



# hasil penelitian

## PENGARUH KANDUNGAN ASAM FITAT TERHADAP KECERNAAN PROTEIN KEDELAI DAN HASIL OLAHANNYA

Oleh :

*Agus Setyono\* dan Marsono\*\**

### PENDAHULUAN

Asam fitat atau myo-inositol 1,2,3,4,5,6 - heksakis (dihidrogen) fosfat banyak terdapat di dalam biji-bijian dan hasil olahannya (Singh and Reddy, 1977; O'dell, 1969). Di dalam biji kacang-kacangan, jumlah P-fitat adalah sebesar 80 persen total P dalam biji tersebut (Lolas and Markakis, 1975) dan di dalam biji dapat berbentuk bebas atau berbentuk ikatan dengan mineral dan protein (Rackis and Anderson, 1977). Adanya fitat di dalam bahan makanan akan mengurangi ketersediaan mineral-mineral bagi tubuh, misalnya  $Zn^{++}$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Fe^{++}$ ,  $Ca^{++}$  dan masih banyak lagi (Harrison and Mellanby, 1939; Robert and Yudkin, 1960; O'Dell, 1969), karena selama pengolahan akan terbentuk senyawa fitat-mineral. Di dalam proses ekstraksi, asam fitat juga dapat berikatan dengan protein (Smith and Rackis, 1967).

Akibat terbentuknya ikatan antara asam fitat dengan mineral dan protein tersebut, maka perlu dipertimbangkan bahwa asam fitat merupakan salah satu faktor pembatas utama terhadap nilai gizi beberapa komponen bahan makanan. Asam fitat merupakan salah satu senyawa antigizi yang mempunyai pengaruh kurang baik terhadap aktivitas enzim, dapat mengura-

ngi gizi makanan dan dapat menyebabkan gangguan terhadap kesehatan (Elkowicz and Sosulski 1982). Aman dan Gillberg (1977) juga menyatakan bahwa adanya asam fitat di dalam suatu bahan makanan akan mengurangi nilai gizi bahan makanan tersebut. Asam fitat yang mengikat protein akan menghalangi pemecahan ikatan peptida protein (Barre, 1956).

Oleh karena makanan merupakan salah satu dari tiga kebutuhan utama yang harus dipenuhi oleh manusia, maka pengaruh kandungan asam fitat terhadap pencernaan protein dalam bahan makanan perlu diketahui agar pemanfaatan gizi terutama protein dapat dilakukan semaksimal mungkin. Dari jumlah protein yang dikonsumsi penduduk Indonesia, sebagian besar berasal dari tumbuh-tumbuhan atau biji-bijian, sedangkan biji-bijian tersebut mengandung asam fitat. Ini berarti bahwa protein biji-bijian yang dikonsumsi, tidak semuanya dapat dicerna oleh saluran pencernaan.

Tulisan ini merupakan hasil percobaan mengenai tingkat pencernaan protein yang berasal dari kedelai dan beberapa hasil olahan kedelai dengan menggunakan enzim pepsin. Walaupun pengujian pencernaan protein beberapa hasil olahan kedelai yang menggunakan enzim pepsin belum menggambarkan jumlah sesungguhnya protein yang dapat dicerna oleh saluran pencernaan, namun data tersebut akan memberikan suatu informasi yang cukup penting mengenai pengaruh asam fitat terhadap

\* Staf Peneliti pada Laboratorium Pasca Panen Karawang

\*\* Staf Pengajar pada FTP UGM

kecerna  
dapat c  
an lebih

BAHA

Be

Be

1. Kec

me

2. Kec

del

bat

TM

ber

3. Ko

der

kec

(1

trif

15

ka

su

ny

sel

lag

ga

nit

da

di

4. Te

ac

ju

vi

Selai

naan

masi

melij

fitat

Ferr

fitat

Bahu

2 - 5

sela

denq

Sup

ban

sent

kem

sela

sent

tan

kecernaan protein. Selain itu, data tersebut dapat dipergunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut.

