

Wiryatun Lestariana dan Malyah Madiyan, 1988, *Penetapan Kadar Vitamin A dalam Bahan Pangan*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.

Yana Astuti, 1997, *Analisis Kadar β -karoten pada Buah Pepaya Segar Setelah Pengolahan secara Spektroskopi*, Laporan Penelitian, Yogyakarta: FMIPA UNY.

PENGARUH LAMA FERMENTASI TEMPE KEDELAI TERHADAP AKTIVITAS TRIP SIN

Oleh:

Retno Arianingrum, Eddy Sulistyowati, dan Das Salirawati
Staf Pengajar FMIPA UNY

Abstract

The aim of the research is to study the effect of the duration of fermentation process toward the content of soluble protein in tempe from soybean, and the activity of trypsin enzyme toward that protein. The content of soluble protein was analyzed by Lowry method using casein as solution standard, and the trypsin activity was determined by Anson method. The duration of fermentation process were 0, 24, 48, 72, 96, and 120 hours. The research indicated that the content of soluble protein in tempe during fermentation process for 0, 24, 48, 72, 96, and 120 hours were 0.172; 0.212; 0.217; 0.197, and 0.158% (w/w) respectively, and the activity of trypsin toward the that soluble protein were 1.35; 2.33; 2.73; 2.13; 1.17 and 0.78 unit. It was indicated that the duration of fermentation process influenced the content of soluble protein and trypsin activity. The highest of trypsin activity was in fermentation process for 48 hours.

Keywords: tempe from soybean, the duration of fermentation process, and trypsin activity

PENDAHULUAN

Protein merupakan komponen penting bagi sel hewan maupun manusia. Fungsi utamanya adalah sebagai unsur pembentuk struktur sel. Di samping itu berfungsi pula sebagai protein yang aktif, yaitu sebagai enzim yang berperan dalam mengkatalis berbagai proses biokimia dalam sel (Wirahadikusumah, M., 1989: 8).

Protein adalah sumber asam amino. Ada 2 (dua) jenis asam amino, yaitu asam amino *essential* yang tidak dapat dibuat oleh tubuh dan asam amino *non essential* yang dapat dibuat oleh tubuh (Poedjadi, A., 1994: 94). Kebutuhan akan asam amino *essential* dapat diperoleh dari bahan makanan berprotein tinggi yang dikonsumsi tubuh, salah satunya adalah dari tanaman kacang-kacangan seperti kedelai yang dapat diolah menjadi tempe, tahu, susu dan kecap.

Bahan makanan yang mengandung protein di dalam tubuh akan diserap oleh usus dalam bentuk asam amino. Salah satu enzim yang berperan dalam menghidrolisis protein menjadi asam amino adalah enzim tripsin. Tripsin adalah enzim pencernaan yang dapat menghidrolisis ikatan peptida dari polipeptida menjadi oligopeptida dan asam amino. Tripsin disekresikan dalam bentuk tripsinogen yang tidak aktif oleh sel-sel pankreas. Tripsinogen akan diaktifkan menjadi bentuk tripsin oleh enzim enterokinase dalam usus kecil. Enzim tripsin memiliki spesifikasi kerja, yaitu hanya memecah ikatan-ikatan peptida yang mengandung gugus karboksil arginin atau lisin (Noor, Z., 1989:15).

Tempe kedelai merupakan salah satu makanan yang populer di Indonesia. Selain murah harganya dan enak rasanya, kandungan protein di dalam tempe cukup tinggi dan banyak mengandung asam amino lisin. Tempe dapat dibuat dari bahan dasar kedelai ataupun

jenis tanaman kacang-kacangan yang lain melalui proses fermentasi menggunakan *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae*. Kedua jenis jamur ini berkemampuan untuk mengubah kedelai menjadi asam amino dan protein lain yang cepat larut bila dikonsumsi, sehingga kandungan protein yang dapat diserap oleh tubuh akan lebih tinggi dibandingkan bila hanya dikonsumsi dalam bentuk kedelai (Wood, B.J.B., 1985: 230).

