



**Hai jiwa yang tenang
Kembalilah pada Rabb-mu dengan hati yang puas
lagi diridlai-Nya
Maka masuklah ke dalam jama'ah hamba-hamba-Ku
dan masuklah ke dalam surga-Ku**

(QS Al Fajar: 27-30)

**teruntuk Mamah, Bapak,
Teh Nita, Aa Nanjar dan Buceu**

1. Mengembangkan kemampuan komunikasi dan keterampilan menulis.
2. Mengembangkan kemampuan berpikir kritis, kreatif, dan inovatif.
3. Mengembangkan kemampuan berkolaborasi dan berinteraksi.
4. Mengembangkan kemampuan beradaptasi dan berinovasi.
5. Mengembangkan kemampuan berkolaborasi dan berinteraksi.
6. Mengembangkan kemampuan beradaptasi dan berinovasi.
7. Mengembangkan kemampuan berkolaborasi dan berinteraksi.
8. Mengembangkan kemampuan beradaptasi dan berinovasi.
9. Mengembangkan kemampuan berkolaborasi dan berinteraksi.
10. Mengembangkan kemampuan beradaptasi dan berinovasi.



PENGARUH CARA PEMBUATAN TEPUNG KACANG HIJAU (*Vigna radiata* (L) Wilezck) TERHADAP KANDUNGAN GIZI DAN ANTINUTRISI



Oleh
TETI ESTIASIH
F 26. 1081



1 9 9 3
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
B O G O R

Halaman ini adalah...
1. Untuk...
2. Untuk...
3. Untuk...
4. Untuk...
5. Untuk...
6. Untuk...
7. Untuk...
8. Untuk...
9. Untuk...
10. Untuk...

IPB University
Teti Estiasih. F 26.1081. Pengaruh Cara Pembuatan Tepung Kacang Hijau (*Vigna radiata* (L) Wilezck) terhadap Kandungan Gizi dan Antinutrisi. Dibawah bimbingan Ir. Darwin Kadarisman, MS dan Ir. Suismono

RINGKASAN

Salah satu kekurangan kacang-kacangan sebagai sumber protein adalah kekurangan asam amino bersulfur yaitu metionin dan sistin serta adanya senyawa antinutrisi yang menghambat ketersediaan protein itu sendiri. Pada penelitian ini dilakukan berbagai cara pembuatan tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 3, 6, 9 dan 12 jam, perebusan 10, 15, 20 dan 25 menit, serta penyangraian 0, 5, 10, 15 dan 20 menit, untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kandungan gizi dan antinutrisi tepung kacang hijau tersebut.

Perlakuan perkecambahan, perebusan dan penyangraian pada pembuatan tepung kacang hijau mempengaruhi kandungan gizi dan antinutrisi tepung kacang hijau.

Perlakuan perkecambahan menyebabkan peningkatan kadar abu, kalsium, fosfor dan protein dengan bertambahnya waktu perkecambahan, tetapi menurunkan daya cerna protein *in vitro* serta meningkatkan dan menurunkan kadar metionin tergantung kepada lama perkecambahan. Perkecambahan menyebabkan penurunan kadar tanin, asam fitat dan aktifitas antitripsin.

Perlakuan perebusan menyebabkan penurunan kadar abu, kalsium dan fosfor dan meningkatkan kadar protein dan daya cerna protein *in vitro*. Kadar metionin meningkat pada perlakuan perebusan 10 menit dan menurun pada perlakuan perebusan lebih lama. Perlakuan perebusan menyebabkan penurunan tanin, asam fitat dan antitripsin.

Perlakuan penyangraian menyebabkan peningkatan kadar abu, protein dan daya cerna protein *in vitro* dan menurunkan kadar fosfor, kalsium dan metionin. Kadar tanin dan aktifitas antitripsin menurun tetapi kadar asam fitat relatif tetap.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan terbaik adalah tepung dengan perlakuan perebusan 20 menit yang mempunyai kadar kalsium (54.68 mg/100 g bk), fosfor (238.06 mg/100 g bk), protein (27.36% bk) dan daya cerna protein *in vitro* (77.51%) yang tinggi serta kadar abu (3.04% bk), asam fitat (1.14 mg/g bk) dan aktifitas antitripsin (0.33 TUI/mg protein bk) yang rendah. Tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan 20 menit mempunyai kadar tanin (0.68 mg/g bk) yang tinggi dan kadar metionin (306.35 mg/16 g N bk) yang rendah dibandingkan tepung dengan perlakuan lain.



**PENGARUH CARA PEMBUATAN
TEPUNG KACANG HIJAU (*Vigna radiata* (L) Wilezck)
TERHADAP KANDUNGAN GIZI DAN ANTINUTRISI**

Oleh
TETI ESTIASIH
F 26.1081

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada **JURUSAN TEKNOLOGI PANGAN DAN GIZI**
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

1993
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR

IPB University
Institut Pertanian Bogor
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

PENGARUH CARA PEMBUATAN
TEPUNG KACANG HIJAU (*Vigna radiata* (L) Wilezck)
TERHADAP KANDUNGAN GIZI DAN ANTINUTRISI

SKRIPSI


Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada JURUSAN TEKNOLOGI PANGAN DAN GIZI
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

Oleh
TETI ESTIASIH
F 26.1081

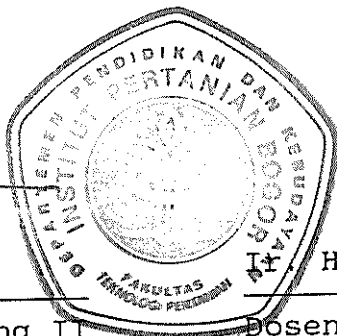
Dilahirkan di Cianjur pada tanggal 26 Desember 1970

Tanggal lulus: 23 Desember 1993

Disetujui: Desember 1993


Ir. Suismono

Dosen Pembimbing II





H. Darwin Kadarisman, MS

Dosen Pembimbing I

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah Rabbul 'Arasyil 'Adhiim yang telah memberikan setitik ilmu-Nya dari lautan ilmu-Nya yang Maha Luas. Atas iradat-Nya pula penulis telah dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Pangan - Sukamandi - Subang, dari bulan Mei sampai Agustus 1993.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Mamah, Bapak dan keluarga tercinta atas doa yang tiada putusnya serta dorongan yang diberikan selama penulis belajar di IPB.
2. Bapak Ir. H. Darwin Kadarisman, MS selaku dosen pembimbing atas pengarahan dan bimbingannya selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini.
3. Bapak Ir. Suismono selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Bapak Prihadi Wibowo, BSc. selaku pembimbing lapangan yang telah memberikan bantuan dan pengarahan selama penelitian.



5. Karyawan Laboratorium Kimia dan Teknologi - Balittan Sukamandi yang telah membantu kelancaran selama penelitian.

6. Teman-teman seperjuangan di Sukamandi serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih belum sempurna. Dengan segala kekurangan yang ada, semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pihak-pihak yang memerlukannya.

Bogor, Desember 1993

Penulis

DAFTAR ISI

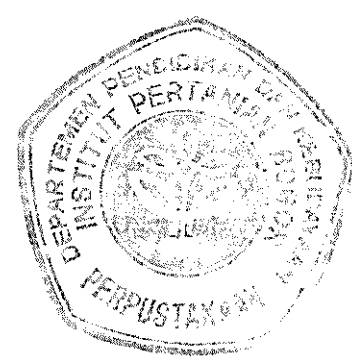
	Halaman
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
A. KACANG HIJAU	3
1. Botani	3
2. Struktur Biji	4
3. Kegunaan Kacang Hijau	5
4. Nilai Gizi	7
5. Tepung Kacang Hijau	8
B. SENYAWA ANTINUTRISI	9
1. Asam Fitat	10
2. Tanin	12
3. Antitripsin	15
C. PENGARUH PENGOLAHAN	22
1. Perkecambahan	22
2. Perebusan	25
3. Penyangraian	28
III. BAHAN DAN METODE	30
A. BAHAN DAN ALAT	30
B. METODE PENELITIAN	30
1. Persiapan Sampel	30



1. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 2. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 3. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 4. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 5. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 6. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 7. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 8. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 9. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 10. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara

1. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 2. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 3. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 4. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 5. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 6. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 7. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 8. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 9. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara
 10. Otoling merupakan salah satu alat untuk mendengar dan menyetim suara

2. Rancangan Percobaan	34
3. Metode Analisa	35
IV. PEMBAHASAN	48
A. NILAI GIZI	48
1. Kadar Abu	48
2. Kadar Kalsium	53
3. Kadar Fosfor	57
4. Kadar Protein	62
5. Kadar Metionin	66
6. Daya Cerna Protein <i>In Vitro</i>	72
B. KANDUNGAN ANTINUTRISI	76
1. Kadar Tanin	77
2. Kadar Asam Fitat	82
3. Aktifitas Antitripsin	87
V. KESIMPULAN DAN SARAN	91
A. KESIMPULAN	91
B. SARAN	93
DAFTAR PUSTAKA	94
LAMPIRAN	101



DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 1.	Komposisi kimia kacang hijau utuh dan yang telah disosoh	7
Tabel 2.	Komposisi asam amino esensial biji kacang hijau utuh	8
Tabel 3.	Syarat mutu tepung kacang hijau menurut SII no. 0720 1980	9
Tabel 4.	Jumlah asam amino (mg/g protein) dibandingkan dengan standar FAO/WHO (1972)	9
Tabel 5.	Nilai gizi biji kacang hijau utuh berdasarkan berat kering	48
Tabel 6.	Hasil uji jarak berganda Duncan kadar abu	52
Tabel 7.	Hasil uji jarak berganda Duncan kadar kalsium	56
Tabel 8.	Hasil uji jarak berganda Duncan kadar fosfor	61
Tabel 9.	Hasil uji jarak berganda Duncan kadar protein	64
Tabel 10.	Hasil uji jarak berganda Duncan kadar metionin	67
Tabel 11.	Hasil uji jarak berganda Duncan daya cerna protein <i>in vitro</i>	74
Tabel 12.	Kandungan antinutrisi biji kacang hijau utuh berdasarkan berat kering ...	77
Tabel 13.	Hasil uji jarak berganda Duncan kadar tanin	78
Tabel 14.	Hasil uji jarak berganda Duncan kadar asam fitat	83
Tabel 15.	Hasil uji jarak berganda Duncan aktifitas antitripsin	88

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1.	Penampang melintang biji kacang hijau	4
Gambar 2.	Struktur asam fitat Neuberg ...	11
Gambar 3.	Struktur asam fitat Anderson ..	12
Gambar 4.	Pembentukan inhibitor modifikasi	17
Gambar 5.	Pembentukan ikatan antara tripsin dan antitripsin	18
Gambar 6.	Mekanisme hipertrofi pankreas ...	19
Gambar 7.	Skema pembuatan tepung kacang hijau	33

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil analisa sidik ragam kadar abu	101
Lampiran 2. Hasil analisa sidik ragam kadar kalsium	101
Lampiran 3. Hasil analisa sidik ragam kadar fosfor	101
Lampiran 4. Hasil analisa sidik ragam kadar protein	102
Lampiran 5. Hasil analisa sidik ragam kadar metionin	102
Lampiran 6. Hasil analisa sidik ragam daya cerna protein <i>in vitro</i>	102
Lampiran 7. Hasil analisa sidik ragam kadar tanin	103
Lampiran 8. Hasil analisa sidik ragam kadar asam fitat	103
Lampiran 9. Hasil analisa sidik ragam aktifitas antitripsin	103



I. PENDAHULUAN

Protein telah diketahui merupakan zat yang sangat penting bagi tubuh karena disamping berfungsi sebagai sumber energi, juga berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur. Kekurangan Kalori Protein (KKP) dilaporkan diderita oleh sekitar 30% balita di beberapa pedesaan di Indonesia (Winarno, 1984).

Salah satu usaha dalam menanggulangi masalah KKP adalah dengan menyediakan bahan makanan murah, bergizi dan dapat diterima masyarakat. Untuk itu perlu dicari bahan pangan yang kaya akan protein dan harganya dapat terjangkau masyarakat.

Kacang-kacangan merupakan sumber protein yang mengandung protein dua sampai tiga kali lebih besar daripada sereal. Kacang-kacangan dapat digunakan sebagai sumber protein dengan cara suplementasi pada bahan pangan lain sehingga dihasilkan produk pangan kaya protein yang murah.

Di Indonesia kacang hijau merupakan tanaman kacang-kacangan ketiga setelah kedelai dan kacang tanah (Tabor, 1987). Kedelai merupakan salah satu sumber protein dengan susunan asam amino yang baik. Karena produksi kedelai yang tidak seimbang dengan konsumsinya, saat ini Indonesia masih mengimpor kedelai.

Kacang hijau mempunyai kandungan protein yang tinggi dan susunan asam amino mirip dengan susunan asam amino kedelai. Tetapi salah satu kekurangan kacang hijau adalah kandungan antinutrisinya yang relatif tinggi dibandingkan sereal.

Salah satu cara untuk mengurangi kandungan anti-nutrisi kacang hijau adalah dengan cara memberikan perlakuan tertentu pada kacang tersebut seperti perendaman, perkecambahan, pemanasan dan penyosohan.

Untuk meningkatkan daya guna, penerimaan dan mengurangi waktu pengolahan kacang-kacangan biasa diolah menjadi tepung. Tepung kacang hijau biasa digunakan untuk berbagai keperluan seperti makanan sapihan, suplementasi bahan pangan lain dan berbagai jenis makanan yang berprotein tinggi.

Upaya-upaya tertentu dalam proses pembuatan tepung tersebut perlu dilakukan untuk menghilangkan zat-zat antinutrisi dan meningkatkan nilai gizi tepung kacang hijau.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh cara pembuatan tepung melalui perkecambahan, perebusan dan penyangraian terhadap kandungan antinutrisi dan nilai gizi tepung kacang hijau. Dengan adanya perlakuan tersebut, diharapkan tepung kacang hijau yang dihasilkan mempunyai kandungan antinutrisi yang rendah dan nilai gizi yang tinggi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. KACANG HIJAU

1. Botani

Kacang hijau digolongkan sebagai famili *Leguminosae*, sub famili *Papilionidae*, genus *Phaseolus* dan spesies *radiatus* (Marzuki, 1977). Beberapa nama botani yang diberikan pada tanaman tersebut adalah *Vigna radiata* L, *Phaseolus radiatus* dan *Phaseolus aureus* Roxb. (Kay, 1979).

Tipe pertumbuhan tanaman kacang hijau dapat dibedakan antara tipe tegak tidak bercabang, tegak bercabang dan menjalar. Tanaman kacang hijau mempunyai sistem perakaran yang dalam, sehingga selain dapat menfiksasi nitrogen juga dapat memperbaiki tekstur tanah dan kandungan organik lapisan tanah sebelah dalam (Kay, 1979).

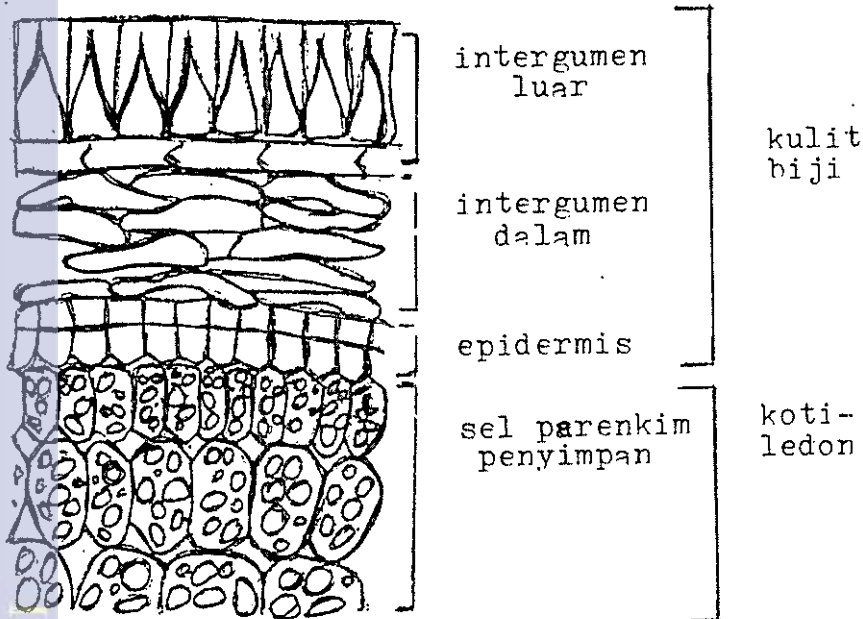
Tanaman kacang hijau dapat tumbuh pada kisaran jenis tanah yang luas (Kay, 1979) dan mempunyai sifat tahan terhadap kekeringan (Marzuki, 1977). Daerah penyebaran kacang hijau terutama di dataran rendah (Park, 1976).

Varietas unggul kacang hijau yang dianjurkan untuk ditanam adalah Bhakti (no. 116), no. 129, Merak, Nuri dan Manyar (Anonim, 1983). Menurut Soe-

prapto dan Sutarman (1990), varietas kacang hijau yang dianjurkan dan mempunyai kemampuan produksi yang tinggi adalah Siwalik, Gelatik, Walet dan Betet.

2. Struktur Biji

Biji kacang hijau berbentuk bulat atau lonjong, umumnya berwarna hijau tetapi ada yang berwarna kuning, coklat atau berbintik-bintik hitam. Dua jenis kacang hijau yang terkenal adalah *golden gram* dan *green gram* (Kay, 1979). *Golden gram* atau kacang hijau yang berwarna keemasan disebut *Phaseolus aureus*. Sedangkan yang berwarna hijau atau *green gram* disebut *Phaseolus radiatus* (Salunke et al., 1985).