## BAHAN DAN CARA PENELITIAN

### Bahan Penelitian.

Bahan yang diteliti adalah :

1. Kedelai, berupa tepung berukuran 60 mesh.
2. Kedelai terkupas, hasil pengupasan kedelai dengan mesin pengupas jenis batu amril (Satake Owner Manual TM-05). Kedelai ini juga berupa tepung berukuran 60 mesh.
3. Konsentrat protein kedelai, diperoleh dengan cara mengekstraksi tepung kedelai (60 mesh) dengan akuades (1 : 10) selama 1 jam, selanjutnya disentrifugasi dengan gaya 1000 g selama 15 menit. Kemudian supernatan dipisahkan. Untuk masing - masing contoh supernatan yang diperoleh, diatur pH nya menjadi pH 3,0, pH 6,0 dan pH 9,0, selanjutnya proses ekstraksi dilanjutkan lagi selama 1 jam. Setelah itu disentrifugasi dengan gaya 4000 g selama 15 menit. Supernatan kemudian dipisahkan dan endapan protein yang diperoleh diuji tingkat kecernaannya.
4. Tempe dan tahu yang diperoleh secara acak dari beberapa pasar di Yogyakarta, juga diuji tingkat kecernaannya secara in vitro.

Selain dilakukan pengujian tingkat kecernaan proteinnya, bahan tersebut masing-masing juga dilakukan pengujian kimiawi meliputi analisis asam fitat dan protein.

### Cara Analisis Kimiawi

Analisis asam fitat. Cara analisis asam fitat menggunakan metode Wheeler dan Ferrel (1971). Secara singkat analisis asam fitat dapat dilakukan sebagai berikut. Bahan berupa tepung (40 mesh) sebanyak 2 - 5 g diekstraksi dengan 50 ml 3 % TCA selama 30 menit, kemudian disentrifugasi dengan gaya 4000 g selama 15 menit. Supernatan dipisahkan, dan diambil sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi 40 ml dan ditambah 4 ml  $\text{FeCl}_3$ , kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 45 menit. Aliquot ini kemudian disentrifugasi selama 15 menit dan supernatan dipisahkan secara hati-hati. Endapan

yang diperoleh dicuci dua kali dengan 20 ml -25 ml 3% TCA dan langkah selanjutnya seperti di atas. Endapan yang diperoleh dicuci sekali lagi dengan akuades, kemudian disentrifugasi dan supernatan dipisahkan.

Endapan yang diperoleh disemprot dengan beberapa mililiter akuades, kemudian ditambah 3 ml 1,5 N NaOH. Penambahan NaOH untuk merubah  $\text{Fe}_4$ -fitat menjadi  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ . Endapan diencerkan menjadi 30 ml dan dipanaskan dalam penangas air selama 30 menit, kemudian disaring pada saat keadaan panas.

Endapan yang tertinggal dalam kertas saring dilarutkan dalam 40 ml 3,2 N  $\text{HNO}_3$  panas, selanjutnya diencerkan menjadi 100 ml. Aliquot sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml ditambah 60 ml akuades dan 20 ml 1,5 M KSCN, selanjutnya diencerkan sampai tanda. Segera dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 480 nm. Beberapa larutan standar feri-nitrat juga ditera absorbansinya pada panjang gelombang 480 nm dan dibuat kurve standar. Asam fitat atau P fitat dalam contoh dapat dihitung berdasarkan hasil penghitungan Fe dari larutan standar (kurve standar) dengan perbandingan molekul Fe : P = 4 : 6.

