis dan konsentrasi kapang pada fermentasi koji*. Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Lampung, Lampung.
- Mega T, Matsushima Y. 1979. Comparative studies of three exo-β-glycosidases of *Aspergillus oryzae*. *J Biochem* 85: 335-341.
- Pitojo S. 2003. *Benih kedelai*. Kanisius, Yogyakarta.
- Robards K, Prenzler P, Tucker D et al. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative process in fruits. *Food Chem* 66: 401-436.
- Sovia L. 2006. *Senyawa flavanoida, fenil propanoida dan alkaloida*. Departemen Kimia, Universitas Sumatra Utara, Medan.
- Werdhastri S. 1993. Penurunan kadar glukosida sianogenik biji koro benguk (*Mucuna pruriens* DC) oleh aktivitas fermentasi *Aspergillus oryzae*, *A. sojae*, *Rhizopus oligosporus*, dan *R. oryzae*. *Agric Sci* 5 (2): 593-602.
- Winarno FG. 2002. *Kimia pangan dan gizi*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.