Gambar 1. Penampang melintang biji kacang hijau

Biji kacang hijau yang sudah tua mempunyai tiga komponen utama yaitu kulit biji, kotiledon dan lembaga. Rata-rata kandungan kulit biji adalah 7.4-11.4% (Payumo, 1978), kotiledon 88% dan lembaga 2% (Ehiwe dan Reichert, 1987).

3. Kegunaan Kacang Hijau

Di Indonesia kacang hijau merupakan salah satu sumber protein nabati yang penanganannya sudah baik tetapi masih perlu peningkatan dalam penelitiannya (Sastrapraja et al., 1979).

Pengolahan kacang hijau secara tradisional yang sering dilakukan adalah dengan direbus atau dikecambahkan dan diolah seperti sayuran lain. Pati kacang hijau sering digunakan dalam pembuatan kue (Payumo, 1978).

Dalam perdagangan kacang hijau di dalam negeri hanya dikenal dua macam mutu yaitu kacang hijau biji besar dan kecil. Kacang hijau biji besar digunakan untuk bubur dan tepung, sedangkan yang berbiji kecil digunakan untuk membuat tauge (Soeprapto dan Sutarman, 1990).

Tepung kacang hijau sangat tepat digunakan untuk suplementasi pada produk-produk sereal karena asam aminonya. Tetapi penggunaannya sebagai suplemen protein dibatasi oleh bau langu dan warna gelap pada

produk akhir. Keadaan ini disebabkan oleh tidak cukupnya penyosohan selama penepungan (Thompson et al., 1976).

Tepung kacang hijau biasa digunakan sebagai bahan baku produk roti dan makanan ringan (Kay, 1979). Menurut Thirumaran dan Seralathan (1987) tepung kacang hijau juga dapat digunakan sebagai bahan dasar makanan sapihan. Formula makanan sapihan dengan campuran maizena dan tepung kacang hijau yang dikonsumsi balita umur enam bulan sampai tiga tahun dalam jangka waktu satu tahun menghasilkan beda yang nyata terhadap pertambahan tinggi, berat, tingkat hemoglobin dan kesehatan balita secara keseluruhan.

Tepung kacang hijau dapat digunakan untuk memproduksi makanan yang berprotein tinggi dengan harga yang murah melalui suplementasi tepung kacang hijau tersebut pada berbagai jenis makanan untuk meningkatkan kandungan proteinnya. Kombinasi tepung kacang hijau dengan tepung-tepungan lain seperti sereal, beras, gandum dan lain-lain, diperlukan untuk membuat berbagai jenis produk makanan. Kualitas protein dapat ditingkatkan menjadi lebih baik dibandingkan protein aslinya (Thirumaran dan Seralathan, 1987).

4. Nilai Gizi

Kacang hijau merupakan kacang-kacangan yang kaya akan protein, fosfor dan vitamin A. Protein kacang hijau kaya akan asam amino leusin, arginin, isoleusin, valin dan lisin. Kualitas protein kacang hijau seperti halnya kacang-kacangan yang lain dibatasi oleh kandungan asam amino bersulfur seperti sistin dan metionin, tetapi kedua jenis asam amino tersebut lebih tinggi pada kacang hijau dibandingkan kacang-kacangan yang lain (Singh et al., 1987).

Menurut Thompson (1977), kacang hijau mengandung protein sekitar 20.27% dan asam amino yang sebanding dan mirip dengan kedelai. PER kacang hijau yang

Tabel 1. Komposisi kimia kacang hijau utuh dan yang telah disosoh

Komponen	Biji utuh	Biji sosoh
Bagian dapat dimakan (%)	100.00	100.00
Air (g)	10.4	10.1
Protein (g)	24.0	24.1
Lemak (g)	1.3	1.2
Serat (g)	4.1	0.8
Karbohidrat (g)	56.7	59.9
Energi (kkal)	334.0	348.0
Kalsium (mg)	124.0	75.0
Fosfor (mg)	326.0	405.0
Karoten (mg)	94.0	49.0
Thiamin (mg)	0.47	0.72
Riboflavin (mg)	0.39	0.15
Niacin (mg)	2.10	2.40

Thirumaran dan Seralathan (1987)

rendah disebabkan oleh rendahnya kandungan metionin dan antitripsin.

Tabel 2. Komposisi asam amino esensial kacang hijau biji utuh

Asam amino	g/16 g nitrogen
Total nitrogen (%)	3.84
Arginin	0.50
Histidin	0.17
Lisin	0.46
Triptofan	0.06
Fenilalanin	0.35
Tirosin	0.10
Metionin	0.08
Sistin	0.06
Treonin	0.20
Leusin	0.51
Isoleusin	0.35
Valin	0.32

Thirumaran dan Seralathan (1987)

5. Tepung Kacang Hijau

Tepung kacang hijau menurut Standar Industri Indonesia (SII) adalah bahan makanan yang diperoleh dari biji tanaman kacang hijau (*Vigna radiata* (L) Wilezck) yang sudah dihilangkan kulitnya dan diolah menjadi tepung. Rosario dan Flores (1981) menyatakan empat macam tepung kacang yaitu tepung kacang hijau kaya protein, tepung kecambah, tepung kacang hijau *blanching* dan tepung mentah. Keempat tepung kacang hijau tersebut mempunyai sifat fungsional yang sangat baik.

Tabel 3. Syarat mutu tepung kacang hijau menurut SII no. 0720 1980

Komponen	Jumlah
Protein	minimal 23% bobot
Mikroskopis	tidak ada campuran
Air	maksimal 10% bobot
Bilangan asam	maks. 2 ml NaOH 1 N/100g
Serat kasar	maksimal 3% bobot
Pasir silika	maksimal 0.1% bobot
Bahan pengawet	tidak nyata
Kapang	maksimal 20 koloni/g
Serangga	tidak ada
Kehalusan	min. 95% ayakan 60 mesh dan 100% ayakan 40%

Tabel 4. Jumlah asam amino (mg/g protein) dibandingkan dengan standar FAO/WHO (1972)

Asam amino	Tepung kacang hijau	Standar FAO/WHO 1972	Skor Kimia
Isoleusin	35	40	87.5
Leusin	73	70	104.3
Lisin	58	55	105.5
Metionin+Sistin	17	35	48.6
Fenilalanin +	60	60	100.0
Tirosin			
Treonin	11	10	110.0
Valin	41	50	82.0
PER (Kasein 2.50)		1.73	

Prabhavat (1987)

B. SENYAWA ANTINUTRISI

Kacang-kacangan merupakan salah satu bahan pangan yang kaya akan protein dan harganya cukup murah sehingga merupakan bahan pangan penting. Walaupun kan-

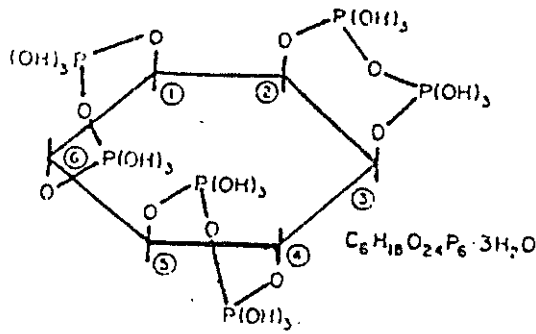
dungan protein dari kacang-kacangan tinggi (20-25%), tetapi kualitas proteinnya rendah. Hal ini disebabkan oleh dua faktor yaitu defisiensi asam amino bersulfur dan adanya faktor antifisiologis dan toksik seperti antitripsin, hemaglutinin, glikosida sianogenik, saponin, penyebab flatulensi dan asam fitat (Barroga et al, 1985).

1. Asam Fitat

Asam fitat, *myoinositol 1,2,3,4,5,6 hexakis (dihidrogen difosfat)*, merupakan salah satu bentuk fosfat yang penting dalam tanaman, terutama dalam serealia dan kacang-kacangan (Chang, 1977).

Asam fitat merupakan inositol heksafosfat yang oleh Neuberg (1908) diusulkan mempunyai rumus kimia $C_6H_{24}O_{27}P_6$ dengan 18 atom hidrogen di sekitar inti inositol heksafosfat (gambar 2). Anderson mengusulkan struktur asam fitat dengan rumus kimia $C_6H_{18}O_{24}P_6$ dengan 12 atom hidrogen di sekitar inti inositol heksafosfat (gambar 3) (Cheryan, 1980).

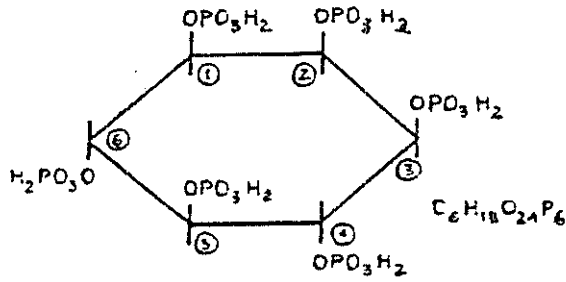
Menurut Erdman (1979) struktur asam fitat Anderson lebih sesuai dan mengalami disosiasi pada pH awal. Struktur asam fitat tersebut memberikan bukti bahwa berbagai kation dapat berikatan dengan asam fitat di antara dua gugus fosfat atau berikatan dengan asam fitat pada salah satu gugus fosfatnya.



Gambar 2. Struktur asam fitat Neuberger

Asam fitat merupakan sumber utama fosfat dalam tanaman, terutama pada sereal dan kacang-kacangan. Interaksi antara asam fitat dengan protein, vitamin dan beberapa mineral diduga merupakan salah satu faktor pembatas nilai gizi dari sereal dan kacang-kacangan. Asam fitat dalam makanan dilaporkan dapat mengganggu metabolisme mineral, tetapi jika dihidrolisa asam fitat merupakan sumber inositol dan fosfat organik. Dengan alasan tersebut hidrolisa asam fitat pada kacang-kacangan merupakan cara yang penting untuk meningkatkan nilai gizinya (Chang, 1977).

Fitase (*myo inositol hexaphosphatephosphohydrolyase* EC 3.1.3.8) merupakan enzim yang dapat menghidrolisa asam fitat menjadi inositol dan asam fosfat. Enzim ini tersebar pada jaringan tanaman dan hewan, berbagai spesies kapang dan beberapa bakteri (Lolas dan Markakis, 1977). Fitase juga terdapat pada biji



Gambar 3. Struktur asam fitat Anderson

terutama biji yang sedang berkecambah (Chang, 1977).

Selama perkecambahan aktifitas pada biji meningkat yang ditunjukkan oleh meningkatnya kandungan fosfor organik dan menurunnya kandungan asam fitat (Lolas dan Markakis, 1977).

2. Tanin

Tanin merupakan senyawa fenolik yang mempunyai berat molekul 500-3 000 dan dapat bereaksi dengan protein membentuk kompleks yang tidak larut. Tanin dapat digolongkan menjadi dua macam yaitu tanin terkondensasi (*condensed tannin*) dan tanin terhidrolisa (*hydrolizable tannin*) (White, 1957).

Menurut Schanderl (1978) tanin yang dapat terhidrolisa terdiri dari satu molekul glukosida yang terikat pada gugus fenolik. Pada kondisi asam atau basa, umumnya senyawa ini akan terurai menjadi molekul gula dan asam karbosiklik. Ada tiga macam tanin

yang dapat terhidrolisa yaitu gallotanin yang dapat terhidrolisa menjadi glukosa dan asam galat, galoil ester dari asam kuinat yang bila terhidrolisa menjadi asam-asam galat dan asam kuinat, serta ellagitanin yang bila terhidrolisa menjadi asam elagat dan glukosa.

Tanin terkondensasi atau sering juga disebut *proanthosianidin* merupakan polimer dari katekin dan epikatekin (flavan-3-ol) atau *leucoanthosianidin* (flavan-3,4-diol). Katekin dan epikatekin merupakan senyawa isomer. Tanin terkondensasi bila dipanaskan dalam larutan asam mineral akan membentuk sianidin atau anthosianidin yang berwarna merah (Riberau - Gayon, 1974).

Beberapa literatur membagi tanin berdasarkan kemampuannya untuk membentuk kompleks yang mengendap dengan protein. *True tannin* merupakan fenolik yang dapat mengendapkan protein dan fenolik non tanin bila tidak mengendap dengan protein (Djuwadi et al., 1987). Istilah tanin yang digunakan sekarang umumnya adalah *true tannin* yaitu yang mempunyai berat molekul 500-3 000 dan dapat mengendapkan protein (Schanderl, 1978).

Ada beberapa teori yang mendasari pembentukan kompleks protein-tanin. Gustavson (1954) serta Loomis dan Battaile (1966) menyimpulkan bahwa ikatan

hidrogen yang terjadi antara gugus karbonil dari ikatan peptida dengan gugus hidroksil dari tanin merupakan ikatan yang dominan dalam kompleks protein-tanin. Battaile (1960) juga menyatakan bahwa bila tanin telah mengalami oksidasi membentuk polimer kuinon, maka interaksinya dengan protein adalah melalui ikatan kovalen. Ikatan ionik dalam kompleks protein tanin kemungkinan juga dapat dijumpai tetapi mempunyai peranan yang kecil (Calderon et al., 1968). Menurut Haslam (1977) di dalam Oh et al. (1980), interaksi ionik lebih mudah terjadi pada tanin yang dapat dihidrolisa dibandingkan tanin terkondensasi. Teori keempat yang mendasari pembentukan kompleks protein-tanin adalah interaksi hidrofobik (Goldstein dan Swan (1965) dan Oh et al. (1980)).

Kandungan tanin dalam berbagai bahan pangan beragam baik jumlah maupun jenisnya (Djuwadi et al., 1987). Menurut Price et al. (1980), tanin terkondensasi terdapat pada beberapa kacang-kacangan yang biasa dikonsumsi manusia. Laurena et al. (1984) dan Barroga et al. (1985) telah melaporkan adanya tanin pada kacang hijau.

Tanin dapat menurunkan daya cerna protein dari kacang-kacangan dan sereal (Barroga et al., 1985).

Tanin yang terkandung dalam bahan makanan berinteraksi dengan enzim dalam pencernaan (Amstrong (1984) di dalam Djuwadi et al. (1987)). Bressani et al. (1983) yang mengutip pendapat Ariga et al. (1981) dan Griffith dan Mosley (1983) menyatakan bahwa tanin pada kacang-kacangan dapat mengikat protein dan menghambat aktifitas enzim proteolitik pada sistem pencernaan.

Beberapa cara dapat dilakukan untuk mengurangi tanin pada kacang-kacangan. Perebusan kacang hijau selama 30 menit telah dapat menurunkan kadar tanin sampai 73%. Perendaman kacang hijau selama 18 jam dapat menurunkan polifenol yang dapat terukur dari 25% menjadi 50%. Penyangraian kacang hijau selama 10 menit juga dapat menurunkan kandungan tanin 16.67%. Sedangkan perkecambahan dapat menurunkan tanin pada kacang hijau 23-36% dengan maksimum penghilangan tanin terjadi setelah 48 jam perkecambahan (Barroga et al., 1985).

3. Antitripsin

Antitripsin adalah senyawa yang mempunyai kemampuan untuk menghambat aktifitas proteolitik enzim tripsin (Kakade et al., 1969). Inhibitor proteolitik tersebut banyak terdapat pada kacang-kacangan dan merupakan suatu protein yang mempunyai berat molekul antara 4000-80 000 dan mengandung atau tidak gugus

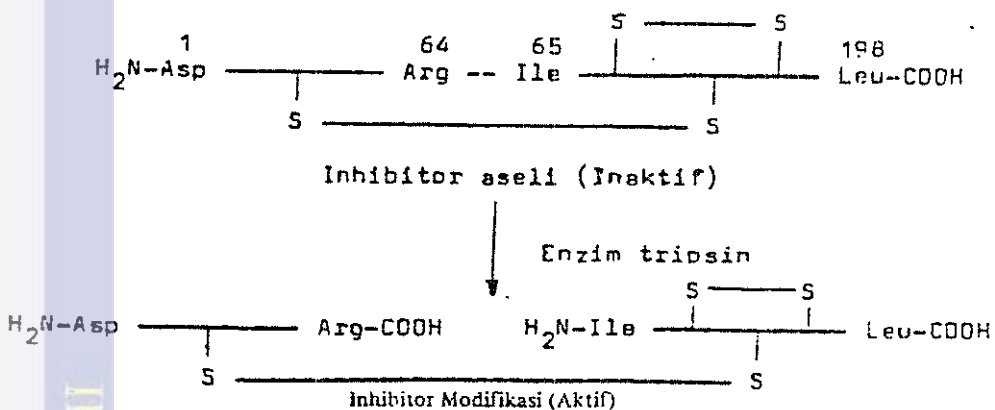
gula (Liener, 1969). Walaupun senyawa antitripsin terdapat dalam berbagai jenis kacang-kacangan, tetapi sebagian besar pengetahuan tentang pengaruhnya terhadap nutrisi berasal dari studi pada kacang kedelai (Liener, 1976).

Meskipun sekarang telah diketahui bahwa paling sedikit terdapat lima atau enam macam inhibitor protease dalam kedelai, tetapi yang paling banyak dipelajari adalah yang pertama kali diisolasi dan dikarakterisasi oleh Kunitz. Dalam penelitian lebih lanjut, Bowman telah membuktikan bahwa paling sedikit terdapat dua inhibitor lain yang dapat dibedakan dari inhibitor Kunitz berdasarkan kelarutannya dalam aseton, alkohol, asam trikloroasetat dan amonium sulfat. Salah satu dari inhibitor ini, yaitu yang tidak larut dalam aseton, lebih lanjut dimurnikan oleh Birk (1961) dan disebut inhibitor Bowman-Birk (Muchtadi, 1987).