Namun demikian, di dalam kedelai juga terkandung senyawa antigizi yang dapat mengurangi manfaat kedelai sebagai sumber protein. Salah satu senyawa antigizi yang terdapat dalam kacang-kacangan adalah **senyawa antitripsin**. Senyawa antitripsin adalah senyawa yang **menghambat kerja tripsin** yang dihasilkan oleh pankreas, sehingga protein makanan tidak dapat diuraikan atau dicerna oleh enzim di dalam tubuh. Dengan demikian tidak terbentuk asam-asam amino yang di perlukan untuk pembentukan/ sintesis jaringan tubuh (Sutrisno, 1995:19). Senyawa antitripsin mempunyai efek menghambat pertumbuhan badan yang peng-hambatannya dapat mencapai 40% dari normal (Winarno, F.G., 1983:46). Senyawa antitripsin dapat berupa protein atau non protein. Menurut Hafez dan Mohamed (1983), senyawa anti tripsin yang terdapat dalam kedelai ada yang berupa senyawa anti tripsin non protein atau NPPTI (*Non Protein Trypsin Inhibitor*) yang

besarnya antara 27-55% dari aktivitas total antitripsin. Jumlah ini besarnya tergantung pada jenis kedelai.

Pada proses fermentasi dalam pembuatan tempe kedelai terjadi perubahan-perubahan susunan zat gizi di dalam kedelai, dan diduga berpengaruh juga terhadap kadar senyawa antitripsinnya. Oleh karena itu perlu dilakukan suatu penelitian untuk mengetahui profil kadar senyawa anti tripsin selama proses fermentasi pembuatan tempe. Kadar senyawa anti-tripsin dapat dipelajari dengan melihat besarnya aktivitas tripsin terhadap protein terlarut yang terdapat di dalam tempe kedelai selama berlangsungnya proses fermentasi. Bila kadar protein meningkat dan aktivitas tripsin menurun, berarti semakin besar kadar senyawa antitripsin dalam tempe kedelai. Cara ini lebih mudah dan murah bila dibandingkan dengan menghitung kadar senyawa anti tripsinnya, oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi kedelai terhadap kadar protein terlarut dalam tempe kedelai, dan mengetahui pengaruh lama fermentasi kedelai terhadap aktivitas tripsin pada protein terlarut dalam tempe kedelai.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan desain *one shot case study*, yaitu memberikan perlakuan terhadap variabel bebas, kemudian mengamati hasil pada variabel terikat.

Populasi dalam penelitian ini adalah kedelai sebagai bahan dasar pembuatan tempe kedelai yang di jual di daerah Kotamadya Yogyakarta. Sampel dalam penelitian ini adalah kedelai yang diperoleh dari sebuah toko di Jl. Achmad Dahlan. Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive random sampling*, yaitu memilih biji kedelai yang berkualitas baik untuk digunakan dalam pembuatan tempe kedelai.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah Spektromic 20 D⁺ (merk MILTON ROY), sentrifus (Jouan B₃ 11), pH meter, blender, neraca analitik, vortex (Thermolyne type 37600 mixer), pemanas air, stopwatch, kompor, pengukus, daun pisang, kertas saring, pengaduk magnet, almari es, dan peralatan gelas (tabung reaksi, pipet tetes, gelas beker, labu ukur, pipet ukur, corong gelas). Bahan yang digunakan adalah serbuk inokulum biakan jamur *Rhizopus oligosporus* dari LIPi (merk RAPPIMA), biji kedelai, tripsin (E Merck), kasein, asam trikloroasetat (TCA), kristal NaH₂PO₄·2H₂O, kristal Na₂HPO₄·2H₂O, kristal NaOH, kristal Na₂CO₃, kristal CuSO₄·5H₂O, kristal NaKC₄H₄O₆·4H₂O, reagen Folin-Ciocalteu, dan akuades. Validasi instrumen dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan optimasi kondisi penelitian, seperti waktu kestabilan dan panjang gelombang maksimum.

Proses Pembuatan Tempe

Proses pembuatan tempe kedelai dilakukan dengan memilih biji kedelai yang berkualitas baik dicuci sampai bersih kemudian direbus lebih kurang selama 60 menit sampai masak (setiap 1 kg biji kedelai membutuhkan sekitar 2,5 liter air). Biji kedelai selanjutnya direndam semalam. Setelah perendaman kulit biji kedelai dikupas dan dicuci hingga bersih, kemudian dikukus selama 45 menit. Biji kedelai tersebut kemudian ditiriskan dan setelah dingin ditambahkan (diinokulasi) jamur tempe *Rhizopus oligosporus* sebanyak 2 g untuk 1 kg biji kedelai dan dicampur hingga rata. Selanjutnya dibungkus dengan daun pisang dan diinkubasi pada suhu kamar masing-masing selama 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan 120 jam (Suliantari dan Rahayu, W.P., 1990).

