

# Proses Fermentasi Biji Lamtoro-Gung dengan *Rhizopus oryzae*

## (*Fermentation Process of Leucaena Seed with Rhizopus oryzae*)

KOMARI

*Pusat Penelitian dan Pengembangan Gizi, Jln. Dr. Sumeru, Bogor 16112*

### ABSTRACT

Fermentation process of leucaena seeds with *Rhizopus oryzae* was developed to study biochemical during fermentation process with the emphasis on iron availability (*in vitro*). Fermentation significantly increased the solubilities of protein and carbohydrate (soluble sugars). The increase of tannins content of the seeds during fermentation was due to loss of binding capacity between tannins and protein or carbohydrate. The loss was due to the increase in the pH value and the decrease in size of the digested protein and carbohydrate by the activity of enzymes produced by microorganism. Although the detectable tannins in the leucaena tempe was higher than that in unfermented seeds, there was no binding effect of tannins with iron. Iron availability of the leucaena tempe increased from 1.9% in the cotyledons to 11.6%. This finding showed the benefit effect of fermentation on the iron availability of the tempe.

Key word: fermentation process, leucaena seed, *Rhizopus oryzae*

Biji lamtoro-gung (*Leucaena leucocephala*) merupakan salah satu sumber protein yang tidak konvensional yang mengandung protein cukup tinggi. Biji lamtoro-gung kering mengandung sekitar 30% protein, bahkan tepung keping biji lamtoro-gung tanpa kulit mengandung sekitar 50% protein (Slamet *et al.* 1987). Di beberapa daerah antara lain Gunung Kidul dan Trenggalek biji lamtoro-gung yang telah diproses tersebut tidak menimbulkan gangguan kesehatan (Slamet *et al.* 1991).

Seperti halnya pengembangan tempe kacang-kacangan pada umumnya, tempe lamtoro-gung diolah secara tradisional dengan menggunakan laru tempe tradisional pula. Dengan proses tersebut, manfaat biji lamtoro-gung menjadi lebih besar karena makanan tempe telah dikenal oleh masyarakat. Peranannya akan lebih berarti dalam meningkatkan konsumsi zat gizi bagi masyarakat, terutama yang hidup di daerah bertanah kritis tempat tanaman lamtoro-gung dikembangkan.

Dalam penelitian ini dikembangkan fermentasi biji lamtoro-gung dengan *Rhizopus oryzae* untuk mempelajari perubahan kelarutan zat-zat gizi, terutama ketersediaan zat besi dalam tempe lamtoro-gung yang dihasilkan.

### BAHAN DAN METODE

**Bahan.** Biji lamtoro-gung diperoleh dari PT. Sinar Kasih Yogyakarta, sedangkan *Rhizopus oryzae* dari Laboratorium Mikrobiologi, Pusat Penelitian Dan Pengembangan Gizi, Bogor.

**Persiapan Mikroorganisme.** *Rhizopus oryzae* ditumbuhkan pada agar-agar miring dalam tabung reaksi dan diinkubasikan pada suhu 30°C selama tujuh hari, kemudian ke dalam tabung reaksi tersebut ditambahkan lima mililiter air suling steril. Larutan spora yang diperoleh dengan cara tersebut digunakan untuk inokulasi pada proses fermentasi biji lamtoro-gung. Konsentrasi spora dalam larutan tersebut ialah 10<sup>7</sup> spora/ml.

**Pengolahan Tempe Lamtoro-Gung.** Biji lamtoro-gung yang diperoleh dibersihkan dari kotoran dan batu. Sebanyak 100 g biji tersebut direndam semalam dalam 600 ml air dan direbus selama dua jam. Kulit biji lamtoro-gung dikupas dengan cara meremas-remas sehingga kulit dan keping biji lamtoro-gung terpisah. Setelah itu kulit dan keping biji lamtoro-gung dicuci bersih untuk menghilangkan lendir yang menyulitkan pemisahan keping dari kulit biji lamtoro-gung. Keping biji lamtoro-gung diperoleh dengan cara mengapungkan keping biji tersebut di dalam air, sedangkan kulit biji yang tenggelam dalam air dibuang. Keping biji lamtoro-gung yang diperoleh disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setiap 100 g biji lamtoro-gung steril tersebut ditempatkan pada cawan petri steril dan diinokulasi dengan satu mililiter larutan spora *Rhizopus oryzae* dan diinkubasi selama 48 jam. Contoh diambil setiap 24 jam untuk analisa kimia.