Rackis et al. (1959) telah membuktikan terdapat tiga inhibitor tripsin tambahan dalam kedelai, yaitu yang disebut *Soy Bean Trypsin Inhibitor - A1* (SBTI-A1), SBTI-B1 dan SBTI-B2 yang mempunyai sifat yang berbeda dengan kedua jenis inhibitor di atas. Yamamoto dan Ikenaka (1967) telah berhasil mengisolasi antitripsin lain yang disebut sebagai inhibitor 1.9 S karena mempunyai konstanta sedimentasi yang berbeda

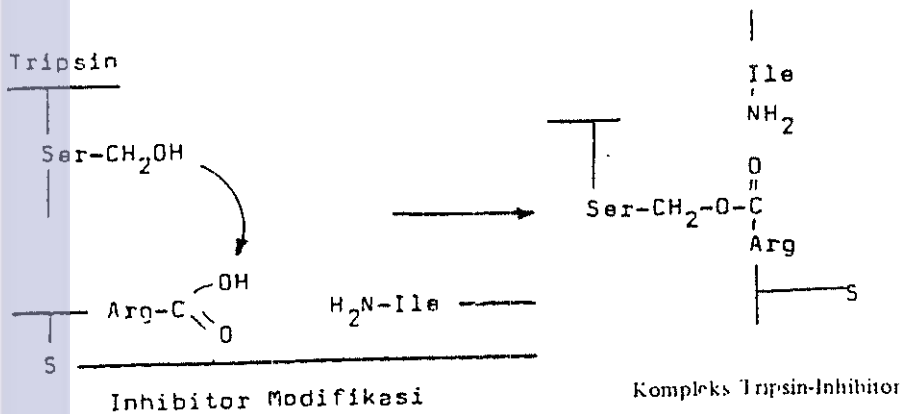
dengan inhibitor Kunitz (2.3 S). Frattali dan Steiner (1968) berhasil memisahkan komponen-komponen dari inhibitor Kunitz, baik dari inhibitor murni maupun bentuk kasarnya. Salah satu inhibitor hasil pemisahan tersebut adalah F2 yang mempunyai sifat kromatografik yang sama dengan inhibitor Kunitz, tetapi dua isoinhibitor lain (F1 dan F3) mempunyai sifat yang berbeda dengan antitripsin yang telah dikemukakan (Muchtadi, 1987).

Pada inhibitor Kunitz dan Bowman-Birk ditemukan bentuk-bentuk isoinhibitor pada masing-masing kelas. Pada inhibitor Kunitz telah ditemukan enam macam isoinhibitor yang diisolasi dari berbagai macam varietas kedelai. Bentuk-bentuk isoinhibitor tersebut diberi nama BBSTI-A, BBSTI-A'', BBSTI-B, BBSTI-B', BBSTI-C, BBSTI-C' DAN BBSTI-E (Wilson et al., 1985).



Gambar 4. Pembentukan inhibitor modifikasi

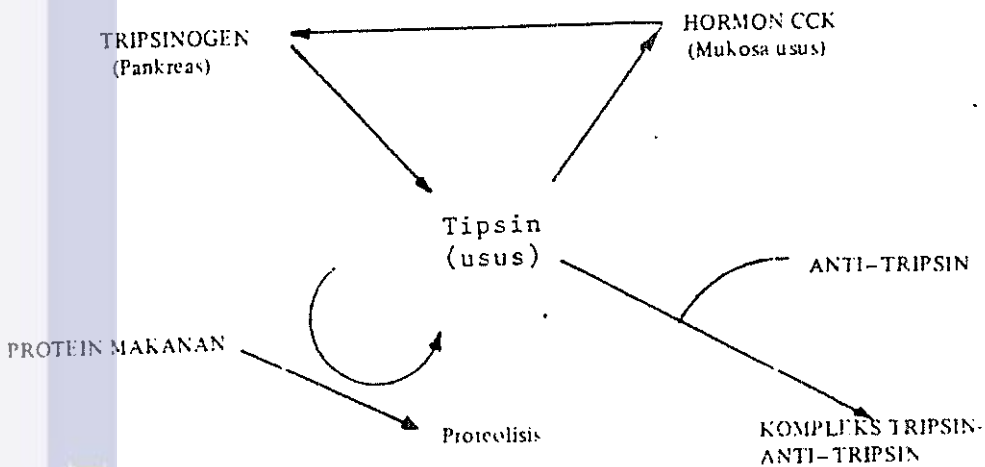
Mekanisme penghambatan aktifitas enzim proteolitik oleh antitripsin terjadi karena terbentuknya ikatan kompleks antara kedua zat tersebut (interaksi protein-protein). Langkah pertama dalam interaksi tersebut menyangkut pemutusan ikatan antara arginin- isoleusin pada inhibitor yang terdapat diantara ikatan disulfida oleh enzim tripsin untuk membentuk suatu inhibitor modifikasi (Finkenstadt dan Laskowski, 1965, 1967) seperti dapat dilihat pada gambar 4. Kemudian diikuti oleh pembentukan ikatan antara gugus hidroksil dari serin yang terdapat pada sisi aktif enzim tripsin dan gugus karbonil dari arginin pada inhibitor modifikasi yang baru dibebaskan (Liener dan Kakade, 1969).



Gambar 5. Pembentukan ikatan antara tripsin dan antitripsin

Faktor antitripsin mempunyai andil besar dalam menghambat pertumbuhan dan hipertrofi pankreas hewan percobaan yang mengkonsumsi kedelai mentah (Rackis, 1969).

Secara biologis, jumlah enzim tripsin yang disekresikan oleh pankreas tergantung pada jumlah enzim tripsin bebas dalam usus. Bila konsentrasi enzim tripsin ini menurun sampai di bawah batas tertentu, pankreas akan bereaksi untuk memproduksi lebih banyak enzim. Zat yang mengatur mekanisme ini adalah hormon kolesistokinin (CCK) yang dapat menstimulir aktifitas pankreas, tetapi pelepasan CCK dari mukosa usus dapat dihambat oleh enzim tripsin bebas. Penurunan jumlah tripsin bebas dalam usus karena adanya reaksi dengan antitripsin akan menstimulir aktifitas pankreas untuk memproduksi lebih ba-



Gambar 6. Mekanisme hipertrofi pankreas

nyak enzim sehingga terjadi hipertrofi pankreas (Green dan Lyman, 1972).

Liener (1977) menunjukkan hubungan antara hipertrofi pankreas dan berat pankreas sebagai persentase berat tubuh. Apabila berat pankreas lebih besar dari 0.3% berat tubuh, antitripsin mengakibatkan hipertrofi pankreas, sedangkan apabila kurang dari 0.3% keadaan ini tidak terjadi. Dalam hubungan ini manusia termasuk golongan yang kedua.

Walaupun antitripsin tidak menyebabkan hipertrofi pankreas berdasarkan hipotesa Liener (1977), tetapi aktifitas antitripsin dalam makanan yang dikonsumsi manusia harus dikurangi.

Lyman dan Lepkovsky (1957) menyatakan bahwa penghambatan pertumbuhan hewan percobaan oleh antitripsin adalah sebagai akibat kehilangan asam-asam amino esensial endogen. Hiperaktifitas pankreas menyebabkan asam-asam amino yang tadinya akan digunakan sintesa jaringan tubuh, diubah fungsinya dan digunakan untuk sintesa enzim-enzim pankreas. Asam-asam amino tersebut tidak dapat dimanfaatkan karena disekresikan keluar tubuh berupa kompleks enzim-inhibitor.

Enzim-enzim yang diproduksi oleh pankreas banyak mengandung asam amino sistin. Sebagian besar sistin dalam tubuh disintesa dari metionin. Peningkatan kecepatan sintesa enzim oleh pankreas akan menyebabkan

cepat berkurangnya metionin dari jaringan tubuh (Liener, 1977). Menurut Singh et al. (1987), protein kacang-kacangan umumnya kekurangan asam amino sistin dan metionin. Hal ini diperburuk lagi oleh terbentuknya kompleks antitripsin-enzim yang tidak dapat diserap. Menurut Wilson et al. (1985), isoinhibitor dari Bowman-Birk yaitu salah satu jenis antitripsin, kaya akan sistin tetapi sistin ini tidak dapat digunakan oleh tubuh.

Sebagian besar antitripsin dari tanaman dapat dirusak oleh panas, sehingga secara umum nilai gizi kacang-kacangan akan meningkat jika dilakukan pemanasan yang merupakan fungsi dari suhu, lama pemanasan, ukuran partikel dan kadar air (Liener, 1969).

Pada proses perkecambahan terjadi perubahan aktifitas antitripsin pada kacang-kacangan. Penurunan aktifitas antitripsin selama perkecambahan disebabkan oleh hilangnya sebagian aktifitas pada awal perkecambahan. Pada perkecambahan lebih lanjut, peningkatan aktifitas antitripsin secara perlahan terjadi karena adanya perubahan dari kondisi dorman menjadi kondisi metabolisme yang aktif (Gupta dan Wagle, 1980).

C. PENGARUH PENGOLAHAN

Pada umumnya bahan pangan mengalami proses pengolahan terlebih dahulu sebelum dikonsumsi. Proses pengolahan yang dilakukan terhadap kacang-kacangan dapat mempengaruhi nilai gizi dan penerimaan konsumen. Salah satu proses pengolahan yang biasa dilakukan terhadap kacang-kacangan adalah membuatnya dalam bentuk tepung sehingga kegunaannya meningkat.

Ada berbagai cara yang dapat dilakukan untuk membuat tepung kacang hijau. Tahap-tahap yang dilakukan selama penepungan dapat mempengaruhi nilai gizi dan kandungan antinutrisi dari tepung kacang hijau tersebut.

1. Perkecambahan

Di beberapa tempat di dunia ini kacang-kacangan sering dikonsumsi setelah dikecambahkan. Pada perkecambahan ini protein terhidrolisa menjadi asam amino dan peptida karena aktifitas protease dan karbohidrat diubah menjadi gula sederhana (Khan dan Ghafoor, 1978).

Proses perkecambahan dimulai dengan pengambilan air dengan cepat yang mengakibatkan jaringan biji mengembang dan merentangnya kulit biji. Imbibisi air diikuti dengan keluarnya panas yang menun-

unjukkan hilangnya energi kinetik akibat diambilnya molekul air. Bila hidrasi dari sel-sel itu berlangsung, kekuatan osmosis mulai bekerja dalam proses masuknya air. Hidrasi dari jaringan ada hubungannya dengan peningkatan aktifitas metabolisme yang pertama kali terjadi dalam akar embrio (Sadjad, 1974).

Setelah pengambilan air sel-sel embrio menjadi aktif, membesar dan mulai memanjang sebelum kulit biji pecah atau persediaan makanan utamanya dimobilisasi. Persediaan makanan disimpan dalam endosperma atau kotiledon pada umumnya dalam keadaan tidak melarut sebagai polisakarida, lemak atau protein. Bahan-bahan makanan persediaan ini digunakan untuk pertumbuhan jaringan embrio setelah dirombak oleh enzim-enzim dan ditransfer ke embrio (Sadjad, 1974).

Pada saat perkecambahan terjadi peningkatan jumlah enzim hidrolitik. Sintesa enzim-enzim tersebut terjadi pada sel-sel cadangan atau pada jaringan khusus. Protein cadangan diubah menjadi pepton yang larut, polipeptida dan asam amino. Asam amino dan bentuk-bentuk yang larut lainnya ditranslokasikan ke embrio untuk mensintesa protein baru. Fosfor pada biji ada dalam bentuk lesitin, fitin atau bentuk fosfat tidak larut. Selama

perkecambahan bentuk-bentuk fosfat ini diubah menjadi bentuk yang larut dan dimobilisasi ke embrio untuk mensintesa fosfolipid, nukleotida dan asam nukleat (James, 1973).

Selama perkecambahan terjadi pergantian protein dan asam amino berdasarkan keseimbangan degradasi dan sintesa. Setelah lima hari perkecambahan terjadi sedikit peningkatan jumlah total nitrogen, sedikit penurunan protein nitrogen dan peningkatan yang nyata baik pada total non protein nitrogen dan asam-asam amino bebas nitrogen berdasarkan berat kering (Chen dan Tacker (1978) di dalam Vanderstoep (1980).

Pada kacang hijau, perkecambahan selama 24 jam menurunkan kualitas protein yaitu penurunan daya cerna, *Protein Efficiency Ratio* (PER), nilai biologi dan *Net Protein Utilization* (NPU) dibandingkan kacang hijau mentah. Perkecambahan pada waktu yang optimum mungkin dapat mengubah kualitas protein menjadi lebih baik. Perkecambahan juga menurunkan jumlah ketersediaan asam-asam amino lisin, metionin dan sistin (Geervani dan Teophilus, 1980). Perkecambahan merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk menurunkan kandungan antinutrisi pada kacang hijau. Gupta dan Wagle (1980) menyatakan bahwa aktifitas antitripsin pada kacang

hijau menurun setelah 9 jam perkecambahan. Perkecambahan lebih lanjut meningkatkan aktifitas anti-tripsin secara perlahan-lahan sampai 72 jam perkecambahan dan kemudian menurun sampai 9 hari perkecambahan. Pemanasan setelah perkecambahan menyebabkan penurunan aktifitas antitripsin. Pengaruh pemanasan ini merupakan fungsi dari suhu dan lama pemanasan.

Asam fitat merupakan bentuk fosfor yang terpenting pada biji-bijian. Enzim fitase menjadi aktif selama perkecambahan, menghidrolisa asam fitat menjadi inositol fosfat, inositol dan ortofosfat. Sedikit penurunan asam fitat terjadi selama 48 jam perkecambahan kacang hijau, dan penurunan lebih cepat terjadi pada periode perkecambahan 72-120 jam (Tabekhia dan Luh, 1980).

Perkecambahan mengurangi kandungan tanin 23-36% pada kacang hijau, dengan nilai maksimum pengurangan terjadi pada perkecambahan 48 jam. Kandungan tanin ini berfluktuasi tergantung kepada lama perkecambahan (Barroga et al., 1985).

2. Perebusan

Cara perebusan telah lama digunakan untuk mempermudah pengupasan kulit kacang-kacangan. Perebusan selain menginaktifkan enzim, membunuh mikro-

ba, juga meluruhkan jaringan sel serta memperbaiki nilai biologi. Perebusan diharapkan dapat mempercepat kelarutan lapisan gum sehingga memudahkan pengupasan kulit (Sunaryo, 1985). Menurut Almasyhuri et al. (1990), untuk mengupas biji kacang-kacangan dari kulitnya diperlukan waktu perebusan yang berlainan.

Perebusan merupakan perlakuan pemanasan basah. Perebusan kacang hijau selama 30 menit pada suhu 100°C menurunkan ketersediaan asam amino metionin, lisin, treonin, triptofan dan sistin (Geervani dan Theophilus, 1980). Menurut Altschul (1962) yang dikutip oleh Geervani dan Theophilus (1980), reaksi antara lisin dan metionin dengan gula lebih banyak terjadi pada pemanasan basah.

Triantarti (1989) menyatakan bahwa perlakuan perebusan memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap persen penyosohan, rendemen hasil sosohan dan persen penggilingan kacang gude (*Cajanus cajan*). Semakin lama waktu perebusan, persen penggilingan akan menurun karena makin banyak bagian biji yang tergelatinisasi, tetapi perlakuan perebusan menunjukkan peningkatan rendemen yang nyata dibandingkan kontrol. Peningkatan rendemen ini terjadi karena pada perlakuan perebusan terjadi kelarutan zat perekat kulit biji (gum dan lignin)

sehingga memudahkan pengupasan kulit dan meningkatkan rendemen.

Jansen et al. (1978) yang mengutip pendapat Kloose et al. (1948) menyatakan bahwa pemanasan secara kering kurang efektif jika dibandingkan pemanasan secara basah dalam memperbaiki nilai gizi kacang kedelai mentah. Hal ini disebabkan penetrasi panas sangat penting dalam inaktivasi faktor-faktor anti pertumbuhan dalam kedelai.

Perebusan kacang hijau selama 120 menit mengurangi tanin sampai 73%. Kandungan tanin pada biji utuh menurun dan pada air perebus kandungan tanin menjadi tinggi (Barroga et al., 1985).

Triantarti (1989) menyatakan bahwa perlakuan pendahuluan dengan perebusan pada kacang gude menyebabkan penurunan kandungan asam fitat paling besar dibandingkan perendaman dan penyangraian. Sedangkan Almasyhuri et al. (1990) menyatakan bahwa dengan perebusan-perendaman seperti yang dilakukan pada pembuatan tempe, ternyata dapat menurunkan kandungan asam fitat yang besarnya tergantung pada jenis kacang-kacangan.

Menurut Liener (1969), kecepatan penghancuran antitripsin dan kacang-kacangan oleh panas merupakan fungsi dari suhu, lama pemanasan, ukuran partikel dan kadar air bahan. Semakin tinggi kadar air

kedelai semakin singkat waktu yang dibutuhkan untuk menghilangkan aktifitas antitripsin.

3. Penyangraian

Penyangraian merupakan proses yang aplikatif bagi negara-negara berkembang karena sederhana dan murah biayanya. Penyangraian tidak membutuhkan penambahan air dan pengeringan kembali. Proses penyangraian mempermudah penyosohan karena penyangraian memecahkan sebagian kulit kacang-kacangan (Jansen et al., 1978).

Penyangraian dapat dilakukan dengan atau tanpa menggunakan pasir. Proses ini sangat baik dilakukan pada biji-bijian karena panas dapat menginaktivkan enzim dan inhibitor enzim, membunuh mikroba, memperbaiki daya cerna dan menghasilkan rasa dan aroma khas sangrai serta tidak mempengaruhi densitas kamba (Sunaryo, 1985).

Penyangraian juga dapat mempercepat penurunan kadar air sampai suatu tingkat dimana pengupasan kulit cukup baik. Penyangraian ini penting terutama apabila cuaca tidak memungkinkan untuk melakukan penjemuran sedangkan kacang segera dibutuhkan untuk pembuatan tepung (Triantarti, 1989).