Analisis Kadar Protein Terlarut

Preparasi sampel untuk analisis kadar protein dilakukan dengan menimbang masing-masing sebanyak 1 g tempe kedelai hasil fermentasi selama 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan 120 jam yang sudah dihaluskan dengan blender dilarutkan dengan 50 mL buffer fosfat pH 8, dan diaduk dengan pengaduk magnet. Selanjutnya campuran disentrifus dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dipindahkan ke dalam labu takar 50 mL, kemudian ditambahkan buffer fosfat pH 8 sampai tanda batas.

Analisis kadar protein terlarut dilakukan dengan metode Lowry menggunakan larutan standar kasein dengan konsentrasi 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09 dan 0,10 mg/mL. Masing-masing larutan diambil 0,6 mL, kemudian ditambah air hingga 1,2 mL. Selanjutnya ditambahkan 6,0 mL reaksi Lowry C (terdiri dari 1 mL larutan $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% (b/v), 1 mL larutan $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ 2% (b/v) dan 98 mL larutan Na_2CO_3 2% (b/v) dalam NaOH 0,1 N), dan di kocok dengan vortex, dan didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit. Larutan kemudian ditambahkan dengan 0,3 mL reagen Folin-Ciocalteu, segera dikocok dengan vortex dan didiamkan selama 60 menit. Selanjutnya diamati absorbansinya pada panjang gelombang maksimum, yaitu 710 nm. Sebagai blanko digunakan 1,2 mL akuades dan ditambahkan reaksi seperti pada larutan standar.

Pentuan Aktivitas Enzim

Pentuan aktivitas enzim tripsin dilakukan dengan metode Anson dengan terlebih dahulu mencari pH dan suhu optimum untuk penentuan aktivitas enzim tripsin menggunakan substrat ekstrak kedelai. Dalam penentuan aktivitas enzim disiapkan tiga tabung, yaitu tabung eksperimen, tabung kontrol, dan tabung blanko.

Untuk tabung eksperimen diisi dengan 5 mL filtrat tempe kedelai hasil fermentasi, dan diprairinkubasi selama 5 menit pada

suhu 37°C. Selanjutnya ditambahkan 2 mL larutan enzim tripsin dalam buffer fosfat dengan pH optimum (pH 8), kemudian dikocok dengan *vortex* dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu optimum (37°C). Proses inkubasi dihentikan tepat pada waktu 20 menit (dihitung dari penambahan enzim). Selanjutnya reaksi dihentikan dengan cara menambahkan 3 ml larutan TCA 20% (b/v) dan di aduk dengan *vortex*. Masing-masing tabung kemudian di masukkan dalam air es selama 30 menit. Campuran disentrifus dan disaring dengan kertas saring. Filtratnya diuji dengan metode Anson, yaitu mencampurkan 2 mL larutan filtrat dengan 4 mL NaOH 0,5 M. Selanjutnya didiamkan selama 10 menit dan ditentukan absorbansi pada panjang gelombang 650 nm.

Untuk kontrol tabung di dimasukkan terlebih dahulu 2 mL larutan enzim tripsin, kemudian ditambahkan 3 mL TCA 20% (b/v) dan 5 mL larutan filtrat tempe kedelai dari hasil fermentasi (sebagai substrat). Selanjutnya dilakukan perlakuan yang sama seperti tabung eksperimen.

Untuk tabung blanko dimasukkan 2 mL larutan buffer fosfat dengan pH 8, kemudian ditambahkan 3 mL larutan TCA 20% (b/v) dan 5 mL akuades serta diaduk dengan *vortex*. Masing-masing larutan tersebut diambil 2 mL kemudian ditambahkan dengan 4 mL NaOH 0,5 M dan diaduk. Selanjutnya ditambahkan 1 mL reagen

Folin-Ciocalteu dan didiamkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 650.