**Analisis Kimia.** Nilai pH keping biji atau tempe selama proses fermentasi diukur dengan pH-meter digital (Model Philips PW 9409). Kadar air ditentukan dengan cara pengeringan dalam oven pada suhu 105°C dan kadar

gula terlarut ditentukan dengan spektrofotometri (Jacobs *et al.* 1958). Kadar total Nitrogen ditentukan dengan metode mikro Kjeldahl, kadar amino nitrogen ditentukan melalui titrasi dengan Ba(OH)<sub>2</sub> dan kadar total asam dinyatakan dalam asam laktat melalui titrasi berdasarkan metode AOAC (AOAC 1975). Untuk penentuan kadar tanin, contoh direfluks selama dua jam, lalu disaring dan ke dalam larutan yang diperoleh ditambahkan pereaksi Folin-Dennis. Warna yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 720 nm. Kadar tanin dinyatakan dengan menggunakan standar tanin (AOAC 1975), sedangkan kadar zat besi total ditentukan menggunakan metode AOAC dengan pelarut  $\alpha, \alpha$  dipiridil.

**Penentuan Ketersediaan Zat Besi.** Ketersediaan zat besi dalam biji lamtoro-gung ditentukan berdasarkan jumlah zat besi yang terionisasi (Rao *et al.* 1978). Contoh ditimbang dan dicernakan dengan enzim pepsin (0.5 v/v) pH 1.35 pada suhu 37°C selama dua jam dalam suatu penangas air terkocok. Kemudian nilai pH diatur menjadi 7.5 sehingga diperoleh kondisi seperti pada usus halus. Zat besi dalam larutan tersebut direaksikan dengan larutan  $\alpha, \alpha$  dipiridil dan warna yang terbentuk dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm (AOAC 1975). Persentase ketersediaan zat besi dihitung terhadap total zat besi dalam contoh.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan pembuatan tempe lamtoro-gung melalui proses perebusan, pencucian, dan pengukusan dapat menurunkan senyawa anti gizi yang terdapat dalam biji lamtoro-gung termasuk mimosin, tanin, asam fitat, dan tripsin inhibitor (Rao 1978, Komari 1986, Komari 1987). Penurunan tersebut sangat berarti dalam meningkatkan mutu gizi dan keamanan biji lamtoro-gung yang telah diolah tersebut (Slamet *et al.* 1991). Pada proses fermentasi biji lamtoro-gung dengan *Rhizopus oryzae*, tempe lamtoro-gung dipanen setelah diinkubasi selama dua hari. Selama masa fermentasi tersebut terjadi peningkatan kelarutan zat-zat gizi terutama protein dan karbohidrat (gula terlarut). Dengan demikian fermentasi membantu meningkatkan daya serap zat-zat gizi dalam tempe lamtoro-gung tersebut (Slamet *et al.* 1985).

Hasil analisis pH dan total asam menunjukkan adanya kenaikan selama proses fermentasi. Nilai pH keping biji lamtoro-gung pada awal fermentasi sebesar 5.25 meningkat pada tempe lamtoro-gung menjadi 6.03, sedangkan kadar total asam tempe lamtoro-gung sebesar 3741 mg/100g, jauh lebih tinggi kadar total dalam keping biji lamtoro-gung sebesar 673 mg/100g (Tabel 1).