Menurut Triantarti (1989), perlakuan penyangraian pada kacang gude memberikan pengaruh yang

sangat nyata terhadap persen penyosohan, rendemen hasil sosohan dan persen pengilingan. Semakin lama waktu penyangraian, persen penggilingan semakin meningkat.

Pengaruh penyangraian terhadap nilai PER kacang-kacangan bervariasi tergantung jenisnya. Penyangraian tanpa pasir pada kacang hijau selama 10 menit dan suhu 160°C mengakibatkan sedikit penurunan PER dan sedikit meningkatkan daya cerna, nilai biologis dan NPU. Penyangraian pada suhu dan waktu yang sama menurunkan kandungan asam amino metionin, sistin, treonin, triptofan dan lisin. Ketersediaan asam amino metionin dan sistin meningkat, tetapi ketersediaan asam amino lisin sedikit menurunkan (Geervani dan Theophilus, 1980).

Baroga et al. (1985) menyatakan bahwa penyangraian kacang hijau 10 menit dapat mengurangi kandungan tanin 16.67%. Penurunan jumlah tanin ini kemungkinan disebabkan terjadinya perubahan kimiawi sehingga tanin tidak dapat diukur dengan metode yang digunakan.

Penyangraian kacang gude menyebabkan penurunan kandungan asam fitat sebesar 3.96% (varietas QPL-42) dan 1.93% (varietas lokal) (Triantari, 1989). Sedangkan Khan et al. (1986) menyatakan bahwa penyangraian biji sorghum di dalam pasir (*parching*) sampai berwarna coklat dan timbul flavor sangrai akan menyebabkan penurunan asam fitat sebesar 25%.

III. BAHAN DAN METODE

A. BAHAN DAN ALAT

Penelitian ini dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Pangan Sukamandi - Subang dari bulan Mei sampai Agustus 1993. Bahan yang digunakan adalah kacang hijau varietas Walet yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Pangan - Sukamandi - Subang.

Peralatan yang digunakan untuk persiapan sampel adalah wajan, panci, ayakan, kompor gas Rinnai RM-221, oven blower, cera tester, termometer minitherm HI 8754, screen scale, mesin penggiling tecator dan mesin penyosoh Satake tipe-35. Peralatan yang digunakan untuk analisa adalah pH-meter, sentrifus, spektrofotometer, magnetic stirrer, shaker, oven, penangas air, atomic absorption spectrofotometer dan peralatan gelas.

B. METODE PENELITIAN

1. Persiapan Sampel

Secara skematis penelitian yang dilakukan ditunjukkan pada gambar 7.

a. Perkecambahan

Perkecambahan dilakukan dengan melakukan perendaman kacang hijau terlebih dahulu. Perendaman dilakukan pada air deionisasi pH netral de-

ngan perbandingan berat kacang hijau-air adalah 1:4. Perendaman dilakukan selama 12 jam pada suhu ruang ($29-30^{\circ}\text{C}$).

Setelah mengalami perendaman, kacang hijau dikecambahkan pada ayakan yang dilapisi dengan kain kasa basah untuk menjaga kelembaban. Kelembaban kacang hijau dijaga dengan melakukan penyiraman setiap 3 jam.

b. Perebusan

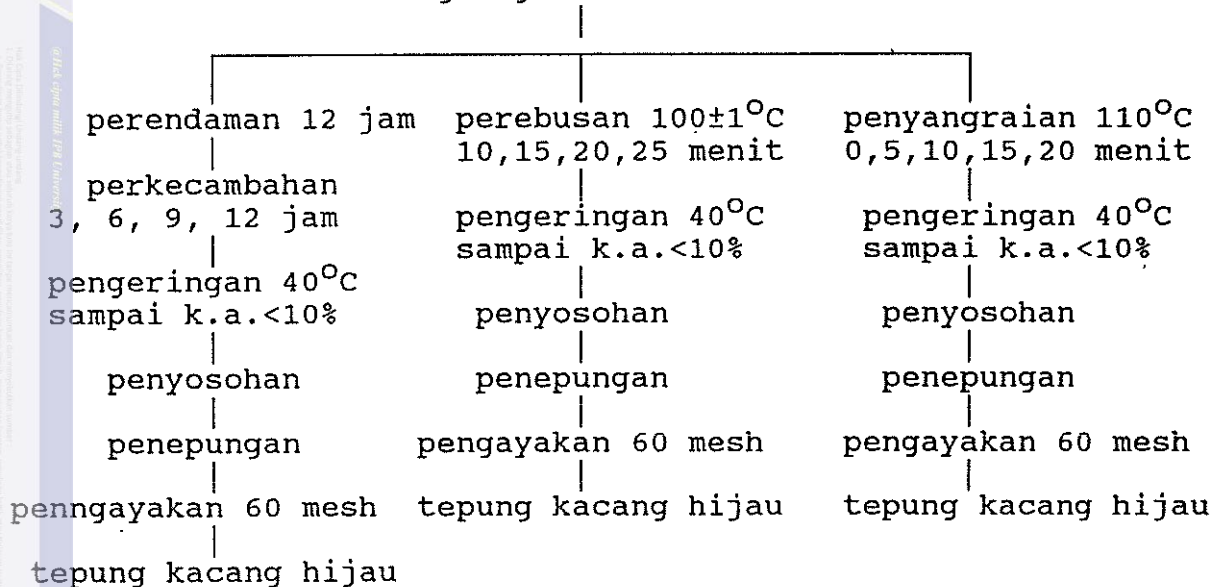
Perebusan kacang hijau dilakukan dalam akuades dengan perbandingan kacang hijau-akuades adalah 1:5. Kacang hijau dimasukkan ke dalam akuades ketika suhu akuades mencapai 100°C . Lama perebusan mulai dihitung ketika suhu akuades dan kacang hijau mencapai 100°C . Perebusan dilakukan pada suhu $100\pm 1^{\circ}\text{C}$.

c. Penyangraian

Penyangraian kacang hijau dilakukan dengan menggunakan wajan dan kompor gas sebagai pemanas. Kacang hijau dimasukkan ke dalam wajan ketika suhu wajan mencapai 110°C . Waktu penyangraian mulai dihitung setelah suhu kacang hijau mencapai 110°C . Penyangraian dilakukan pada suhu 110°C .



kacang hijau hasil sortasi



Gambar 7. Skema pembuatan tepung kacang hijau

2. Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap satu faktor dengan tiga kali ulangan.

$$Y_{ij} = \mu + A_i + \epsilon_{ij}$$

Y_{ij} = variabel yang diamati

μ = rata-rata sebenarnya

A_i = pengaruh perlakuan ke- i

ϵ_{ij} = kekeliruan, berupa pengaruh ulangan ke- j
karena perlakuan ke- i

Keterangan :

A_1 = Cara pembuatan tepung melalui perkecambahan 3 jam

A_2 = Cara pembuatan tepung melalui perkecambahan 6 jam

A_3 = Cara pembuatan tepung melalui perkecambahan 9 jam

A_4 = Cara pembuatan tepung melalui perkecambahan 12 jam

A_5 = Cara pembuatan tepung dengan perebusan 10 menit

A_6 = Cara pembuatan tepung dengan perebusan 15 menit

A_7 = Cara pembuatan tepung dengan perebusan 20 menit

A_8 = Cara pembuatan tepung dengan perebusan 25 menit

A_9 = Cara pembuatan tepung dengan penyangraian 0 menit

A_{10} = Cara pembuatan tepung dengan penyangraian 5 menit

A_{11} = Cara pembuatan tepung dengan penyangraian 10 menit

A_{12} = Cara pembuatan tepung dengan penyangraian 15 menit

A_{13} = Cara pembuatan tepung dengan penyangraian 20 menit

3. Metode Analisa

a. Penetapan Kadar Air (AOAC, 1984)

Ke dalam cawan kering (W_0) yang telah dikeringkan selama selama 15 menit dan didinginkan 10 menit dimasukkan 3 gram sampel (W_1). Sampel dan cawan kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 100-102°C sampai beratnya tetap (W_2).

Perhitungan :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{((W_0 + W_1) - W_2)}{W_1} \times 100\%$$

b. Penetapan Kadar Abu (AOAC, 1984)

Ke dalam cawan pengabuan (W_0) yang telah dibakar dalam tanur dan didinginkan, dimasukkan sampel sebanyak 3 gram (W_1). Sampel kemudian dibakar dalam tanur pada suhu 550°C sampai sampel berwarna abu-abu atau beratnya tetap dan ditimbang (W_2).

Perhitungan :

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\%$$

c. Penetapan Kadar Protein (AOAC, 1984)

Sampel sebanyak 200 ng dimasukkan ke dalam tabung destruksi. Kemudian ditambahkan satu sendok

kecil katalisator dengan komposisi $K_2SO_4:Se = 100:1$ berdasarkan berat, serta ditambahkan 25 ml H_2SO_4 pekat dan 5-6 tetes H_2O_2 . Sampel didestruksi selama satu jam atau sampai cairan menjadi bening. Kemudian diangkat dan didinginkan kurang lebih 10 menit, lalu ditambah 25 ml akuades. Cairan kemudian didestilasi. Hasil destilasi ditampung dalam erlenmeyer yang berisi *receiver solution*. Setelah tertampung 100 ml destilat, dilakukan titrasi dengan 0.1 N HCl sampai larutan berubah warna menjadi merah.

Pembuatan *receiver solution* :

Asam borat sebanyak 100 g dilarutkan dalam 9 liter akuades. Sebagai indikator digunakan 100 ml *bromcressol green* (100 mg *bromcressol green* dilarutkan dalam metanol) dan 70 ml merah metil (70 mg merah metil dilarutkan dalam 70 ml metanol). Kemudian ditambahkan 5 ml NaOH 1 N dan volume ditepatkan sampai 10 liter dengan akuades.

Perhitungan :

$$\% N = \frac{(\text{ml HCl} - \text{ml blanko}) \times N \text{ HCl} \times 14.007}{\text{mg sampel}} \times 100$$

$$\% \text{ protein} = \% N \times 6.25$$

d. Penetapan Kadar Kalsium dengan *Atomic Absorption Spectrofotometer* (AOAC, 1984)

Sebanyak 1.00 g sampel berbentuk tepung dan kering dimasukkan ke dalam gelas piala 100 ml yang telah dibilas oleh HCl 1N. Kemudian ditambahkan 25 ml asam campur ($\text{HClO}_3:\text{HNO}_3:\text{HCl} = 6:6:1$) dan dibiarkan selama 24 jam. Ekstrak sampel dikocok dan disaring ke dalam erlenmeyer 100 ml dengan kertas Whatman no.1. Blanko dibuat dengan prosedur yang sama.

Satu ml ekstrak sampel dipipet ke dalam tabung reaksi 10 ml. Kemudian ditambahkan 2 ml larutan Lanthanum 5% dan volume ditepatkan 10 ml dengan larutan asam campur. Tutup tabung dengan aluminium foil. Larutan ini siap digunakan untuk analisa kalsium.

e. Penetapan Kadar Fosfor Metoda Vanadat-Molibdat (AOAC, 1984)

1. Persiapan Pereaksi

a. Pereaksi vanadat-molibdat

Amonium molibdat sebanyak 20 g dilarutkan dalam akuades 50°C dan didinginkan. Amonium-vanadat (amonium meta vanadat) sebanyak 10 g dilarutkan dalam 300 ml akuades mendidih dan didinginkan. Perlahan-lahan ke dalam larutan amonium-vanadat ditambahkan 140 ml asam

nitrat pekat sambil diaduk. Larutan molibdat dimasukkan ke dalam larutan vanadat dan diaduk. Volume larutan ditepatkan sampai 1 liter dengan akuades.

b. Pereaksi fosfat standar

Pottasium dihidrogen fosfat kering sebanyak 3.834 g dilarutkan dalam akuades dan diencerkan sampai volume 1 liter. Sebanyak 25 ml larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml dan diencerkan sampai tanda tera dengan akuades (1 ml = 0.2 mg P_2O_5).

2. Persiapan Sampel

Persiapan sampel untuk analisa fosfor dilakukan dengan pengabuan kering (*dry ashing*). Ke dalam sampel hasil pengabuan ditambahkan 40-50 ml HCl encer (1+1). Cawan dipanaskan di atas penangas air selama 30 menit. Tutup cawan diangkat dan dibilas, kemudian pemanasan dilanjutkan selama 30 menit. Kemudian ditambahkan 10 ml HCl (1+1) dan air untuk melarutkan garam-garam. Larutan dipindahkan ke dalam labu takar 100 ml. Residu yang tertinggal dalam cawan dibilas 1-2 kali dengan menggunakan HCl (1+1). Larutan diencerkan sampai tanda tera dengan menggunakan akuades.

3. Penetapan sampel

Sebanyak 10 ml larutan dari persiapan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml. Kemudian ditambahkan 40 ml akuades dan 25 ml pereaksi vanadat-molibdat. Campuran ditepatkan sampai tanda tera dengan akuades larutan didiamkan 10 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400 nm dengan spektrofotometer.

4. Pembuatan Kurva Standar

Ke dalam satu seri labu takar 100 ml dimasukkan masing-masing 0, 2.5, 5, 10, 20, 30, 40 dan 50 ml larutan fosfat standar. Masing-masing alikuot diencerkan sampai volume 50-60 ml dengan akuades. kemudian ditambahkan 25 ml pereaksi vanadat-molibdat ke dalam masing-masing labu takar dan diencerkan sampai volume 100 ml dengan akuades. Larutan didiamkan selama 10 menit dan kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400 nm dengan spektrofotometer.

5. Perhitungan

$$\% \text{ fosfor dalam sampel } (P_2O_5) = \frac{C}{W}$$

$$\% \text{ fosfor (P)} = \% P_2O_5 \times 0.4364$$

Keterangan :

C = konsentrasi fosfor (P_2O_5) mg/100 ml) yang terbaca dari kurva standar



W = berat sampel yang digunakan

0.4364 = konsentrasi P dalam P_2O_5

f. Daya Cerna Protein *in Vitro* (Tanaka, 1976)

Pereaksi yang digunakan

a. Buffer Walpole 0.1 M pH 2

Sebanyak 50 ml Na-asetat 1 M ditambah dengan 52.5 ml HCl 1M. Kemudian larutan diencerkan dengan akuades sampai volumenya 1 liter.

b. Larutan pepsin 4%

Sebanyak 4 gram enzim pepsin (merek Sigma EC 3.4.23.1 dari *Porcine Stomach Mucosa*) 1730 unit/mg protein, dilarutkan dalam 100 ml buffer Walpole 0.1 M pH 2.

c. Larutan TCA 20%

Sebanyak 20 g asam trikloroasetat (TCA) dilarutkan dalam akuades sampai volumenya 100 ml.

Sebanyak 200 mg sampel disuspensikan dalam 9 ml buffer Walpole 0.1 M pH 2. Kemudian ditambahkan 1 ml larutan pepsin 4% dalam buffer Walpole.

Campuran diinkubasikan pada suhu $37^{\circ}C$ selama 5 jam. Selama inkubasi dilakukan pengocokan. Selanjutnya suspensi disentrifus pada 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan ditampung dan diambil 5 ml lalu ditambahkan 5 ml TCA 20%. Campuran dibiarkan selama 15 jam

pada suhu kamar dan selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 1. Filtrat ditampung dan diukur jumlah nitrogennya.

Perhitungan :

$$\text{Daya cerna protein (\%)} = \frac{Y \times 2 \times 6.25}{C \times P} \times 100$$

Keterangan :

Y = jumlah nitrogen dalam filtrat (mg)

2 = faktor pengenceran

6.25 = faktor konversi protein

C = berat contoh

P = kadar protein contoh (%)

g. Penetapan Kadar Metionin (T. J. Lunder, 1973)

Sebanyak 750 mg sampel tanpa lemak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 10 ml buffer tris 0.1 M pH 7.2 (121.4 g trihidroksimetil aminometana dalam air dan ditambahkan 83 ml HCl pekat, dan volume ditepatkan 1 liter dengan akuades) dan 100 mg papain. Tabung reaksi diinkubasikan pada suhu 55°C selama 4 jam. Selama inkubasi ini dilakukan pengocokan.

Hidrolisa enzimatik dihentikan dengan menambah 4-5 tetes asam ortofosfat 80%. Suspensi dipindahkan ke dalam gelas piala 25 ml dan ditepatkan volumenya dengan akuades. Suspensi dikocok dan disaring dengan kertas Whatman no. 41.

Sebanyak 5 ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 1 ml NaOH 5 N, 1 ml glisin 1% dan 1 ml larutan natrium nitroprusida 1%. Setelah diaduk, tabung reaksi disimpan dalam penangas air 40°C selama 10 menit. Setelah dingin ditambahkan 6 ml asam ortofosfat 80%, kemudian dikocok sampai diperoleh warna merah. Sampel didiamkan pada suhu ruang dan absorbansi dibaca pada panjang gelombang 520 nm dengan spektrofotometer.

Blanko dan persiapan metionin standar 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 dan 2.5 mg/ml mengikuti prosedur di atas. Kadar metionin dinyatakan sebagai gram metionin/100 g protein.

h. Penetapan Kadar Asam Fitat (Wheeler dan Ferrel, 1971)

Sampel sebanyak 0.5 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer 125 ml dan diekstraksi dengan TCA 3% dengan cara digojog secara mekanis selama 30 menit. Sampel kemudian dipindahkan ke dalam tabung sentrifus dan disentrifugasi dengan gaya 4000 g selama 15 menit. Sepuluh ml dari supernatan kemudian dipindahkan ke dalam tabung sentrifus 40 ml dan ditambah dengan 4 ml FeCl_3 3% dengan tujuan untuk mengendapkan asam fitat dalam bentuk Fe_4 fitat. Pemberian larutan FeCl_3 ke dalam alikuot dilakukan secara cepat.