Teknik Analisis Data

Konsentrasi protein terlarut dalam sampel (mg/mL) dihitung dengan persamaan garis lurus yang diperoleh dari kurva standar kasein, selanjutnya dinyatakan dalam % b/b dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Protein Terlarut dalam Sampel (\% b/b)} = \frac{\text{Berat Protein Terlarut}}{\text{Berat Sampel}} \times 100 \%$$

Aktivitas enzim tripsin dihitung dengan mencari selisih serapan antara tabung eksperimen dengan kontrol. Satu unit aktivitas enzim tripsin adalah banyaknya enzim tripsin yang bekerja spesifik pada substrat protein dan menghasilkan produk dengan kenaikan serapan sebesar 0,001 per menit dari serapan kontrol pada kondisi percobaan. Rumus yang digunakan:

$$A = \frac{At - A0}{0,001 \times t}$$

A = aktivitas enzim tripsin

At = absorbansi pada waktu t menit

A0 = absorbansi pada waktu 0 menit

t = waktu inkubasi (menit), dalam penelitian ini digunakan t = 20 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses Pembuatan Tempe

Pada penelitian ini tempe kedelai dibuat melalui proses fermentasi biji kedelai menggunakan jamur *Rhizopus oligosporus*, melalui beberapa tahap perlakuan, yaitu: sortasi, pembersihan, perebusan, perendaman, penghilangan kulit, perebusan (pengkusan), penirisan, pendinginan, dan inokulasi dengan jamur. Sortasi dilakukan untuk memilih biji kedelai yang berkualitas baik dan selanjutnya dilakukan perebusan dan perendaman yang bertujuan untuk mempermudah biji kedelai dan menghilangkan beberapa komponen antigizi yang tidak stabil pada pemanasan. Biji kedelai yang lunak akan mempermudah enzim protease yang dihasilkan oleh jamur dalam melakukan aktivitasnya. Proses penghilangan kulit biji kedelai dilakukan untuk memudahkan penetrasi *miselia* jamur ke dalam jaringan biji kedelai, karena *miselia* yang dihasilkan jamur sulit untuk menembus kulit biji kedelai. Sebelum inokulasi, dilakukan pengkusan yang bertujuan untuk mematikan bakteri-bakteri kontaminan yang dapat mengganggu proses fermentasi. Penirisan setelah proses pengkusan dilakukan untuk mengurangi kandungan air dalam biji kedelai yang dapat menstimulasi pertumbuhan bakteri kontaminan dan menghambat pertumbuhan jamur. Dalam penelitian ini inokulasi dengan jamur dilakukan setelah biji kedelai dingin untuk menyesuaikan dengan kondisi

optimum untuk pertumbuhan jamur *Rhizopus oligosporus*. Menurut Sudarmadji, S., (1982: 22), suhu optimum untuk *Rhizopus oligosporus* adalah 30 - 42°C.

Pada 0 - 24 jam fermentasi kedelai telah terjadi pertumbuhan jamur yang terlihat dengan terbentuknya *miselia* pada permukaan biji kedelai. Pertumbuhan jamur mencapai optimal pada lama fermentasi 48 jam, dimana seluruh permukaan biji kedelai telah tertutup dengan *miselia* dan terlihat sebagai massa dengan tekstur lebih kompak. Di samping itu juga terbentuk flavor spesifik tempe. Pada tempe hasil fermentasi 72 jam pertumbuhan jamur hampir tetap bahkan cenderung menurun, dan pada tempe hasil fermentasi 96 jam mulai tampak terjadi perubahan warna tempe menjadi kecoklatan dan pada fermentasi 120 jam terjadi proses pembusukan tempe dan perubahan flavor yang disebabkan karena degradasi protein lanjut sehingga terbentuk amonia. Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa proses fermentasi tempe kedelai yang optimal adalah pada lama fermentasi 48 jam. Hal ini sesuai penelitian yang telah dilakukan oleh Rahayu, K. dan Sudarmaji, S., (1989: 281), yaitu fermentasi selama 30 - 50 jam merupakan tahap optimal fermentasi tempe dan siap dipasarkan.