Tabel 1. Nilai pH kadar total asam selama fermentasi biji lamtoro-gung dengan *Rhizopus oryzae* (dalam 100 g, bahan basah)

Pcubah	Waktu fermentasi		
	0	24	48
pH	5.25	5.32	6.03
Total asam (mg)	673	1634	3741

Kelarutan protein dan karbohidrat dalam tempe lamtoro-gung meningkat secara nyata. Namun, kadar nitrogen total dalam biji lamtoro-gung selama proses fermentasi relatif tidak berubah (sekitar 2.18-2.04 g/100g). Peningkatan kadar nitrogen amino tercatat sebanyak tiga kali dan kadar gula terlarut meningkat lebih dari 69 kali (Tabel 2). Peningkatan nilai-nilai di atas merupakan hasil adanya aktivitas enzim-enzim yang diproduksi oleh *Rhizopus oryzae* selama proses fermentasi (Gunawan *et al.* 1985). Pengamatan serupa juga dijumpai baik pada fermentasi biji lamtoro-gung dengan larutan tradisional maupun fermentasi lamtoro-gung dalam larutan garam pada pembuatan taucu lamtoro (Slamet *et al.* 1985).

Tabel 2. Perubahan biokimiawi selama proses fermentasi biji lamtoro-gung dengan *Rhizopus oryzae* (dalam 100 g, bahan basah)

Waktu fermentasi (jam)	Kandungan				
	Air (g)	Nitrogen total (g)	Nitrogen amino (mg)	Gula terlarut (mg)	Tanin terdeteksi (mg)
0	70.7	2.18	72.8	40	60
24	71.7	2.05	124.2	2464	77
47	72	2.04	227.5	2786	122

Pengaruh fermentasi laru tradisional terhadap beberapa jenis senyawa anti gizi dalam biji lamtoro-gung pada pengamatan sebelumnya menunjukkan adanya penurunan kandungan asam fitat, tripsin inhibitor, dan mimosin yang sangat bermakna (Slamet *et al.* 1991). Akan tetapi dalam penelitian ini kadar tanin dalam tempe lamtoro-gung menunjukkan peningkatan dari 60 mg/100g menjadi 122 mg/100g. Rendahnya kadar tanin dalam keping biji lamtoro-gung tersebut disebabkan oleh terbentuknya penggumpalan tanin dan protein pada saat persiapan pembuatan tempe lamtoro-gung (perebusan dan pengukusan) sehingga kandungan tanin dalam keping biji lamtoro-gung tidak sepenuhnya terekstrasi.

Pada proses fermentasi terjadi beberapa kemungkinan yang menjelaskan adanya peningkatan kadar tanin tersebut. Peningkatan nilai pH pada tempe lamtoro-gung menurunkan afinitas tanin terhadap protein yang disebabkan terionisasinya gugus fenol pada tanin sehingga daya ikat senyawa tersebut dengan protein atau karbohidrat menjadi rendah. Dengan demikian jumlah tanin yang bereaksi dengan pereaksi Folin-Dennis juga menjadi meningkat. Mekanisme lain yang menjelaskan meningkatnya kadar tanin yaitu adanya proses pemecahan protein dan karbohidrat oleh enzim-enzim hasil metabolisme mikroorganisme menjadi senyawa yang jauh lebih sederhana (Gunawan *et al.* 1985). Senyawa-senyawa sederhana tersebut mempunyai kemampuan ikat dengan tanin yang jauh lebih rendah sehingga tanin yang terdeteksi meningkat (Aw & Swanson 1985).