Selanjutnya tabung dipanaskan selama 45 menit. Jika supernatan tidak dapat jernih setelah pemanasan 30 menit, dapat ditambahkan 1 atau 2 tetes Na_2SO_4 3% dalam TCA 3%. Proses pemanasan dilanjutkan lagi selama 15 menit dan supernatan dipindahkan secara hati-hati. Endapan yang didapat dicuci 2 kali dengan cara menyemprotkan 20-25 ml TCA 3%, kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 3-10 menit dan disentrifus lagi. Setelah supernatan dipisahkan, endapan dicuci sekali lagi dengan akuades kemudian disentrifus dan supernatannya dipisahkan. Endapan yang didapat kemudian disemprot dengan beberapa ml akuades dan ditambah 3 ml NaOH 1.5N. Penambahan NaOH bertujuan untuk mengubah Fe_4fitat yang telah mengendap menjadi $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Kemudian ditambahkan akuades hingga volume 30 ml dan dipanaskan. Setelah 30 menit pemanasan endapan dipisahkan dengan jalan disaring dalam keadaan panas dengan kertas saring Whatman no. 2. Endapan pada kertas saring dicuci dengan 60-70 ml akuades panas dan filtratnya dibuang.

Endapan kemudian dilarutkan dalam 40 ml HNO_3 3.2 N panas dan ditampung dalam gelas piala. Kertas saring dicuci dengan akuades, didiamkan pada suhu kamar kemudian dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml dan diencerkan sampai tanda tera. Aliquot sebanyak 5 ml kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan

ditambah 60 ml akuades. Setelah itu ditambahkan 20 ml KSCN 1.5 M dan diencerkan sampai tanda tera. Pengukuran absorbansi dilakukan + 3 menit setelah penambahan KSCN. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 480 nm.

i. Penetapan Kadar Tanin dengan Prosedur Modifikasi Vanilin (Price et al., 1978)

Metoda ini didasarkan atas reaksi pembentuk warna dari tanin dengan vanilin, yang kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm.

Sebanyak 200 mg sampel yang telah digiling halus dan dapat melewati saringan 0.4 mm, dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertutup. Sampel diekstrak dengan 10 ml larutan HCl 1% dalam metanol dengan menggunakan *shaker* selama 20 menit. Sampel kemudian disentrifusa dengan kecepatan 5000 rpm selama 5-10 menit dan supernatannya dipisahkan. Pereaksi vanilin (campuran sejumlah volume yang sama larutan vanilin 1% dalam metanol dan larutan HCl 8% dalam metanol) dengan supernatan dipanaskan pada suhu 30°C dalam penangas air selama 10 menit dan dibiarkan di dalam penangas selama analisa berlangsung. Ke dalam 1 ml supernatan ditambahkan 5 ml pereaksi vanilin dan dibiarkan bereaksi pada suhu 30°C selama 30 menit.

Blanko disiapkan dengan cara yang sama, yaitu 1 ml supernatan ditambah larutan HCl 4% dalam metanol. Absorbansi sampel dan blanko diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Selisih keduanya merupakan absorbansi tanin.

Kadar tanin sampel dihitung dengan menggunakan kurva standar D-katekin yang diperoleh dengan cara mereaksikan larutan katekin standar dengan pereaksi vanilin sesuai prosedur di atas. Kadar sampel tanin sampel dihitung dalam mg katekin/g berat kering sampel.

j. Penetapan Aktifitas Antitripsin (Kakade et al., 1974)

Metode ini didasarkan atas penghambatan hidrolisa substrat sintesis BAPNA (benzoil-DL-arginin-p-nitroanilid) oleh enzim tripsin karena adanya anti-tripsin.

Pereaksi yang digunakan untuk analisa :

1. Buffer tris-HCl 0.05 M pH 8.2 mengandung 0.02 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 900 ml air destilata. kemudian pH larutan ditepatkan menjadi 8.2 dengan menambah HCl dan larutan ditepatkan volumenya menjadi 1000 ml dengan air destilata.
2. Larutan BAPNA (benzoil-DL-arginin-p-nitroanilid) Sebanyak 40 mg BAPNA dilarutkan dalam 1 ml DMSO (dimetil sulfoksida). Kemudian diencerkan sampai

1000 ml dengan menambah buffer tris yang bersuhu 37°C . Larutan BAPNA dibuat setiap akan digunakan dan selalu disimpan pada penangas air suhu 37°C selama digunakan.

3. Larutan tripsin

Sebanyak 4 mg tripsin (merek Sigma no.7 8128 EC 3.4.21.4 dengan aktifitas 1600 BAEE unit/mg protein) dilarutkan dalam 200 ml HCl 0.01 M. Larutan ini dapat disimpan dalam refrigerator selama 2-3 minggu tanpa kehilangan aktifitasnya.

Satu gram sampel (lolos ayakan 60 mesh) disuspensikan dalam 50 ml larutan NaOH 0.01 N kemudian di-shaker selama 3 jam pada suhu ruang. Suspensi kemudian disentrifusa pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit pada suhu 5°C dan supernatannya dipisahkan. Ekstrak yang diperoleh kemudian diencerkan dengan air destilata sehingga 1 ml ekstrak akan menghasilkan daya penghambatan sekitar 40-60% aktifitas enzim tripsin yang digunakan.

Sejumlah ekstrak (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 dan 1.0 ml) dipipet ke dalam tabung reaksi. Air destilata dimasukkan ke masing-masing tabung reaksi sehingga volumenya menjadi 2 ml. Kemudian ditambahkan 2.0 ml larutan tripsin ke dalam masing-masing tabung reaksi dan dikocok cepat dengan menggunakan vortex. Bila

larutan jernih pengukuran pada spektrofotometer dapat langsung dikerjakan, apabila keruh dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 10 menit dan supernatannya diambil. Absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 410 nm.

Perhitungan :

Satu satuan tripsin (*Trypsin Unit*, TU) didefinisikan sebagai peningkatan 0.01 satuan absorbansi pada 410 nm per 10 ml campuran reaksi pada kondisi yang digunakan. Aktifitas antitripsin dinyatakan sebagai satuan tripsin yang dihambat (*Trypsin Unit Inhibited*, TUI).



IV. PEMBAHASAN

A. NILAI GIZI

Nilai gizi tepung kacang hijau yang dianalisa pada penelitian ini meliputi abu, kalsium, fosfor, protein, metionin dan daya cerna protein *in vitro*. Nilai gizi biji kacang hijau utuh dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Nilai gizi biji kacang hijau utuh berdasarkan berat kering

Komponen	
Abu	4.26%
Kalsium	93.13 mg/100g
Fosfor	238.28 mg/100g
Protein	25.64%
Daya cerna protein <i>in vitro</i>	65.06%
Metionin	286 mg/100g protein

1. Kadar Abu

Kadar abu kacang hijau utuh (4.26% bk) lebih tinggi dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit (3.63%). Hal ini berhubungan dengan distribusi mineral di dalam biji kacang hijau. Menurut Kay (1979), kacang hijau mempunyai kulit biji sekitar 12% dari seluruh biji utuh dan mengandung mineral yang lebih tinggi dibandingkan kotiledon.

Tepung dengan perlakuan perkecambahan 9 dan 12 jam serta penyangraian 5 menit mempunyai kadar abu tertinggi yaitu sebesar 3.79%, 3.82% dan 3.90%. Sedangkan tepung dengan perlakuan perebusan 20 menit mempunyai kadar abu terendah yaitu sebesar 3.04%. Tepung kacang hijau yang paling baik adalah tepung dengan kadar abu terendah.

Perlakuan perkecambahan 3 jam menyebabkan sedikit penurunan kadar abu tepung kacang hijau dibandingkan tepung dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Hal ini disebabkan oleh faktor perendaman selama 12 jam sebelum perkecambahan menyebabkan larutnya mineral ke dalam air perendam. Kumar et al. (1978) menyatakan bahwa pada perendaman terjadi penurunan kadar mineral karena terjadi difusi mineral ke dalam air.

Perkecambahan lebih lanjut menyebabkan peningkatan kadar abu tepung kacang hijau. Peningkatan kadar abu ini disebabkan oleh berkurangnya bahan kering. Menurut Winarno (1980), selama perkecambahan terjadi pelepasan gula. Menurut Sadjad (1974), pada perkecambahan terjadi perombakan pati, dimana hasil perombakan tersebut ditranslokasikan ke titik-titik tumbuh dari embrio dan sebagian langsung digunakan untuk respirasi. Pada proses respirasi maltosa hasil perombakan pati dipe-

cah menjadi glukosa. Glukosa pada respirasi aerobik dirombak melalui proses glikolisis, siklus Krebs dan oksidasi terminal menjadi CO_2 dan H_2O . Semakin lama waktu perkecambahan, semakin banyak kehilangan berat kering sehingga kadar abu tepung semakin tinggi.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan mempunyai kadar abu yang lebih rendah dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Penurunan kadar abu selama perebusan disebabkan difusi mineral ke dalam air perebus. Difusi ini dipercepat oleh suhu yang tinggi selama perebusan.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit mempunyai kadar abu yang lebih tinggi dibandingkan tepung dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Peningkatan kadar abu ini diduga disebabkan oleh hilangnya berat kering selama penyangraian. Pemanasan dengan menggunakan panas kering dan suhu tinggi menyebabkan menguapnya komponen-komponen volatil dan mengurangi berat kering kacang hijau. Menurut Triantarti (1989), perlakuan perendaman dan perebusan pada kacang gude menyebabkan pengupasan kulit yang lebih baik dibandingkan perlakuan penyangraian sehingga menyebabkan terkikisnya bagian kulit yang banyak mengandung mineral. Keadaan yang sama diduga terjadi pada

penyangraian kacang hijau yang menyebabkan kadar abu tepung dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit ini lebih tinggi dibandingkan perlakuan perebusan dan perkecambahan.

Hasil analisa sidik ragam (lampiran 1) menunjukkan bahwa cara pembuatan tepung kacang hijau berpengaruh terhadap kadar abu tepung secara nyata pada taraf 0.01. Tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 3 jam tidak berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit (tabel 6). Keadaan ini disebabkan pada perlakuan perkecambahan 3 jam, kehilangan kadar abu karena perendaman belum diimbangi oleh penurunan berat kering karena perkecambahan. Perlakuan perkecambahan selama 6, 9 dan 12 jam menunjukkan kadar abu yang tidak berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Kehilangan mineral karena perendaman 12 jam diimbangi oleh kehilangan berat kering karena perkecambahan sehingga kadar abu tepung tidak berbeda nyata.

Perlakuan perebusan menunjukkan kadar abu tepung kacang hijau yang berbeda nyata dengan tepung dengan perlakuan penyangraian 0 menit kecuali perlakuan perebusan 25 menit menunjukkan beda yang nyata. Difusi mineral pada air perebus mengakibatkan penurunan kadar abu yang cukup besar.

Tabel 6. Hasil uji jarak berganda Duncan kadar abu

Perlakuan	Rata-rata (%bk)	Taraf 0.01
Perkecambahan 3 jam	3.55	cde
Perkecambahan 6 jam	3.70	bc
Perkecambahan 9 jam	3.79	ab
Perkecambahan 12 jam	3.82	ab
Perebusan 10 menit	3.41	e
Perebusan 15 menit	3.38	e
Perebusan 20 menit	3.04	f
Perebusan 25 menit	3.43	de
Penyangraian 0 menit	3.63	bcd
Penyangraian 5 menit	3.90	a
Penyangraian 10 menit	3.73	bc
Penyangraian 15 menit	3.73	bc
Penyangraian 20 menit	3.73	bc
Koefisien keragaman	2.44%	

Nilai rata-rata yang diikuti huruf pada kolom yang sama tidak beda nyata pada uji Duncan 0.01

Kadar abu tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 10, 15 dan 20 menit tidak menunjukkan perbedaan yang nyata dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit, sedangkan perlakuan penyangraian 5 menit menunjukkan beda yang nyata.

Penyangraian 5 menit diduga belum cukup untuk membuat kulit biji menjadi retak untuk memudahkan penyosohan. Keadaan ini menyebabkan tidak sempurnanya penyosohan sehingga kulit biji masih banyak terdapat pada tepung dan meningkatkan kadar abu.

2. Kadar Kalsium

Kadar kalsium yang lebih tinggi pada biji utuh dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit menunjukkan bahwa kalsium lebih tinggi konsentrasinya pada kulit biji dibandingkan kotiledon. Menurut Pfeffer (1872) yang dikutip oleh Graf (1983), asam fitat pada butir-butir aleuron berada dalam bentuk garam-garam kalsium dan magnesium. Konsentrasi garam-garam tersebut sekitar 1-6% dari berat sereal dan kacang-kacangan.

Tepung dengan perlakuan perkecambahan menunjukkan kadar kalsium yang lebih tinggi dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Perendaman yang dilakukan sebelum perkecambahan mengakibatkan penurunan berat kering. Menurut Thia Goan Loo (1973) yang dikutip oleh Triantarti (1989), perendaman biji kedelai di dalam air selama 6, 8, 12 dan 24 jam menyebabkan kehilangan berat kering sebesar 1.07%, 2.60%, 3.17% dan 4.3%. Selama perkecambahan terjadi kehilangan berat kering. Diduga kedua keadaan tersebut menyebabkan kadar kalsium tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan lebih tinggi dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit.

Menurut Winarno (1980), beberapa mineral seperti kalsium dan besi dilepas menjadi bentuk yang lebih bebas. Menurut Dalling dan Bhala (1984) hormon giberelin turut membantu embrio untuk melepaskan ikatan kation kalium, kalsium dan magnesium selama perkecambahan. Pelepasan ikatan kation ini menstimulasi degradasi fitin secara *in situ*. Lepasnya ikatan kalsium dari bentuk-bentuk garamnya selama perkecambahan menyebabkan kalsium lebih mudah dicerna oleh sistem pencernaan.

Menurut Kylen dan McReady (1985), kandungan mineral pada perkecambahan kacang hijau relatif konstan kecuali pada kalsium terjadi peningkatan karena diserapnya kalsium dari cairan perendam. Pada penelitian ini perkecambahan dilakukan dengan melakukan perendaman terlebih dahulu selama 12 jam dengan air deionisasi, sehingga penyerapan kalsium dari air perendam tidak terjadi. Peningkatan kalsium tepung kacang hijau diduga hanya disebabkan oleh kehilangan berat kering karena perendaman dan perkecambahan.

Penurunan kadar kalsium karena perebusan diduga disebabkan oleh terjadinya migrasi kalsium ke dalam air perebus. Menurut Ekpenyong dan Brochers (1978) perebusan dapat mengakibatkan pengurangan bahan-bahan padatan terlarut. Menurut Kumar et al. (1978). Pengurangan kadar kalsium terjadi pada

kacang-kacangan sebagai akibat perebusan. Ada kemungkinan selama perebusan terjadi reaksi dimana kalsium yang terkonsentrasi pada sel-sel parenkima bermigrasi ke dalam sel membentuk kompleks dengan ion fitat. Lebih lanjut permeabilitas dinding sel akan berubah karena adanya ion Mg^{2+} dan Ca^{2+} . Garam-garam kalsium yang lebih larut terbentuk pada perubahan ini dan bermigrasi ke dalam air perebus.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 5 dan 10 menit mempunyai kadar kalsium yang lebih rendah dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Penurunan kadar kalsium ini diduga disebabkan oleh hilangnya sebagian kalsium akibat penyosohan. Kehilangan kalsium ini belum diimbangi oleh kehilangan berat kering karena penyangraian sehingga kadar kalsium lebih rendah dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Sedangkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 15 dan 20 menit menunjukkan kadar kalsium yang lebih tinggi dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit.

Menurut Ekpenyong dan Brochers (1980), kalsium dan besi pada kacang kecipir relatif stabil karena pemasakan lama (kacang direndam 5 menit dan dimasak

15 jam) maupun pemasakan cepat (kacang direndam 5 menit dan dimasak 30 menit).

Perkecambahan walaupun meningkatkan kadar kalsium tepung kacang hijau tetapi tidak menunjukkan beda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit (tabel 7). Keadaan ini menunjukkan bahwa penurunan berat kering selama perkecambahan yang dilakukan belum cukup mempengaruhi kadar kalsium.

Tabel 7. Hasil uji jarak berganda Duncan kadar kalsium

Perlakuan	Rata-rata (mg/100g bk)	Taraf 0.01
Perkecambahan 3 jam	60.85	abc
Perkecambahan 6 jam	63.79	ab
Perkecambahan 9 jam	68.72	ab
Perkecambahan 12 jam	73.49	a
Perebusan 10 menit	64.76	ab
Perebusan 15 menit	55.84	abc
Perebusan 20 menit	54.68	abc
Perebusan 25 menit	53.49	abc
Penyangraian 0 menit	59.66	ab
Penyangraian 5 menit	39.12	c
Penyangraian 10 menit	46.88	bc
Penyangraian 15 menit	64.48	ab
Penyangraian 20 menit	62.34	ab
Koefisien keragaman	14.14%	

Nilai rata-rata yang diikuti huruf pada kolom yang sama tidak beda nyata pada uji Duncan 0.01

Perlakuan perebusan menunjukkan penurunan kadar kalsium tepung kacang hijau tetapi tidak menunjukkan beda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perla-

kuan penyangraian 0 menit. Tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 10, 15 dan 20 menit menunjukkan kadar kalsium yang tidak beda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit sedangkan tepung dengan perlakuan penyangraian 5 menit yang merupakan tepung kacang hijau dengan kadar kalsium terendah menunjukkan beda yang nyata. Keadaan ini menunjukkan bahwa kalsium cukup stabil terhadap pemanasan baik basah maupun kering.

Tepung kacang hijau yang paling baik adalah tepung dengan kadar kalsium tertinggi yaitu tepung dengan perlakuan perkecambahan 12 jam atau tepung dengan perlakuan lain yang menunjukkan beda yang tidak nyata dengan tepung perlakuan perkecambahan 12 jam.