Analisis N total. Analisis N total menggunakan alat Kjeltac Auto 1030 Analyzer dari Tecator dengan cara sebagai berikut :

Timbang secara tepat bahan sebanyak 200 mg atau beberapa ml bahan yang berupa cairan, dimasukkan ke dalam tabung destruksi dan ditambah 1 tablet special Kjeltabs. Tambahkan 5 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat dan 10 tetes  $\text{H}_2$ . Kemudian larutan tersebut dipanaskan selama  $\pm$  1 jam sampai diperoleh larutan yang jernih. Angkat dan didinginkan selama 5 menit sampai 10 menit, kemudian ditambah akuades sebanyak 50 ml. Contoh tersebut siap untuk didistilasi dan dipasang pada Unit Kjeltac Auto Analyzer Systems untuk dianalisis.

Hasil analisis N total (% protein) dapat dibaca langsung pada display dengan mencantumkan kadar faktor proteinnya.

Perhitungan :

$$\text{mg N} = (\text{ml titran} - \text{ml blangko}) \times \text{molar HCl} \times 14,01$$

### Cara Pengujian Kecernaan Protein.

Pengujian pencernaan protein secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode Tanaka *et al.* (1978).

Bahan yang berupa tepung (60 mesh) yang mengandung protein 100 mg sampai 200 mg dilarutkan dalam 9 ml 0,1 N buffer Walpole pH 2,0 ditambah 1 ml 2 % enzim pepsin, kemudian diinkubasikan selama 5 jam pada suhu 37°C sambil diaduk dengan magnet stirer.

Selanjutnya disentrifugasi pada 3000 rpm selama 20 menit, kemudian supernatan diambil sebanyak 5 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ke dalam supernatan tersebut ditambahkan 5 ml 20 % TCA (trikloro asam asetat) dan diinkubasikan pada suhu kamar (25°C — 27°C) selama 15 jam. Selanjutnya disaring dengan kertas Whatman No. 41. Nitrogen protein dalam filtrat tersebut dianalisis dengan mikro Kjeldahl.

Persentase protein tercerna (%) =

$$\frac{\text{mg N dalam filtrat} \times 6,25 \times 2}{\text{mg Bahan} \times \% \text{ protein bahan}} \times 100\%$$

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Kandungan asam fitat kedelai adalah cukup tinggi, yaitu sebesar 1,95%, sedangkan kandungan asam fitat konsentrat protein kedelai antara 1,74% sampai 7,6% dan

tahu serta tempe masing-masing sebesar 1,25% dan 0,96% (tabel 1). Kedelai yang mengalami pengupasan secara mekanik mengandung asam fitat lebih rendah yaitu sebesar 0,22%. Proses pengupasan akan memisahkan lapisan aleuron biji kedelai yang banyak mengandung asam fitat, sehingga kandungan asam fitat kedelai yang terkupas menjadi menurun. Di dalam proses pembuatan tempe, *Rhizopus oligosporus* menghasilkan enzim fitase yang dapat menghidrolisis asam fitat menjadi inositol dan orthofosfat, sehingga kandungan asam fitat kedelai (tempe) menjadi menurun (Sudarmadji and Markakis, 1977). Di dalam proses ekstraksi kedelai, asam fitat dapat berikatan dengan protein, sehingga konsentrat protein yang dihasilkan mengandung asam fitat yang besarnya bervariasi, tergantung pada pH ekstraksi.

Adanya asam fitat yang mengikat protein akan menghalangi pemecahan ikatan peptida protein (Barre, 1956), sedangkan Aman dan Gillberg (1977) menyatakan bahwa adanya asam fitat di dalam suatu bahan makanan akan mengurangi nilai gizi makanan yang dihasilkan. Asam fitat juga menghambat aktivitas enzim tripsin (Singh and Krikorian, 1982) dan enzim amilase (Deshpande and Cheryan, 1984).

Dari uraian ini jelaslah bahwa asam fitat yang terdapat di dalam bahan makanan akan merugikan baik terhadap penyerapan mineral dan protein maupun terhadap aktivitas enzim endogen.