Perubahan Kadar Protein Terlarut Selama Proses Fermentasi

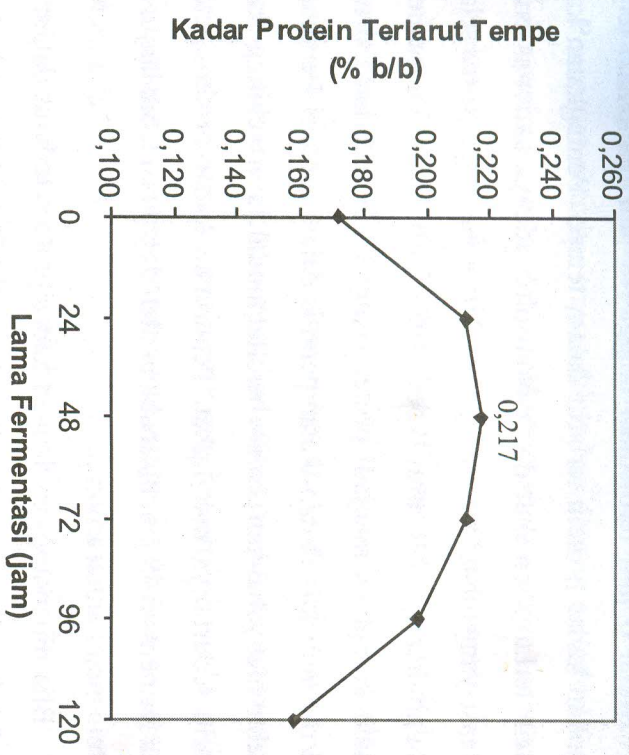
Penentuan kadar protein dilakukan menggunakan spektrometri 20D pada panjang gelombang 710 nm setelah 60 menit

pembentukan kompleks berwarna biru dari tembaga-protein yang dihasilkan dari reduksi fosfomolibdat dan fosfotungstat yang terdapat dalam reagen Folin-Ciocalteu oleh tirosin dan triptofan dalam molekul protein. Panjang gelombang yang digunakan ini berbeda dengan yang dikemukakan oleh Colowick dan Kaplan (1957: 449), yang menyatakan bahwa kadar protein 5 - 25 µg/ml panjang gelombang maksimum yang digunakan sekitar 500 nm. Perbedaan ini disebabkan karena kondisi penelitian dan alat yang kemungkinan berbeda.

Profil kadar protein terlarut dalam tempe hasil fermentasi selama 0 jam, 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan 120 jam disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1. Kadar Protein Terlarut dalam Biji kedelai dan Tempe Hasil Fermentasi

No.	Sampel	Kadar Protein % (b/b)
1.	Biji kedelai (tanpa fermentasi)	0,167
2.	Tempe 0 jam fermentasi	0,172
3.	Tempe 24 jam fermentasi	0,212
4.	Tempe 48 jam fermentasi	0,217
5.	Tempe 72 jam fermentasi	0,212
6.	Tempe 96 jam fermentasi	0,197
7.	Tempe 120 jam fermentasi	0,158



Gambar 1. Profil Kadar Protein Terlarut Selama Proses Fermentasi

Dari grafik tersebut nampak bahwa lama fermentasi kedelai berpengaruh terhadap kadar protein terlarut dalam tempe. Semakin lama proses fermentasi, kadar protein terlarut dalam tempe semakin meningkat dan mencapai maksimum pada lama fermentasi 48 jam, kemudian mengalami penurunan.

Mulai 0 jam fermentasi hingga 48 jam fermentasi terjadi kenaikan kadar protein terlarut dalam tempe. Peningkatan kadar protein terlarut tersebut disebabkan oleh adanya aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh jamur *Rhizopus oligosporus* selama pertumbuhannya. Menurut Wood (1985:230), enzim ini memecah protein kompleks menjadi protein yang lebih sederhana dengan cara memutuskan ikatan-ikatan peptida dalam protein. Pemutusan tersebut menyebabkan protein bersifat mudah larut, sehingga kadar protein terlarutnya meningkat. Penurunan kadar protein setelah lama fermentasi 48 jam disebabkan oleh degradasi lebih lanjut dari protein membentuk amonia.

Bila dibandingkan dengan kadar protein terlarut dalam biji kedelai tanpa fermentasi, yaitu sebesar 0,167 % (b/b), maka kadar protein terlarut dalam tempe hasil fermentasi pada 0 - 96 jam masih lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa melalui proses fermentasi dapat meningkatkan kadar protein terlarut, namun kadar protein terlarut tersebut akan menurun lebih rendah dari kadar protein biji kedelai tanpa fermentasi bila telah terjadi proses pembusukan menghasilkan amonia. Peningkatan kadar protein pada 0 jam fermentasi (0,172% b/b) disebabkan karena adanya penambahan biomassa jamur *Rhizopus oligosporus* yang mengandung protein, karena pada 0 jam fermentasi belum terjadi proses degradasi oleh enzim proteolitik jamur.