3, Kadar Fosfor

Kadar fosfor tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit lebih tinggi dibandingkan kadar fosfor kacang hijau utuh. Diduga fosfor lebih terkonsentrasi pada kotiledon dibandingkan pada kulit biji. Menurut Dalling dan Bhalla (1984), fosfor dalam biji ada dalam bentuk asam fitat, asam nukleat, lipid dan protein. Asam fitat merupakan bentuk fosfor yang paling banyak.

Paling sedikit 80% bentuk fosfor ada dalam bentuk asam fitat pada berbagai spesies. Menurut Kumar et al. (1978) 70% bentuk fosfor utama pada kacang hijau berbentuk asam fitat.

Perlakuan perkecambahan menyebabkan peningkatan kadar fosfor dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Peningkatan kadar fosfor pada tepung dengan perlakuan perkecambahan ini diduga disebabkan pada perkecambahan terjadi kehilangan berat kering (Winarno, 1980) dan aktifnya enzim fitase (Hall dan Hodges, 1966). Menurut Dalling dan Bhalla (1984), pada biji jagung yang berkecambah peningkatan aktifitas fitase terdeteksi setelah imbibisi selama 24 jam. Perlakuan perendaman sebelum perkecambahan juga menyebabkan kehilangan berat kering (Kumar et al., 1978) yang menyebabkan kadar fosfor meningkat.

Menurut Tabekhia dan Luh (1980), perendaman kacang-kacangan selama 12 jam mengakibatkan sedikit penurunan asam fitat. Pada perendaman kacang hijau sebelum perkecambahan, diduga terjadi juga migrasi fitat ke dalam air perendam. Kumar et al. ((1978) menyatakan bahwa asam fitat pada kacang-kacangan sebagian besar larut air.

Penurunan fosfor-fitin yang mengakibatkan penurunan fosfor terjadi pada awal perkecambahan

(Kumar et al., 1978). Tetapi penurunan fosfor akibat perendaman ini diimbangi oleh penurunan berat kering sehingga total fosfor tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan meningkat.

Enzim fitase menjadi aktif selama perkecambahan. Aktifitas fitase menyebabkan asam fitat terhidrolisa menjadi inositol fosfat, inositol dan ortofosfat (Tabekhia dan Luh, 1980). Hidrolisa ini meningkatkan nilai gizi tepung kacang hijau karena fosfor dan inositol dapat diserap oleh tubuh. Walaupun peningkatan fosfor dalam tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan ini sedikit terjadi, tetapi fosfor ada dalam bentuk yang lebih tersedia sebagai zat gizi bagi manusia.

Perlakuan perebusan menyebabkan penurunan kadar fosfor kacang hijau. Diduga penurunan fosfor disebabkan terjadinya migrasi bentuk-bentuk fosfor pada biji kacang hijau ke dalam air perebus. Menurut Kumar et al. (1978) perebusan mengakibatkan penurunan mineral karena larut dalam air. Penurunan kadar fosfor disebabkan oleh larutnya sumber fosfor terbesar dalam biji kacang hijau yaitu asam fitat ke dalam air perebus. Lolos dan Markakis (1975) menyatakan bahwa 99.6% dari total asam fitat pada kacang-kacangan ada dalam bentuk larut air.

Menurut Ekpenyong dan Brochers (1980), fosfor pada kacang kecipir mengalami penurunan dengan pemasakan lama (perendaman 18 jam dan pemasakan 15 jam) maupun dengan pemasakan cepat (perendaman 5 menit dan pemasakan 30 menit).

Perlakuan penyangraian menyebabkan penurunan kadar fosfor tepung kacang hijau. Kemungkinan besar penurunan ini disebabkan terjadinya perubahan-perubahan bentuk fosfor menjadi bentuk lebih kompleks karena pemanasan selama penyangraian.

Pemanasan kemungkinan mengubah fosfor dalam bentuk pirofosfat dan metafosfat menjadi bentuk-bentuk kompleks lain. Analisa fosfor yang dilakukan didasarkan pada prinsip perubahan pirofosfat dan metafosfat menjadi ortofosfat. Ortofosfat ini direaksikan dengan asam molibdat dan asam vanadat dan membentuk kompleks asam vanadimolibdifosfat yang berwarna kuning oranye dan diukur intensitas warnanya pada panjang gelombang 400 nm.

Cara pembuatan tepung mempengaruhi kadar fosfor tepung kacang hijau secara nyata (lampiran 3). Berdasarkan uji jarak berganda Duncan (tabel 8), cara pembuatan tepung mengakibatkan kadar fosfor yang tidak berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit, kecuali pada penyangraian 10, 15 dan 20 menit. Keadaan ini

Tabel 8. Hasil uji jarak berganda Duncan kadar fosfor

Perlakuan	Rata-rata (mg/100g bk)	Taraf 0.01
Perkecambahan 3 jam	245.86	ab
Perkecambahan 6 jam	250.37	ab
Perkecambahan 9 jam	257.16	a
Perkecambahan 12 jam	242.03	ab
Perebusan 10 menit	249.30	ab
Perebusan 15 menit	248.39	ab
Perebusan 20 menit	238.06	ab
Perebusan 25 menit	232.00	b
Penyangraian 0 menit	241.00	ab
Penyangraian 5 menit	234.34	ab
Penyangraian 10 menit	196.88	c
Penyangraian 15 menit	192.62	c
Penyangraian 20 menit	191.44	c
Koefisien keragaman	4.01%	

Nilai rata-rata yang diikuti huruf pada kolom yang sama tidak beda nyata pada uji Duncan 0.01

menunjukkan bahwa pemanasan kering selama penyangraian memungkinkan berubahnya bentuk-bentuk fosfor dalam tepung kacang hijau.

Tepung kacang hijau yang paling baik adalah tepung kacang hijau dengan kadar fosfor tertinggi yaitu tepung dengan perlakuan perkecambahan 9 jam atau tepung kacang hijau dengan perlakuan lain yang menunjukkan kadar fosfor yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan perkecambahan 9 jam.

4. Kadar Protein

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan mengandung kadar protein yang lebih tinggi dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Berdasarkan uji jarak berganda Duncan (tabel 9), kadar protein tepung dengan perlakuan perkecambahan berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi kadar protein selama perkecambahan. Perlakuan perendaman selama 12 jam mengakibatkan larutnya sebagian protein dan nitrogen non protein. Menurut Ekpenyong dan Brochers (1980), perendaman dapat mengakibatkan kehilangan bahan padatan terlarut sehingga dapat meningkatkan kadar proteinnya.

Selama perendaman terjadi aktifitas hidrolitik yang mengubah bahan-bahan tidak larut mejadi bahan-bahan yang larut. Peningkatan jumlah bahan-bahan yang larut ini menyebabkan lebih banyak lagi penurunan berat kering karena perendaman. Menurut Pranoto et al. (1990), hormon giberelin menjadi aktif setelah air mengimbibisi biji. Hormon ini mendorong pembentukan enzim-enzim hidrolitik. Aktifnya enzim-enzim hidrolitik menyebabkan terjadi

nya hidrolisa senyawa-senyawa tidak larut menjadi senyawa-senyawa larut.

Perlakuan perkecambahan turut mempengaruhi kadar protein tepung kacang hijau. Menurut Pranoto et al. (1990), selama perkecambahan terjadi penurunan berat kering pada kotiledon. Menurut Winarno (1980), penurunan berat kering disebabkan lepasnya gula selama perendaman dan perkecambahan.

Analisa protein yang dilakukan pada penelitian ini adalah metode Kjeldahl (AOAC, 1984) yang mengkonversi nitrogen menjadi amoniak. Dengan metode analisa ini seluruh total nitrogen pada bahan dapat diukur.

Menurut Beevers (1968) di dalam Vanderstoep (1981), pada kacang polong selama perkecambahan terjadi penurunan nitrogen di dalam kotiledon tetapi terjadi peningkatan nitrogen pada embrio. Walaupun selama perkecambahan terjadi penurunan nitrogen pada kotiledon, tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan menunjukkan peningkatan. Menurut Pranoto et al. (1990), kacang-kacangan merupakan biji nonendosperma dimana embrio dan kotiledon merupakan satu kesatuan.

Selama perkecambahan terjadi peningkatan total non protein nitrogen dan nitrogen asam amino bebas. Dengan metode analisa yang digunakan kedua bentuk

nitrogen tersebut dapat terukur sehingga meningkatkan kadar protein. Menurut Chen dan Tacker (1978) di dalam Vanderstoep (1981) selama perkecambahan terjadi pergantian protein asam amino berdasarkan keseimbangan proses sintesa dan degradasi. Setelah perkecambahan 5 hari terjadi peningkatan total nitrogen, sedikit penurunan nitrogen protein dan peningkatan yang tajam baik total non protein nitrogen dan nitrogen asam amino bebas berdasarkan berat kering.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan menunjukkan peningkatan kadar protein diban-

Tabel 9. Hasil analisa jarak berganda Duncan kadar protein

Perlakuan	Rata-rata (% bk)	Taraf 0.01
Perkecambahan 3 jam	28.24	ab
Perkecambahan 6 jam	28.49	ab
Perkecambahan 9 jam	29.09	a
Perkecambahan 12 jam	29.23	a
Perebusan 10 menit	27.33	abc
Perebusan 15 menit	27.43	abc
Perebusan 20 menit	27.36	abc
Perebusan 25 menit	26.38	bc
Penyangraian 0 menit	25.83	c
Penyangraian 5 menit	26.75	bc
Penyangraian 10 menit	26.77	bc
Penyangraian 15 menit	26.90	bc
Penyangraian 20 menit	26.91	bc
Koefisien keragaman	3.04%	

Nilai rata-rata yang diikuti huruf pada kolom yang sama tidak beda nyata pada uji Duncan 0.01

dingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Peningkatan kandungan protein disebabkan oleh kehilangan total padatan selama perebusan yang berpengaruh meningkatkan kadar protein. Perebusan diduga mengakibatkan kehilangan protein yang tidak terlalu besar. Menurut Neucere (1972) terjadinya denaturasi protein akibat proses pemanasan menyebabkan penurunan kelarutan protein.

Berdasarkan uji jarak berganda Duncan, kadar protein tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan tidak berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit menunjukkan peningkatan kadar protein dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit ini tidak berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit berdasarkan uji jarak berganda Duncan.

Penyangraian pada dasarnya tidak mempengaruhi kadar protein. Kadar protein lebih banyak dipengaruhi oleh penyosohan. Dengan perlakuan penyangraian penyosohan lebih sempurna, sehingga kulit biji

yang mengandung protein lebih rendah sedikit yang bercampur dengan tepung.

Tepung kacang hijau yang paling baik adalah tepung kacang hijau dengan kadar protein tertinggi yaitu tepung dengan perlakuan perkecambahan 12 jam atau tepung dengan perlakuan lain yang tidak menunjukkan beda nyata dengan perlakuan perkecambahan 12 jam.

5. Kadar Metionin

Kadar metionin kacang hijau utuh yang diperoleh pada penelitian ini adalah 0.286 g/100 g protein (bk), jauh lebih rendah dibandingkan kadar metionin yang dilaporkan oleh Geervani dan Teophilus (1980) yaitu sebesar 1.39 g/100 g protein atau Thirumaran dan Seralathan (1987) yaitu sebesar 1.28 g/100 g protein. Yohe et al. (1971) di dalam Haultin et al. (1984) telah mengukur kadar metionin pada 313 varietas kacang hijau dan menemukan bahwa kadar metionin berkisar 0.55 - 1.78 g/100 g protein. Kadar metionin kacang hijau kemungkinan besar dipengaruhi oleh varietas, faktor genetik dan faktor lingkungan. Metode analisa yang digunakan turut mempengaruhi jumlah metionin yang terukur.

Cara pembuatan tepung mempengaruhi kadar metionin tepung kacang hijau secara nyata (lampiran 5). Kadar metionin tepung dengan perlakuan perke-

cambahan 3 jam merupakan tepung dengan kadar metionin tertinggi yaitu sebesar 356.67 mg/100 g protein (bk). Kadar metionin terendah diperoleh dari tepung dengan perlakuan perkecambahan 9 jam yaitu sebesar 253.67 mg/100 g protein (bk). Tepung yang paling baik adalah tepung dengan kadar metionin yang tertinggi atau tepung dengan perlakuan lain yang tidak menunjukkan beda nyata dengan tepung dengan perlakuan perkecambahan 3 jam.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 6 dan 12 jam tidak berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0

Tabel 10. Hasil uji jarak berganda Duncan kadar metionin

Perlakuan	Rata-rata (mg/100g protein bk)	Taraf 0.01
Perkecambahan 3 jam	356.67	a
Perkecambahan 6 jam	295.00	cd
Perkecambahan 9 jam	253.67	e
Perkecambahan 12 jam	332.33	abc
Perebusan 10 menit	332.67	abc
Perebusan 15 menit	315.33	bcd
Perebusan 20 menit	306.33	cd
Perebusan 25 menit	285.00	de
Penyangraian 0 menit	318.00	bcd
Penyangraian 5 menit	342.00	ab
Penyangraian 10 menit	318.67	bcd
Penyangraian 15 menit	306.00	cd
Penyangraian 20 menit	297.00	cd
Koefisien keragaman	4.66%	

Nilai rata-rata yang diikuti huruf pada kolom yang sama tidak beda nyata pada uji Duncan 0.01

menit (tabel 10). Sedangkan tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 3 dan 9 jam menunjukkan beda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Perlakuan perkecambahan selama 3 jam menyebabkan peningkatan kadar metionin tepung. Kadar metionin tepung menjadi menurun sampai perkecambahan 9 jam dan meningkat kembali pada tepung dengan perlakuan perkecambahan 12 jam. Kadar metionin tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan mengalami peningkatan dan penurunan tergantung pada waktu perkecambahan.

Peningkatan kadar metionin tepung dengan perlakuan perkecambahan 3 jam disebabkan oleh penurunan berat kering selama perkecambahan, kehilangan total padatan karena perendaman dan terjadi hidrolisa protein oleh enzim protease selama perkecambahan. Hidrolisa protein mengubah protein menjadi asam-asam amino, sehingga asam amino metionin ada dalam bentuk bebas dan lebih mudah diukur dengan metode analisa yang digunakan. Menurut Chen dan Tacker (1978) di dalam Vanderstoep (1981), selama perkecambahan terjadi pergantian protein berdasarkan keseimbangan proses sintesa dan degradasi.

Penurunan kadar metionin tepung dengan perlakuan perkecambahan 6 dan 9 jam kemungkinan disebabkan

kan terjadinya sintesa protein untuk membentuk enzim-enzim hidrolitik dari asam-asam amino. Menurut Mikola (1983) di dalam Dalling dan Bhalla (1984), ada tiga tahap proteolisis di dalam biji yang berkecambah. Tahap pertama adalah hidrolisa protein menjadi asam-asam amino yang akan digunakan untuk sintesa enzim-enzim hidrolitik yang menghidrolisa bahan-bahan tidak larut pada endosperma. Tahap kedua adalah hidrolisa cadangan protein utama untuk menyediakan asam-asam amino bagi pertumbuhan. Tahap ketiga adalah penggunaan jaringan penyimpanan.

Metionin dalam keadaan terikat pada struktur protein kemungkinan lebih sulit diukur dibandingkan bentuk bebas. Pada pengukuran metionin berdasarkan metode Lunder (1973), hidrolisa protein dilakukan oleh enzim papain. Papain merupakan enzim proteolitik grup sulfhidril (Peterson dan Johnson, 1978). Menurut Mughtadi (1989), asam-asam amino menjadi tidak tersedia bila tidak dapat dihidrolisa dari ikatan proteinnya oleh enzim-enzim proteolitik karena letaknya di dalam molekul protein sedemikian rupa sehingga terjaga secara fisik atau kimia dari serangan enzim.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 12 jam menunjukkan peningkatan kadar metionin

dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Peningkatan kadar metionin kemungkinan disebabkan oleh terjadinya hidrolisa cadangan protein oleh enzim-enzim protease yang telah disintesa.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan menunjukkan kadar metionin yang tidak berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Semakin lama waktu perebusan, Menurut Finot (1982) asam-asam amino bersulfur metionin dan sistin sangat sensitif terhadap reaksi oksidasi. Dua bentuk metionin yang teroksidasi adalah metionin sulfoksida dan metionin sulfon. Metionin sulfon bebas merupakan bentuk metionin yang tidak tersedia secara biologis, sedangkan metionin sulfoksida bebas sebagian tersedia secara biologis.

Ketersediaan asam-asam amino bersulfur dapat ditentukan secara biologis dengan tikus percobaan atau dengan analisa kimia dari protein yang dihidrolisa dengan pankreapeptida, kemudian metionin yang dibebaskan ditentukan dengan natrium nitoprusida yang tidak bereaksi dengan bentuk-bentuk teroksidasi dari metionin (Finot, 1982).

Penurunan kadar metionin selama perebusan diduga terjadi karena adanya perubahan metionin

menjadi bentuk lain. Pemanasan juga dapat mengubah bentuk metionin sehingga asam amino ini tidak tersedia secara biologis. Pieniazck et al. (1975) di dalam Finot (1982), menyatakan bahwa ketersediaan metionin pada kasein berkurang sekali karena adanya pemanasan basah dan adanya glukosa.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit tidak menunjukkan kadar metionin yang berbeda nyata dengan tepung dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Sedikit peningkatan kadar metionin pada tepung dengan perlakuan penyangraian 5 menit diduga disebabkan telah terdenaturasinya sebagian protein dan metionin belum mengalami perubahan bentuk. Denaturasi protein memudahkan hidrolisa protein, sehingga proses hidrolisa protein tepung kacang hijau oleh enzim papain pada analisa metionin lebih sempurna.