Tabel 1. Kandungan asam fitat kedelai dan beberapa hasil olahannya.

Bahan	Asam fitat (% bk)
Kedelai	1,95
Kedelai terkupas	0,22
Konsentrat protein hasil ekstraksi :	
pH 3,0	1,74
pH 6,0	6,27
pH 9,0	7,60
Tahu	1,25
Tempe	0,96

Hi  
dan be  
bahwa  
dung  
Kedelai  
protein  
tein ha  
pH 9,  
dung  
69,51%  
tahu  
masing  
sar 45  
banyak  
dalam  
masin,  
per ta  
kedelai  
tahun

prot  
adal  
any  
dice  
pen  
cerra  
dan  
enzi  
Kec  
lai  
Kor  
pad

Hasil analisis N total (protein) kedelai dan beberapa hasil olahannya menunjukkan bahwa kedelai dan hasil olahannya mengandung protein yang cukup tinggi (tabel 2). Kedelai yang tidak dikukus mengandung protein sebesar 45,42% dan konsentrat protein hasil ekstraksi pada pH 3,0, pH 6,0 dan pH 9,0 yang juga tidak dikukus mengandung protein berturut-turut sebesar 69,51%, 65,46% dan 59,31%. Tempe dan tahu merupakan hasil olahan kedelai, masing-masing mengandung protein sebesar 45,44% dan 67,94%. Tempe dan tahu banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia dalam jumlah yang cukup tinggi, masing-masing sebesar 4,25 % kedelai per kapita per tahun (Wardoyo, 1981). Total konsumsi kedelai adalah 9,11 kg per kapita per tahun, sedangkan konsumsi beras sebesar

111,83 kg per kapita per tahun (Wardoyo, 1981). Apabila dihitung secara kasar, maka jumlah konsumsi protein yang berasal dari kedelai adalah 4,137 kg protein per kapita per tahun atau 11,49 g protein per kapita per hari, sedangkan jumlah konsumsi protein yang berasal dari beras adalah 8,946 kg per kapita per tahun atau 24,85 g protein perkapita per hari. Angka tersebut di atas menunjukkan bahwa jumlah konsumsi protein kedelai hampir setengah dari konsumsi protein beras yang merupakan makanan pokok penduduk Indonesia. Apabila dibandingkan dengan kebutuhan protein penduduk Indonesia yang besarnya 46 g protein per kapita per hari, maka konsumsi protein yang berasal dari kedelai mencapai sekitar 25% dari total kebutuhan protein.

Tabel 2. Kandungan protein kedelai dan beberapa hasil olahannya.

Bahan	Kadar protein, persen (bk)	
	1)	2)
Kedelai	45,42	45,01
Kedelai terkupas	50,04	
Konsentrat protein hasil ekstraksi :		
pH 3,0	69,51	70,00
pH 6,0	65,46	67,86
pH 9,0	59,31	62,17
Tahu	67,94	
Tempe	45,44	

1): Bahan yang tidak dikukus

2): Bahan dikukus selama 4 jam.

Sebenarnya penghitungan konsumsi protein seperti yang dikemukakan di atas adalah kurang tepat, karena pada kenyataannya protein kedelai tidak semuanya dapat dicerna secara sempurna oleh saluran pencernaan. Hasil pengujian terhadap kecernaan protein yang berasal dari kedelai dan hasil olahannya dengan menggunakan enzim pepsin, dapat dilihat pada tabel 3. Kecernaan protein yang berasal dari kedelai yang tidak dikukus sebesar 52,93%. Konsentrat protein kedelai hasil ekstraksi pada pH 3,0, pH 6,0 dan pH 9,0 mengand-