Walaupun penelitian ini menunjukkan adanya indikasi peningkatan kadar tanin dalam tempe lamtoro-gung, peningkatan kelarutan zat besinya tidak terpengaruh oleh kondisi tersebut. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh hilangnya kemampuan interaksi tanin tersebut dengan zat

besi dalam tempe lamtoro-gung sebesar 3.18 mg/100g mempunyai tingkat kelarutan sekitar 11 kali dari kelarutan zat besi sebelum fermentasi (2.22 mg/100g dibandingkan dengan 0.20 mg/100g). Sedangkan ketersediaan zat besi tempe dalam bentuk zat besi terionisasi sebesar 0.37 mg/100g atau sebesar 11.6% merupakan peningkatan sebanyak enam kali terhadap ketersediaan zat besi dalam bahan kacang-kacangan oleh adanya proses fermentasi telah pula dilaporkan oleh Indumadhavi & Agte (1992). Mereka juga melaporkan bahwa fermentasi *bengalgram*, *blackgram*, dan *greengram* dengan *Leuconostoc* sp. dapat meningkatkan ketersediaan zat besi dalam biji-bijian tersebut sebesar 0.9-26.1%.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa proses fermentasi biji lamtoro-gung dengan *Rhizopus oryzae* meningkatkan kelarutan protein dan karbohidrat. Fermentasi juga menurunkan interaksi antara tanin dan zat gizi lainnya terutama zat besi. Hal ini merupakan bukti bahwa fermentasi dapat bermanfaat dalam meningkatkan ketersediaan zat besi dalam keping biji lamtoro-gung.

Tabel 3. Ketersediaan zat besi (*in vitro*) dari tempe lamtoro-gung (dalam 100g, bahan basah)

Waktu fermentasi (jam)	Zat Besi			
	Total (mg)	Terlarut (mg)	Terionisasi (mg)	Ketersediaan (%)
0	3.19	0.2	0.06	1.9
24	3.19	1.21	0.27	8.5
48	3.18	2.22	0.37	11.6

## DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 1975. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Ed. ke-12. Washington: AOAC.
- Aw, T-L. & B.G. Swanson, 1985. Influence of tannin on *Phaseolus vulgaris* protein digestibility and quality. *J. Food Sci.* 50:67-71.
- Gunawan, C., L. Sutedia & Roestamsjah. 1985. Biochemical changes during oncom fermentations utilizing mixed substrate. *ASEAN Food J.* 1:128-133.
- Indumadhavi, M. & V. Agte, 1992. Effect of fermentation on ionizable iron in cereal-pulse combination. *Int. J. Food Sci. Tech.* 27:221-228.
- Jacobs, M.B. 1958. *The chemical analysis of foods and food products*. Ed ke-3. Princeton: D. Van Nostrand Co. Inc.
- Komari. 1985. Kadar mimosin dan mutu protein biji lamtoro-gung (*Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit). Monograf. Laporan Penelitian. Bogor: Badan Litbangkes.
- Komari & S. Purawisatra. 1986. Pengaruh perebusan terhadap kadar tanin dalam kedelai, kacangpandan dan lamtoro-gung. *Media Teknol. Pangan* 1(2):30-33.
- Komari, D.S. Slamet & D. Anggerowati. 1987. Kadar asam fitat dalam biji kedelai dan lamtoro-gung selama persiapan pembuatan tempe. *Gizi Indon.* 12(1):51-53.
- Rao, B.S.N. & T. Prabavathi. 1978. An *in vitro* methods for predicting bioavailability of iron from foods. *Am. J. Clin. Nutr.* 31:169-175.
- Slamet, D.S., Herawati & Komari. 1985. Perubahan kimiawi dan uji kesukaan dari tauco lamtoro (hasil fermentasi biji *Leucaena leucocephala*). Proc. Kongres Nasional IV Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia dan Pertemuan I Mikrobiologiwan Ascan, 2-4 Desember 1985. Jakarta.
- Slamet, D.S. & Komari. 1987. Makanan jajanan dan bahan makanan campuran sereal dan biji lamtoro-gung, hlm. 105-109. Pros. KPIG. 25-27 November 1986. Jakarta.
- Slamet, D.S. & Komari, 1991. Evaluation of safety aspects of the diets prepared from processed lamtoro-gung (*Leucaena leucocephala*) seeds in albino rats. 6th Asian Congress of Nutrition 16-19 September 1991. Kuala Lumpur.