Penurunan kadar metionin ini kemungkinan disebabkan oleh berubahnya metionin menjadi metionin sulfon dan metionin sulfoksida. Menurut Pieniazck et al. (1975) di dalam Finot (1982), pemanasan kasein kering (kadar air 0.4%) pada suhu 90°C selama 24 jam mengurangi metionin tersedia sampai 25% dan pada kadar air 8% penurunan metionin tersedia menjadi 32%. Dengan adanya glukosa, penurunan metionin menjadi 32% dan 55%.

6. Daya Cerna Protein *in Vitro*

Tidak semua asam-asam amino yang dibebaskan dari protein bahan pangan dengan cara hidrolisa menggunakan asam atau alkali dapat digunakan oleh tubuh. Nilai gizi suatu protein tidak hanya tergantung pada kadar asam-asam amino esensial, tetapi juga ketersediaan asam-asam amino esensial tersebut secara fisiologis. Daya cerna menunjukkan kemampuan suatu protein untuk dihidrolisa menjadi asam-asam amino oleh enzim-enzim pencernaan.

Cara pembuatan tepung kacang hijau mempengaruhi daya cerna protein *in vitro* secara nyata (lampiran 6). Tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 12 jam menunjukkan daya cerna protein terendah yaitu sebesar 62.75%. Tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit menunjukkan daya cerna protein tertinggi yaitu sebesar 76.84%, 76.41%, 77.98% dan 77.94%. Tepung yang paling baik adalah tepung dengan daya cerna protein tertinggi.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 3 dan 6 jam menunjukkan daya cerna protein yang tidak berbeda secara nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit (tabel 11). Sedangkan tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 9 dan 12 jam menunjukkan

daya cerna protein yang berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit.

Geervani dan Teophilus (1980) telah melaporkan penurunan daya cerna protein *in vivo* dari kacang hijau yang telah dikecambahkan selama 24 jam dibandingkan kacang hijau utuh. Daya cerna protein tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan dipengaruhi secara nyata oleh lama perkecambahan.

Selama perkecambahan terjadi pergantian asam amino dan protein berdasarkan keseimbangan degradasi dan sintesa (Chen dan Tacker (1978) di dalam Vanderstoep (1981)). Menurut Mikola (1983) di dalam Dalling dan Bhalla (1984), ada tiga tahap proteolisis di dalam biji yang sedang berkecambah. Tahap pertama adalah hidrolisa protein menjadi asam-asam amino yang akan digunakan untuk sintesa enzim-enzim hidrolitik yang menghidrolisa bahan-bahan tidak larut dalam endosperma. Tahap kedua adalah hidrolisa cadangan protein utama untuk menyediakan asam-asam amino bagi pertumbuhan. Tahap ketiga adalah penggunaan jaringan penyimpanan.

Pada tahap awal perkecambahan terjadi sintesa enzim-enzim hidrolitik. Penurunan daya cerna proetein selama perkecambahan kemungkinan disebabkan karena protein yang disintesa dan berupa enzim-enzim

Tabel 11. Hasil uji jarak berganda Duncan daya cerna protein *in vitro*

Perlakuan	Rata-rata (%)	Taraf 0.01
Perkecambahan 3 jam	66.17	cd
Perkecambahan 6 jam	65.94	cd
Perkecambahan 9 jam	64.25	. de
Perkecambahan 12 jam	62.75	e
Perebusan 10 menit	66.80	c
Perebusan 15 menit	72.90	b
Perebusan 20 menit	77.51	a
Perebusan 25 menit	73.41	b
Penyangraian 0 menit	67.33	c
Penyangraian 5 menit	76.84	a
Penyangraian 10 menit	76.41	a
Penyangraian 15 menit	77.98	a
Penyangraian 20 menit	77.94	a
Koefisien keragaman	1.65%	

Nilai rata-rata yang diikuti huruf pada kolom yang sama tidak beda nyata pada uji Duncan 0.01

hidrolitik merupakan protein yang sulit dicerna oleh enzim-enzim pencernaan. Menurut Bressani dan Elias (1976), protein kacang-kacangan mengandung fraksi protein yang tahan terhadap enzim proteolitik. Lebih jauh Jaffe' dan Hanning (1965) di dalam Bressani dan Elias (1976) berhasil memurnikan beberapa protein kacang-kacangan yang tahan terhadap aktifitas papain dan pepsin.

Ternyata peningkatan kadar protein selama perkecambahan tidak menyebabkan peningkatan daya cerna protein secara *in vitro*. Walaupun pada perlakuan perkecambahan kadar protein meningkat dan kandungan antinutrisi menurun, tetapi daya cerna protein *in vitro* juga menurun.

Daya cerna protein tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan selama 10 menit tidak berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Sedangkan daya cerna protein tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan 15, 20 dan 25 menit berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Akibat perlakuan perebusan daya cerna protein tepung menjadi meningkat.

Peningkatan daya cerna protein tepung kacang hijau akibat perlakuan perebusan disebabkan oleh terjadinya denaturasi protein akibat panas. Denaturasi merupakan modifikasi terhadap struktur sekunder, tersier dan kuarterner molekul protein. Denaturasi menyebabkan protein mudah dicerna oleh enzim-enzim pencernaan. Selain itu berkurangnya asam fitat dan tanin pada perlakuan perebusan menyebabkan protein lebih mudah dicerna.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan 25 menit mempunyai daya cerna yang lebih rendah dibandingkan perlakuan perebusan 20 menit. Pemanasan yang tidak berlebih-lebihan dengan adanya gula pereduksi menyebabkan terbentuknya ikatan antara epsilon amino dari lisin dengan gula pereduksi yang tidak dapat dihidrolisa oleh enzim pencernaan (Bender, 1978). Menurut Damardjati (1983), proses pemasakan beras menjadi nasi dapat

menurunkan daya cerna protein. Mekanisme penurunan daya cerna protein ini disebabkan oleh interaksi lipid-pati-protein selama proses gelatinisasi sehingga terbentuk kompleks yang tidak dapat dicerna oleh enzim. Lama perebusan 25 menit memungkinkan terjadinya reaksi-reaksi seperti di atas yang menyebabkan penurunan daya cerna protein.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit menunjukkan daya cerna protein yang berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Penyangraian menyebabkan protein terdenaturasi sehingga daya cerna protein meningkat. Menurunnya kadar tanin karena penyangraian kemungkinan juga menyebabkan peningkatan daya cerna protein. Daya cerna protein tepung kacang hijau tidak secara nyata dipengaruhi oleh lama penyangraian.

B. KANDUNGAN ANTINUTRISI

Senyawa antinutrisi tepung kacang hijau yang diamati pada penelitian ini adalah senyawa antinutrisi yang dapat mengurangi ketersediaan protein yang meliputi tanin, asam fitat dan aktifitas antitripsin. Kandungan antinutrisi biji kacang hijau utuh dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Kandungan antinutrisi biji kacang hijau utuh berdasarkan berat kering

Komponen	
Tanin	4.35 mg/g
Asam fitat	1.74 mg/g
Aktifitas antitripsin	1.63 TUI/mg protein

1. Kadar Tanin

Cara pembuatan tepung mempengaruhi secara nyata kadar tanin tepung kacang hijau (lampiran 7). Tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 3 jam menunjukkan kadar tanin yang tertinggi yaitu sebesar 1.22 mg/g (bk). Sedangkan tepung dengan perlakuan perkecambahan 9 jam, penyangraian 15 dan 20 menit menunjukkan kadar tanin yang terendah yaitu sebesar 0.26 mg/g (bk), 0.21 mg/g (bk) dan 0.11 mg/g (bk). Tepung kacang hijau yang paling baik adalah tepung dengan kadar tanin terendah.

Kacang hijau utuh mempunyai kandungan tanin (4.35 mg/g bk) jauh lebih tinggi dibandingkan tepung dengan perlakuan penyangraian 0 menit yang disosoh (1.44 mg/g bk). Penyosohan dapat menurunkan kadar tanin kacang hijau sebesar 66.90%. Tingginya tanin pada biji utuh menunjukkan bahwa tanin terkonsentrasi pada kulit biji. Barroga et al. (1985) menyatakan

bahwa 81-85% dari tanin (sebagai polifenol yang diukur dengan metode biru Prussian) terdapat pada kulit biji kacang hijau, sedangkan 15-18% terdapat pada kotiledon.

Perlakuan perkecambahan menyebabkan penurunan kadar tanin tepung. Faktor-faktor yang menyebab-

Tabel 13. Hasil uji jarak berganda Duncan kadar tanin

Perlakuan	Rata-rata (mg/g bk)	Taraf 0.01	Penuru- nan (%)
Perkecambahan 3 jam	1.22	ab	15.28
Perkecambahan 6 jam	1.17	b	18.75
Perkecambahan 9 jam	0.26	fg	81.94
Perkecambahan 12 jam	0.58	e	59.72
Perebusan 10 menit	1.15	b	20.14
Perebusan 15 menit	1.02	bc	29.77
Perebusan 20 menit	0.68	de	52.78
Perebusan 25 menit	0.47	ef	67.36
Penyangraian 0 menit	1.44	a	
Penyangraian 5 menit	0.86	cd	40.28
Penyangraian 10 menit	0.65	de	54.86
Penyangraian 15 menit	0.21	g	85.42
Penyangraian 20 menit	0.11	g	92.36
Koefisien keragaman	13.89%		

Nilai rata-rata yang diikuti huruf pada kolom yang sama tidak beda nyata pada uji Duncan 0.01

kan penurunan tanin ini adalah perlakuan perendaman sebelum perkecambahan dan terlepasnya tanin selama perkecambahan. Menurut Barroga et al. (1985), penurunan kadar tanin dapat disebabkan oleh penurunan kemampuan tanin untuk diekstrak, tanin telah hilang atau perubahan kereaktifannya.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 3 jam menurunkan kadar tanin sebesar 15.28% dan menunjukkan kadar tanin yang tidak berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Perlakuan perkecambahan 3 jam merupakan waktu yang singkat dan belum berpengaruh terhadap kadar tanin. Faktor yang berpengaruh pada perkecambahan 3 jam ini adalah perendaman yang dilakukan sebelum perkecambahan. Perendaman mengakibatkan tanin yang larut air bermigrasi ke dalam air perendam sehingga kadarnya di dalam biji menjadi menurun.

Penurunan kadar tanin tepung kacang hijau terjadi sampai lama perkecambahan 9 jam, yaitu sebesar 18.75% pada perkecambahan 6 jam dan 81.94% pada perkecambahan 9 jam. Pada perkecambahan 12 jam kadar tanin tepung kacang hijau meningkat kembali dengan persentase penurunan sebesar 59.72%. Fenomena penurunan dan peningkatan kadar tanin kacang hijau selama perkecambahan juga telah dilaporkan oleh Barroga et al. (1985).

Penurunan kadar tanin selama perkecambahan disebabkan lepasnya tanin ke dalam substrat perkecambahan. Terbentuknya kompleks tanin-protein tidak larut dan tanin tidak reaktif turut mengurangi kadar tanin (Barroga et al., 1985).

Menurut Satwadhar et al. (1981) di dalam Barroga et al. (1985), peningkatan kadar tanin selama perkecambahan kemungkinan berhubungan dengan sintesa tanin atau polimerisasi dari senyawa fenol yang ada. Kemungkinan juga terjadi degradasi dari polimer dengan berat molekul tinggi yang tidak larut menjadi polimer dengan berat molekul lebih rendah yang bereaksi membentuk warna dengan reagent yang digunakan sehingga kadar tanin meningkat.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan menunjukkan kadar tanin yang berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Selama perebusan terjadi migrasi tanin dari biji kacang hijau ke dalam air perebus. Menurut Barroga et al. (1985), rendahnya kadar tanin yang terukur pada kacang hijau yang dimasak kemungkinan berhubungan dengan lepasnya tanin ke dalam air dan proses ini dipercepat oleh suhu yang tinggi.

Kemungkinan lain penyebab penurunan kadar tanin tepung kacang hijau karena perebusan adalah terjadinya reaksi antara tanin dengan protein sehingga tanin tidak dapat diukur. Satwadhar et al. (1981) di dalam Barroga et al. (1985) menyatakan bahwa penurunan tanin tidak berhubungan dengan

penurunan tanin yang sebenarnya tapi berhubungan dengan perubahan kelarutan dan reaktifitasnya.

Penurunan kadar tanin yang sebenarnya kemungkinan besar terjadi pada tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan. Keadaan ini ditunjukkan dengan semakin meningkatnya daya cerna protein dari tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit menunjukkan kadar tanin yang berbeda secara nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Kadar tanin tepung kacang hijau dengan lama penyangraian 5 dan 10 menit tidak menunjukkan beda nyata. Demikian pula tepung dengan perlakuan penyangraian 15 dan 20 menit.

Penurunan kadar tanin sebesar 16.67% pada kacang hijau karena penyangraian telah dilaporkan oleh Barroga et al. (1985). Barroga et al. (1985) juga menyatakan bahwa penurunan kadar tanin karena penyangraian ini kemungkinan terjadi karena adanya perubahan tanin secara kimia dan tidak dapat diukur dengan metode yang digunakan.

Perlakuan penyangraian kemungkinan besar mengubah tanin menjadi bentuk tidak reaktif yang tidak dapat berikatan dengan protein. Kemungkinan ini ditunjukkan oleh meningkatnya daya cerna pro-

tein secara *in vitro* pada tepung akibat perlakuan penyangraian.

2. Kadar Asam Fitat

Hasil analisa asam fitat menunjukkan kandungan asam fitat biji utuh kacang hijau pada penelitian ini adalah sebesar 1.74 mg/g (bk) atau 0.174%, sedangkan Tabekhia dan Luh (1980) melaporkan bahwa kadar asam fitat kacang hijau adalah sebesar 0.205%. Menurut Deshpande et al. (1982), kadar asam fitat tidak dapat dianggap absolut dan dapat bervariasi. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kadar asam fitat adalah varietas, iklim, lokasi, serta jenis tanah.

Cara pembuatan tepung kacang hijau mempengaruhi kadar asam fitat tepung secara nyata (lampiran 8). Akibat perlakuan perkecambahan, perebusan dan penyangraian terjadi penurunan dan peningkatan asam fitat.

Perlakuan perkecambahan menyebabkan penurunan kadar asam fitat yang besarnya tergantung pada lama perkecambahan. Penurunan kadar asam fitat pada tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan disebabkan oleh perlakuan perendaman sebelum perkecambahan dan aktifnya enzim fitase selama perkecambahan. Menurut Lolos dan Markakis (1977), asam

fitat kacang-kacangan dalam bentuk larut air lebih banyak daripada bentuk tidak larut.

Pelepasan asam fitat ke dalam air perendaman kemungkinan besar berhubungan dengan struktur kulit biji. Kulit biji yang tebal dan kuat lebih sulit ditembus air, sehingga proses imbibisi air berjalan lambat. Menurut Setiati (1990), kacang hijau merupakan kacang-kacangan yang mempunyai ikatan kulit-kotiledon yang kuat. Sedikitnya asam fitat yang larut karena perendaman dapat dilihat dari rendahnya penurunan asam fitat akibat perlakuan perkecambahan 3 jam dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit.

Tabel 14. Hasil uji jarak berganda Duncan kadar asam fitat

Perlakuan	Rata-rata (mg/g bk)	Taraf 0.01	%Penurunan/ Peningkatan
Perkecambahan 3 jam	1.39	bcde	5.44
Perkecambahan 6 jam	1.27	cde	13.61
Perkecambahan 9 jam	1.20	def	18.37
Perkecambahan 12 jam	1.01	f	31.21
Perebusan 10 menit	1.42	abcd	3.40
Perebusan 15 menit	1.31	cde	10.88
Perebusan 20 menit	1.14	ef	22.44
Perebusan 25 menit	1.44	abcd	2.04
Penyangraian 0 menit	1.47	abc	
Penyangraian 5 menit	1.51	abc	2.72
Penyangraian 10 menit	1.68	a	14.29
Penyangraian 15 menit	1.62	ab	10.20
Penyangraian 20 menit	1.66	a	12.93
Koefisien keragaman	7.49%		

Nilai rata-rata yang diikuti huruf pada kolom yang sama tidak beda nyata pada uji Duncan 0.01

Selama perendaman terjadi imbibisi air ke dalam biji kacang hijau. Imbibisi air mengakibatkan aktifnya enzim-enzim hidrolitik di dalam biji kacang. Fitase merupakan enzim hidrolitik yang menghidrolisa asam fitat menjadi inositol, inositol fosfat dan ortofosfat. Aktifitas fitase selama perendaman ini tidak optimum sehingga sedikit sekali asam fitat yang dihidrolisa. Keadaan ini dibuktikan dengan sedikitnya penurunan asam fitat pada tepung dengan perlakuan perkecambahan 3 jam.

Kadar asam fitat tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 3 jam tidak banyak dipengaruhi oleh perkecambahan itu sendiri karena pendeknya waktu perkecambahan. Faktor yang berperan dominan adalah perlakuan perendaman sebelum perkecambahan. Menurut Mandal et al. (1972) di dalam Tabekhia dan Luh (1980), aktifitas enzim fitase yang optimum pada kacang hijau adalah pada suhu 57°C dan pH 7.5. Sedangkan perlakuan perendaman sebelum perkecambahan dilakukan pada suhu kamar ($29-30^{\circ}\text{C}$) dan pH netral, sehingga aktifitas fitase tidak optimum.

Kadar asam fitat tepung kacang hijau menurun dengan bertambahnya waktu perkecambahan, karena enzim fitase aktif selama perkecambahan. Semakin lama waktu perkecambahan semakin banyak asam fitat yang dihidrolisa, sehingga kadar asam fitat tepung kacang hijau semakin menurun. Menurut Tabekhia dan

Luh (1980), pada kacang hijau terjadi sedikit penurunan asam fitat pada 48 jam pertama perkecambahan, tetapi penurunan lebih cepat terjadi pada periode perkecambahan 72-120 jam.