ung protein yang lebih tinggi (tabel 2), tetapi kecernaan proteinnya adalah lebih rendah, yaitu sebesar 26,76% sampai 32,64 % (tabel 3), sedangkan kecernaan protein tahu dan tempe masing-masing sebesar 31,61 % dan 84,57 %. Kecernaan protein kedelai dan konsentrat protein kedelai yang telah mengalami pengukusan adalah lebih rendah dari pada bahan yang tidak dikukus (tabel 3). Tabel 2 dan 3 menunjukkan bahwa konsentrat protein kedelai mengandung protein yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kadar protein

dalam biji kedelai, tetapi pencernaan proteinnya adalah lebih rendah, yaitu mengalami penurunan sebesar 38,34 % sampai 49,45 % (tabel 3). Begitu pula proses pengolahan tahu akan mengurangi pencernaan proteinnya sebesar 40,28%. Pencernaan protein yang berasal dari tempe adalah yang paling tinggi yaitu sebesar 84,57% atau terjadi peningkatan pencernaan protein sebesar 59,76% bila dibandingkan dengan pencernaan protein yang berasal dari kedelai.

Telah dibahas pada bab pendahuluan, bahwa kedelai mengandung beberapa senyawa anti gizi yang dapat berikatan dengan mineral dan protein selama proses pengolahan kedelai. Untuk mempelajari bentuk ikatan antara komponen-komponen yang ada di dalam biji kedelai selama pengolahan agak rumit. Tetapi penulis akan membahas dan menyajikan bentuk ikatan tersebut dalam tulisan atau makalah pada kesempatan yang lain.

Asam fitat yang ada di dalam biji kedelai (Smith and Rackis, 1957; Makower, 1970; Sudarmadji and Markakis, 1977) selama proses pengolahan akan berikatan dengan mineral dan protein dan bentuk

ikatannya dipengaruhi oleh kondisi pengolahannya. Senyawa fitat-protein terbentuk selama proses ekstraksi dan merupakan senyawa yang tidak larut (Bourdillon, 1951; Smith and Rackis, 1957). Dengan demikian penulis menduga bahwa terbentuknya senyawa fitat-protein tersebut akan mempengaruhi pencernaan protein yang ada di dalam bahan makanan tersebut. Apabila dilihat pada tabel 1, kedelai terkupas mengandung asam fitat jauh lebih rendah dari pada kedelai yang tidak dikupas, tetapi jumlah protein yang dapat dicerna adalah sebesar 71,16 % atau terjadi peningkatan sebesar 34,44 %. Baik konsentrat protein kedelai maupun tahu mengandung asam fitat yang cukup tinggi (tabel 1) yang diduga berikatan dengan protein, menyebabkan penurunan pencernaan protein antara 38,34% sampai 49,45% (tabel 3). Hasil penelitian Gillberg (1977) juga menunjukkan bahwa isolat protein kedelai yang dapat dicerna (NPU = net protein utilization) sebesar 58 %, sedangkan protein bungkil kedelai mempunyai NPU sebesar 66 %. Telah dikemukakan bahwa asam fitat yang terikat oleh protein tersebut akan menghalangi pemecahan ikatan peptida protein (Barre. 1956).

**Tabel 3. Penurunan/kenaikan pencernaan protein kedelai dan hasil olahannya.**

Bahan	Pencernaan protein dengan pepsin		Penurunan (—) atau peningkatan (+) pencernaan protein	
	(%)		(%)	
	1)	2)	1)	2)
Kedelai	52,93	49,51	0,00	0,00
Kedelai terkupas	71,16		(+) 34,44	
Konsentrat protein hasil ekstraksi :				
pH 3,0	30,60	25,38	(—) 42,19	(—) 48,74
pH 6,0	32,64	26,81	(—) 38,34	(—) 22,70
pH 9,0	26,76	22,76	(—) 49,45	(—) 54,04
Tahu	31,61		(—) 40,28	
Tempe	84,54		(+) 59,76	

1) : Bahan tanpa dikukus

2) : Bahan dikukus selama 4 jam.