Aktivitas Tripsin Terhadap Protein Terlarut dalam Tempe

Penentuan aktivitas tripsin dilakukan dengan metode Anson, yaitu dengan mengamati pembentukan senyawa kompleks berwarna dari reaksi antara hasil hidrolisis tripsin dengan reagen Folin-Ciocalteu. Warna biru yang terjadi disebabkan adanya reduksi fosfomolibdat dan fosfotungstat dari reagen Folin-Ciocalteu menjadi molibdenum biru dan tungsten biru oleh tirosin dan triptofan. Warna yang terbentuk kemudian diukur absorbansinya. Besarnya absorbansi sebanding dengan besarnya hasil hidrolisis tripsin terhadap protein terlarut dalam tempe. Reaksi antara substrat (S), dalam hal ini adalah protein tempe kedelai dan dengan enzim tripsin (E) membentuk kompleks enzim substrat (ES) dan akhirnya menghasilkan produk (P) dengan melepaskan enzim kembali dapat digambarkan sebagai berikut:



Pada penelitian ini sebelum menentukan aktivitas tripsin, ditentukan terlebih waktu kestabilan dari kompleks warna, panjang gelombang maksimum, pH dan suhu optimum untuk aktivitas

tripsin terhadap substrat (protein terlarut dalam tempe). Dari data diperoleh waktu kestabilan kompleks terjadi pada 8 - 30 menit dan panjang gelombang maksimum terjadi pada 650 nm.

Pengukuran kondisi pH dan suhu optimum dilakukan karena perubahan pH dan suhu akan berpengaruh terhadap konformasi enzim dan letak aksi katalitik. Disamping itu enzim juga merupakan protein yang tersusun atas asam amino, sehingga pH berkaitan erat dengan sifat-sifat ion dan sifat asam basa dari protein tersebut.

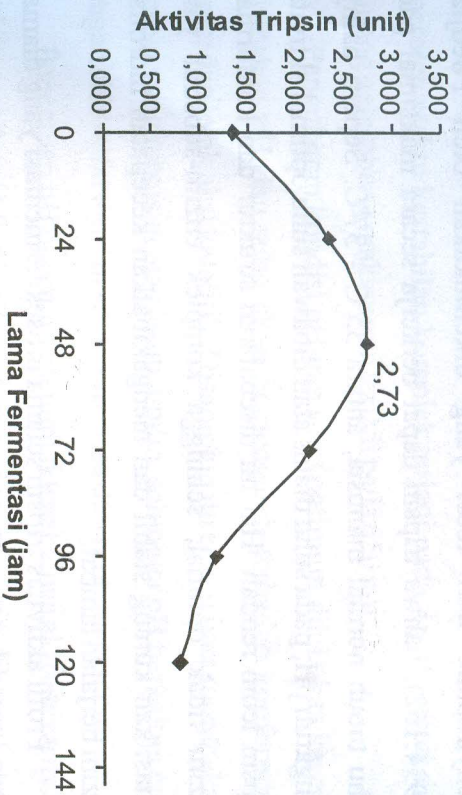
Penentuan pH optimum menunjukkan bahwa aktivitas tripsin tertinggi pada pH 8. Hasil ini sesuai dengan yang dikemukakan oleh Bergmeyer (1974:807), bahwa pH optimum untuk tripsin antara 7 - 9. Pada pH ini kecepatan reaksi paling tinggi karena struktur dan konformasi enzim dalam keadaan optimal untuk menghidrolisis substrat, sehingga kompleks enzim-substrat yang dihasilkan telah stabil. Pada pH yang lebih rendah atau lebih tinggi dari pH optimal, struktur dan konformasi enzim tidak optimal, sehingga kompleks enzim-substrat yang dihasilkan kurang stabil. Hal ini mengakibatkan kecepatan hidrolisis enzim berjalan lambat (aktivitas turun).

Penentuan suhu optimum menunjukkan bahwa aktivitas tripsin tertinggi pada suhu 37°C. Pada suhu optimum, yaitu suhu dimana kecepatan reaksi enzim berlangsung maksimum, umumnya stabilitas enzim cukup tinggi. Hasil yang diperoleh ini tidak

menyimpang dari teori yang dikemukakan oleh Poedjiati (1994:162), bahwa tripsin dapat bekerja secara maksimal pada suhu tubuh normal manusia, antara 35°C - 37°C. Seperti halnya pengaruh pH, pada suhu diatas atau dibawah suhu optimal aktivitas tripsin lebih rendah. Hal ini disebabkan struktur dan konformasi enzim tidak optimal, sehingga kompleks enzim-substrat yang dihasilkan kurang stabil dan mengakibatkan kecepatan hidrolisis enzim berjalan lambat.