Walaupun tempe juga masih mengandung asam fitat yang tinggi, yaitu 0,96%, namun pencernaan protein tempe adalah sangat tinggi (84,54 %) dan mengalami kenaikan sebesar 59,76 % bila dibandingkan dengan pencernaan protein kedelai (tabel 3). Hal ini kemungkinan bahwa protein yang ada di dalam tempe sebagian sudah ada yang terpecah oleh enzim proteinase (proteolitik) yang diproduksi oleh jamur *Rhizopus*. Dengan demikian protein tempe mempunyai tingkat pencernaan yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan tahu dan kedelai serta konsentrat protein kedelai. Dari hasil analisis asam fitat, protein dan pencernaan protein tersebut, membuktikan bahwa kandungan asam fitat bahan makanan mempunyai pengaruh yang nyata terhadap pencernaan protein bahan makanan tersebut.

#### KESIMPULAN

Dari uraian yang telah dikemukakan seperti tersebut di atas dapat ditarik beberapa kesimpulan :

1. Kedelai dan hasil olahannya mempunyai potensi yang tinggi sebagai sumber protein, tetapi juga mengandung asam fitat.
2. Besarnya kandungan asam fitat dalam bahan makanan akan mengurangi pencernaan protein yang ada di dalam bahan makanan tersebut.
3. Pencernaan protein kedelai dan hasil olahannya berkisar antara 22,76 % sampai 84,54 %.
4. Pencernaan protein tempe adalah yang paling tinggi, yaitu mencapai 84,54 % bila dibandingkan dengan pencernaan protein kedelai dan hasil olahan yang lain.
5. Proses pemanasan kedelai mempengaruhi pencernaan protein yang dihasilkan.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Aman, P., and L. Gillberg, 1977. *J. Food Sci.*, 42 : 1114 - 1116.
- Barre, R.M., 1956. *Ann. Pharm. Franc.*, 14 : 182 - 187.
- Bourdillon, J., 1951. *J. Biol. Chem.*, 189 : 65 - 72.
- Deshpande, S.S., and M. Cheryan, 1984. *J. Food Sci.*, 49 : 516 - 524.
- Elkowics, K., and F. W. Sosulski, 1982. *J. Food Sci.*, 47 : 1301 - 1304.
- Gillberg, L., 1977. *Nutr. Rep. Int.*, 16 : 603 - 611.
- Harrison, D.C., and E. Mellanby, 1939. *Biochem. J.*, 33 : 1660 - 1680.
- Lolas, G.M., and P. Markakis, 1975. *J. Food Sci.*, 42 : 1094 - 1097.
- Makower, R.U., 1970. *Cereal Chem.*, 47 : 288 - 295.
- O'Dell, B.L., 1969. *Am. J. Clin. Nutr.*, 22 : 1315 - 1322.
- Rackis, J.J., and R.L. Anderson, 1977. *Food Prod. Dev.*, 11 : 38 - 40.
- Robert, A.H., and J. Judkin, 1961. *Brit. J. Nutr.*, 15 : 457 - 471.
- Singh, B., and N.R. Reddy, 1977. *J. Food Sci.*, 42 : 1077 - 1097.
- Singh, M., and A.D. Krikorian, 1982. *J. Agric. Food Chem.*, 30 : 799 - 800.
- Smith, A.K., and J.J. Rackis, 1957. *J. Am. Chem. Soc.*, 79 : 633 - 637.
- Sudarmadji, S., and P. Markakis, 1977. *J. Sci. Food Agric.*, 28 : 381 - 383.
- Tanaka, Y., A.P. Resurreccion, B.O. Julian and D.B. Bechtel, 1978. *Agr. Biol. Chem.*, 42 : 2015 - 2029.
- Wardoyo, 1981. *Direktorat Jenderal Pertanian Tanaman Pangan*, 28 h.
- Wheeler, E.L., and R.E. Ferrel, 1971. *Cereal Chem.*, 48 : 312 - 320.