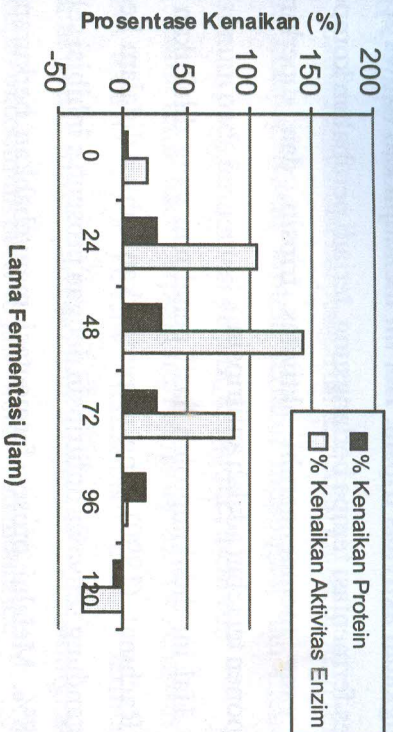
Profil aktivitas tripsin selama proses fermentasi yang diamati pada suhu dan pH optimal, yaitu pada pH 8 dan suhu 37°C disajikan pada Gambar 2. Dari grafik tersebut menunjukkan bahwa aktivitas tripsin mengalami peningkatan dari fermentasi 0 jam sampai dengan 48 jam dan kemudian mengalami penurunan.

Peningkatan aktivitas tripsin dari 0 - 48 jam fermentasi disebabkan adanya peningkatan kadar protein terlarut dalam tempe kedelai sebagai substrat enzim. Peningkatan protein terlarut ini menyebabkan kompleks enzim-substrat yang terbentuk akan meningkat sehingga mengakibatkan aktivitas tripsin juga meningkat. Pada lama fermentasi 48 - 120 jam terjadi penurunan aktivitas enzim, karena terjadi penurunan kadar protein terlarut sebagai substrat tripsin.



Gambar 2. Grafik Pengaruh Lama Fermentasi terhadap Aktivitas Tripsin

Bila dikaji lebih lanjut dengan melihat profil prosentase kenaikan protein dan aktivitas tripsin pada setiap lama fermentasi yang dibandingkan dengan kadar protein dan aktivitas tripsin pada biji kedelai (tanpa fermentasi) pada Gambar 3, maka selain faktor kenaikan kadar protein terlarut dalam tempa ada faktor lain yang mempengaruhi aktivitas tripsin.



Gambar 3. Profil Prosentase Kenaikan Aktivitas Tripsin dan Kadar Protein Pada Setiap Lama Fermentasi

Faktor lain yang diperkirakan mempengaruhi aktivitas tripsin adalah adanya senyawa yang dapat menghambat aktivitas tripsin. Senyawa tersebut mengalami perubahan selama proses fermentasi. Pada lama fermentasi antara 24 jam; dan 72 jam peningkatan kadar protein terlarut sama besarnya, namun terjadi perbedaan cukup besar pada aktivitas tripsin (Gambar 3). Nampak bahwa aktivitas tripsin lebih rendah pada lama fermentasi 72 jam, dan selanjutnya menurun tajam hingga tahap fermentasi 120 jam. Pada lama fermentasi 96 jam juga nampak bahwa penurunan protein tidak seimbang dengan penurunan aktivitas tripsin. Sebaliknya pada 48 jam fermentasi peningkatan protein tidak seimbang dengan

peningkatan aktivitas tripsin. Hal ini menunjukkan bahwa selama proses fermentasi tempe berlangsung, terjadi perubahan komponen lain yang mempengaruhi aktivitas tripsin, dan diperkirakan komponen tersebut adalah antitripsin.

Hal ini didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Nur Rachmat, (1990) yang menunjukkan bahwa didalam kedelai mengandung senyawa antitripsin dengan prosentase inhibisi sebesar 19,48%. Melalui proses fermentasi menyebabkan berkurangnya sebagian besar senyawa antitripsin yang ditandai dengan berkurangnya prosentase inhibisi menjadi 8,46%, sedangkan antitripsin dalam "tempe bosok" meningkat dengan prosentase inhibisi menjadi 22,66%.

Dari grafik Gambar 3, dapat diperkirakan bahwa senyawa antitripsin mengalami penurunan selama fermentasi 48 jam dan mengalami peningkatan pada lama fermentasi 72 jam hingga 120 jam. Pada fermentasi selama 48 jam diperkirakan terjadi perubahan konformasi ikatan-ikatan peptida dalam senyawa antitripsin menjadi bentuk inaktif, tetapi pada fermentasi lebih lanjut, yaitu 72 hingga 120 jam diperkirakan terjadi perubahan konformasi ikatan-ikatan peptida dalam senyawa antitripsin menjadi bentuk aktif. Senyawa antitripsin ini selanjutnya dapat bergabung dengan tripsin membentuk kompleks tripsin-antitripsin yang terikat erat, sehingga tripsin terhalang fungsinya.

SIMPULAN

Lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar protein terlarut tempe kedelai. Kadar protein terlarut meningkat dan mencapai maksimum pada fermentasi 48 jam, kemudian menurun

Lama fermentasi berpengaruh terhadap aktivitas tripsin pada protein terlarut tempe kedelai. Bertambah lamanya fermentasi, maka aktivitas tripsin pada protein tempe kedelai meningkat dan mencapai maksimum pada 48 jam, kemudian menurun.

DAFTAR PUSTAKA

- Bergmeyer, H.U. 1974. *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol 2. New York: Academic Press Inc.
- Colowick, S.P. dan Kaplan, N.O. 1957. *Methods in Enzymology*. New York: Academic Press Inc.
- Hafez, Y.S. dan Mohamed, A.I. 1983. Biochemical Study on the Nonprotein Trypsin and Chymotrypsin Inhibitors in the Soybean. *Journal of Food Science*. Volume 48. Number 4. A Publication of the Institute of Food Technologists.
- Noor, Z. 1989. Biokimia Nutrisi Bagian Pertama. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM
- Nur Rachmat. 1990. *Pengaruh Ekstrak Kedelai, Tempe dan Tempe "Bosok" Terhadap Tripsin*. Skripsi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI-Press
- Rahayu, K. dan Sudarmaji, S., 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM

- Suliantari dan Rahayu, W.P. 1990. *Teknologi Fermentasi Umbrian dan Biji-bijian*. Bogor: PAU Pangan dan Gizi IPPB
- Sutrisno Koswara. 1995. *Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadikan Makanan Bermutu*. Jakarta: Pustaka Sinar Harapan
- Sudarmadi, S., 1989. *Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM
- Wirahadikusumah, M. 1989. *Biokimia Protein, Enzim dan Asam Nukleat*, Bandung: ITB
- Winarno, F.G. 1983. *Enzim Pangan*. Jakarta: Gramedia
- Wood, B.J.B. (1985). *Microbiology of Fermented Foods*. Vol 2. New York: Elsevier Applied Science Publishers

PEMISAHAN DAN ELUSIDASI STRUKTUR DIMER STILBENOID DARI KAYU BATANG *VATICA UMBONATA* BURCK (DIPTEROCARPACEAE)

Oleh:

Sri Atun, dkk

Staf Pengajar FMIPA UNY

Abstract

Three oligostilbenoid, namely (-)-ampelopsin F (1), laevifonol (2), and e-viniferin (3) had been isolated and elucidated these structure from the stem bark of *Vatica umbonata* Burck (Dipterocarpaceae). The structure of three compounds were elucidated based on physical and spectroscopic data UV, IR, ¹H and ¹³C NMR, HMBG, HMOG, COSY, and NOESY.

Keyword: (-)-Ampelopsin F; Laevifonol; e-Viniferin; Dipterocarpaceae; *Vatica umbonata* Burck

PENDAHULUAN

Salah satu kelompok tumbuhan hutan tropis yang banyak terdapat di Indonesia adalah famili Dipterocarpaceae. Kelompok tumbuhan ini merupakan pohon kayu utama dari hutan hujan tropis bagian barat Indonesia. Penyebaran tumbuhan ini meliputi bagian Sumatra sampai Papua dan terbanyak di Kalimantan (Newman, 1999). Famili Dipterocarpaceae terdiri dari 16 genus dan 600 spesies (Croquist, 1981). Penelitian kimia yang telah dilakukan terhadap Dipterocarpaceae menunjukkan adanya beberapa jenis senyawa kimia yang termasuk kelompok terpenoid, aripropanoid, benzofuran, flavonoid, dan oligostilbenoid (Dai, 1998; Ito, 2000;