Kecepatan penurunan asam fitat selama perkecambahan dipengaruhi oleh struktur kulit biji. Struktur kulit biji mempengaruhi kemampuan air berpenetrasi ke dalam biji untuk mengaktifkan fitase. Penetrasi air semakin cepat dengan semakin tipisnya kulit biji sehingga penurunan asam fitat yang lebih besar dapat terjadi pada awal perkecambahan dibandingkan kulit biji yang lebih tebal.

Tabekhia dan Luh (1980) telah menyelidiki penurunan asam fitat yang tercepat pada empat jenis kacang-kacangan. Ternyata penurunan asam fitat yang tercepat terjadi pada *Vigna sinensis* dibandingkan kacang-kacangan yang lain, yang diduga disebabkan oleh kulit biji yang tipis dan aktifitas fitase yang lebih tinggi.

Perlakuan perebusan menyebabkan kadar asam fitat yang lebih rendah dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Penurunan kadar asam fitat tepung kacang hijau akibat perebusan disebabkan oleh larutnya asam fitat larut air ke dalam air perebus. Kelarutan asam fitat ini semakin besar akibat suhu tinggi. Chang (1977) telah meneliti pengaruh perendaman

kacang *Phaseolus vulgaris* pada berbagai suhu. Semakin tinggi suhu air perendam, kadar asam fitat kacang semakin menurun.

Penurunan asam fitat selama perebusan dipengaruhi oleh peningkatan permeabilitas dinding sel karena pemanasan. Peningkatan permeabilitas dinding sel memungkinkan asam fitat lebih mudah larut ke dalam air perebus.

Perubahan struktur dinding sel juga mempercepat reaksi enzimatik. Chang (1977) menyatakan bahwa pembekuan kacang *Phaseolus vulgaris* dan kemudian dipanaskan pada suhu 60°C serta RH jenuh mengakibatkan peningkatan hidrolisa asam fitat sebesar 20%. Peningkatan ini disebabkan oleh terbentuknya kristal-kristal es yang menyebabkan pecah atau tidak utuhnya struktur dinding sel sehingga mempercepat reaksi enzimatik.

Tepung dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit menunjukkan kadar asam fitat yang tidak berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Penyangraian tidak dapat menurunkan kadar asam fitat tepung, karena asam fitat tahan terhadap pemanasan.

Tepung yang paling baik adalah tepung kadar asam fitat paling rendah yaitu tepung dengan perlakuan perkecambahan 9 dan 12 jam dan perlakuan perebusan 20 menit.

3. Aktifitas Antitripsin

Cara pembuatan tepung kacang hijau mempengaruhi aktifitas antitripsin secara nyata (lampiran 9). Aktifitas antitripsin tertinggi ditunjukkan oleh tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan 12 jam yaitu sebesar 1.01 TUI/mg protein (bk). Sedangkan aktifitas antitripsin terendah ditunjukkan oleh tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan 25 menit yaitu sebesar 0.21 TUI/mg protein (bk). Tepung yang paling baik adalah tepung dengan aktifitas antitripsin terendah.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perkecambahan mempunyai aktifitas antitripsin yang lebih rendah dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Perkecambahan 3 jam menyebabkan penurunan aktifitas tepung kacang hijau sebesar 32.88%, perkecambahan 6 jam sebesar 34.25%, perkecambahan 9 jam sebesar 35.62% dan perkecambahan 12 jam sebesar 30.82%. Perkecambahan selama 12 jam menyebabkan peningkatan kembali aktifitas antitripsin. Fenomena yang sama telah dilaporkan oleh Gupta dan Wagle (1980) yang menyatakan bahwa penurunan aktifitas antitripsin pada kacang hijau terjadi selama 9 jam perkecambahan,

kemudian terjadi peningkatan sampai 72 jam perkecambahan dan kemudian terjadi penurunan kembali.

Menurut Gupta dan Wagle (1980), penurunan aktifitas antitripsin selama perkecambahan terjadi pada awal perkecambahan. Peningkatan aktifitas antitripsin pada perkecambahan lebih lanjut berhubungan dengan perubahan dari keadaan dorman menjadi keadaan metabolisme yang aktif. Puztai (1972) di dalam Gupta dan Wagle (1980) menyatakan bahwa fungsi utama perkecambahan kemungkinan tidak berhubungan dengan aktifitas antitripsin. Pada

Tabel 15. Hasil uji jarak berganda Duncan aktifitas antitripsin

Perlakuan	Rata-rata (TUI/mg prot)	Taraf 0.01	%Penu- runan
Perkecambahan 3 jam	0.98	b	32.88
Perkecambahan 6 jam	0.96	b	34.25
Perkecambahan 9 jam	0.94	b	35.62
Perkecambahan 12 jam	1.01	b	30.82
Perebusan 10 menit	0.66	c	54.79
Perebusan 15 menit	0.38	def	73.97
Perebusan 20 menit	0.33	ef	77.40
Perebusan 25 menit	0.21	f	85.62
Penyangraian 0 menit	1.46	a	
Penyangraian 5 menit	0.60	cd	58.90
Penyangraian 10 menit	0.47	cde	67.81
Penyangraian 15 menit	0.46	cde	68.49
Penyangraian 20 menit	0.45	cde	69.18
Koefisien keragaman	13.15%		

Nilai rata-rata yang diikuti huruf pada kolom yang sama tidak beda nyata pada uji Duncan 0.01

keadaan dewasa tanaman mensintesa antitripsin dan menyimpannya pada biji, dimana antitripsin ini kemungkinan besar mempunyai peran penting dalam mengontrol fungsi-fungsi fisiologis pada biji dalam keadaan dorman. Biji dalam keadaan dorman menunjukkan kecepatan metabolisme yang rendah.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan menunjukkan aktifitas antitripsin yang berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Perebusan selama 10 menit mengakibatkan penurunan aktifitas antitripsin sebesar 54.79%, perebusan 15 menit sebesar 73.97%, perebusan 20 menit sebesar 77.40% dan perebusan 25 menit sebesar 85.62%.

Penurunan aktifitas antitripsin karena perebusan disebabkan antitripsin yang merupakan protein terdenaturasi oleh panas selama perebusan. Protein menjadi kehilangan aktifitas biologis karena denaturasi, sehingga antitripsin kehilangan kemampuan untuk menghambat aktifitas enzim tripsin. Semakin lama perebusan aktifitas antitripsin semakin menurun.

Menurut Liener (1975), besarnya aktifitas antitripsin yang dirusak oleh panas merupakan fungsi dari suhu, lama pemanasan, kadar air dan ukuran partikel. Semakin tinggi kadar air semakin singkat

waktu yang dibutuhkan untuk menghambat aktifitas antitripsin. Pengaruh kadar air ini diduga menyebabkan aktifitas antitripsin dengan perlakuan perebusan lebih rendah dibandingkan penyangraian walaupun suhu yang digunakan lebih tinggi.

Tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit menunjukkan aktifitas antitripsin yang berbeda nyata dengan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Penyangraian selama 5 menit menyebabkan penurunan aktifitas antitripsin sebesar 58.90%, penyangraian 10 menit sebesar 67.81%, penyangraian 15 menit sebesar 68.49% dan penyangraian 20 menit sebesar 69.18%. Semakin lama penyangraian aktifitas antitripsin semakin menurun.

Penurunan aktifitas antitripsin karena penyangraian disebabkan oleh terdenaturasinya antitripsin oleh panas selama penyangraian. Antitripsin yang terdenaturasi oleh penyangraian lebih kecil dibandingkan perebusan walaupun waktu yang digunakan sama. Keadaan ini disebabkan oleh rendahnya kadar air kacang hijau pada perlakuan penyangraian dan penetrasi panas yang lebih lambat dibandingkan perebusan sehingga protein lebih sedikit terdenaturasi.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Cara pembuatan tepung pada kacang hijau mempengaruhi nilai gizi dan kandungan antinutrisinya.

Perlakuan perkecambahan menyebabkan peningkatan kadar abu tepung kacang hijau dengan bertambahnya waktu perkecambahan, peningkatan kadar kalsium dan fosfor, peningkatan kadar protein tetapi menyebabkan penurunan daya cerna protein secara *in vitro* serta penurunan dan peningkatan kadar asam amino metionin yang tergantung pada lama perkecambahan. Perlakuan perkecambahan menyebabkan penurunan kandungan antinutrisi yaitu penurunan kadar tanin, kadar asam fitat dan aktifitas anti-tripsin.

Perlakuan perebusan menyebabkan penurunan kadar abu, kalsium dan fosfor tepung kacang hijau. Perlakuan perebusan menyebabkan peningkatan kadar protein dan daya cerna protein *in vitro* dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit kecuali pada perlakuan perebusan 10 menit daya cerna protein *in vitro* sedikit lebih rendah dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit. Kadar metionin mengalami peningkatan pada perlakuan perebusan

10 menit tetapi kemudian menurun kembali pada waktu perebusan yang lebih lama. Perlakuan perebusan menyebabkan penurunan kandungan antinutrisi yaitu penurunan kadar tanin, kadar asam fitat dan aktifitas antitripsin.

Perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit menyebabkan peningkatan kadar abu tepung kacang hijau dibandingkan tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 0 menit, penurunan kadar kalsium, fosfor dan metionin dengan bertambahnya waktu penyangraian. Kadar protein dan daya cerna protein *in vitro* lebih tinggi pada tepung kacang hijau dengan perlakuan penyangraian 5, 10, 15 dan 20 menit dibandingkan tepung kacang hijau perlakuan penyangraian 0 menit. Kandungan antinutrisi tepung yaitu kadar tanin dan aktifitas antitripsin menurun karena perlakuan penyangraian tetapi kadar asam fitat relatif tetap.

Tepung kacang hijau terbaik merupakan tepung kacang hijau dengan kandungan gizi yang tinggi dan antinutrisi yang rendah, yaitu kadar kalsium, fosfor, protein, metionin dan daya cerna protein *in vitro* yang tinggi serta kadar abu, tanin, asam fitat dan aktifitas antitripsin yang rendah. Tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan 20 menit merupakan tepung terbaik yang mempunyai kadar

kalsium (54.68 mg/100g bk), kadar fosfor (238.06 mg/100g bk). kadar protein (27.36% bk) dan daya cerna protein *in vitro* (77.51%) yang tinggi serta kadar abu (3.04%), kadar asam fitat (1.14 mg/g bk) dan aktifitas antitripsin (0.33 TUI/mg protein bk) yang rendah. Tetapi tepung kacang hijau dengan perlakuan perebusan 20 menit ini mempunyai kadar tanin (0.68%) yang tinggi dan kadar metionin (306.33 mg/16g N bk) yang rendah dibandingkan tepung dengan perlakuan yang lain.

B. SARAN

Cara pembuatan tepung kacang hijau yang dilakukan pada penelitian ini biasa dilakukan pada kacang-kacangan untuk mempermudah penyosohan. Pengaruh cara pembuatan tepung terhadap kemudahan pengupas kulit, rendemen sosohan, rendemen penggilingan dan lama penyosohan perlu diteliti lebih lanjut.

Penelitian ini terbatas meneliti pengaruh cara pembuatan tepung terhadap kandungan gizi dan anti-nutrisi tepung kacang kacang hijau. Pengaruh cara pembuatan tepung terhadap sifat fisik, amilografi dan organoleptik tepung perlu diteliti lebih lanjut. Selain itu perlu juga dilakukan uji coba produk dari tepung kacang hijau yang telah mengalami perlakuan pada penepungannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Almasyhuri et al. 1990. Kandungan asam fitat dan tanin dalam kacang-kacangan yang dibuat tempe. *Penelitian Gizi dan Makanan* 13: 65-72.
- AOAC. 1984. *Official Methods of the Analysis of Association of Agricultural Chemistry*. Washington D.C.
- Artz et al. 1987. Interaction of synthetic proanthocyanidin dimer and trimer with bovine serum albumin and purified bean globulin fraction G-1. *J. Agric. Food Chem.* 35: 417-421.
- Barroga, C. F. et al. 1985. Polyphenol in mungbean (*Vigna radiata* (L) Wilezck): determination and removal. *J. opf Food Sci.* 33: 1006-1009.
- Barroga, C. F. et al. 1985. Effect of condensed tannins on the in vitro protein digestibility of mungbean (*Vigna radiata* (L) Wilezck). *J. Agric. Food Chem.* 33:1157-1159.
- Bender, A. E. 1978. *Food Processing and Nutrition*. Academic Press, London.
- Bressani, R. dan E. G. Ellias. 1976. The problem of legume protein digestibility. Di dalam J. H. Hulse, K. O. Rachie dan L. W. Billingsley (eds.). *Nutritional Standards and Methods of Evaluation for Food Legume Breeders*. ICRISAT.
- Bressani, R. et al. 1983. Tannin in common beans: methods of analysis and effects on protein quality. *J. of Food Sci.* 48: 1000-1001.
- Calderon, P., J. V. Buren dan W. B. Robinson. 1968. Factor influencing the formation of principles and hazes by gelatin and condensed tannins and hydrolyzable tannins. *J. Agric. Food Chem.* 16(3): 479.
- Chang, R. Phytate: removal from whole dry beans by enzymatic hydrolisis and diffusion. *J. of Food Sci.* 42: 1098-1101.
- Cheryan, M. Phytic acid interaction in food system. *Food Science and Nutrition* 13: 297-335.

- Dalling, H. I. dan P. L. Bhalla. 1984. Mobilization of nitrogen and phosphorus from endosperma. Di dalam D. R. Murray (ed.). Seed Physiology: Germination and Reserve Mobilization. Academic Press, Sidney.
- Damardjati, D. S. 1983. Physical and Chemical Properties and Protein Characteristics of Some Indonesian Varieties. PhD Thesis. Graduate School, Bogor Agricultural University, Bogor.
- Deshpande, S. S. et al. 1982. Effect of dehulling on phytic acid, poliphenol and enzyme inhibition of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J. of Food Sci. 47: 1846-1850.
- Djuwadi, H. I., B. S. L. Jenie dan A. Apriyantono. 1987. Kompleks protein-tanin: teori dan implikasinya dalam makanan. Media Teknologi Pangan 3(4): 47-56.
- Erdman, Jr. J. W. 1979. Oilseed phytates: nutritional implication. J. Am. oil Chem. Soc. 56: 736-741.
- Ehiwe, A. O. F. dan R. D. Reichert. 1987. Variability in dehulling quality of cowpea, pigeonpea and mungbean cultivars determined with the tangential abrasive dehulling device. Cereal Chem. : 64(2) : 86-91.
- Ekpenyong, T. E. dan Borchers. 1980. Effect of cooking on the chemical composition of winged beans (*Phosphocarpus tetragonolobus*). J. of Food Sci. 45(6): 1559-1565.
- Finkenstadt, W. R. dan Laskowsky Jr. 1967. Resynthesis by trypsin of the cleaved peptide bond in modified soy bean inhibitor. J. Biol. Chem. 242:771.
- Finot, F. A. 1982. Nutritional and metabolic aspects of protein modification during food processing. Di dalam R. E. Feeney dan J. R. Whitaker (eds.). Modification of Proteins: Food, Nutritional, and Pharmacological Aspects. American Chemical Society, Washington D.C.
- Geervani, P. dan F. Teophilus. 1980. Effect of home processing and the protein quality of selected legumes. J. of Food Sci. 45: 707-710.

- Goldstein, J. L. dan T. Swain. 1965. The inhibition of enzyme by tannin. *J. Phytochem.* 4: 185.
- Graft, E. 1983. Calcium binding to phytic acid. *J. of Food Sci.* 31: 851-855.
- Green, G. M. dan R. L. Lyman. 1972. Feedback regulation of pancreatic enzyme secretion as mechanism for trypsin inhibitor - induced hypersecretion in rats. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 140:4
- Gupta, K. dan D. S. Wagle. 1980. Changes in antinutritional factors during germination in *Phaseolus mungoreus*, a cross between *Phaseolus mungo* and *Phaseolus aureus*. *J. of Food Sci.* 43: 394-397.
- Gustavson, K. H. 1954. Interaction of vegetable tannins with poliphenol as proof of the dominant function on the peptide bond of collagen for its binding on tannin. *J. Polymer Sci.* 42:1566.
- Hall, J. R. dan T. Hodges. 1966. Phosphorus metabolism of germinating oats seed. *Plant Physiol.* 41:1459-1464.
- Hawtin, O. C., K. O. Rachie dan J. M. Green. 1976. Breeding strategy for the nutritional improvement of pulses. Di dalam J. H. Hulse, K. O. Rachie dan L. W. Billingsley (eds). *Nutritional Standards and Methods of Evaluation for Food Legume Breeders.* ICRISAT.
- James. W. O. 1973. *An Introduction to Plant Physiology.* Oxford University Press, Oxford.
- Jansen, G. R. et al. 1978. Nutritional evaluation of fullfat soy flour produced by dry heat roasting. *J. of Food Sci.* 43: 1350-1351.
- Kay, D. E. 1979. *Food Legumes.* Tropical Products Institute, London.
- Kakade. M. L. et al. 1969. An evaluation of natural vs synthesis substrates for measuring the anti-tryptic activity of soy bean sample. *Cereal Chem.* 46: 518-526.
- Khan, N. R. dan Ghafoor. 1978. The effect of soaking, germination and cooking on the protein quality of mask bean (*Phaseolus mungo*). *J. Sci, Food Agric.* 29: 461-464.

- Khan, N. R., R. Zaman dan M. Elahi. 1986. Effect of processing on the phytic acid content of wheat products. *J. Agric. Food Chem.* 34:1010-1012.
- Kumar, K. G. et al. 1978. Cooking characteristics of some germinated legumes: changes in phytins, Ca^{++} , Mg^{++} and pectins. *J. of Food Sci.* 43: 85-88.
- Laurena, A. C., T. V. Den dan E. M. T. Mendoza, 1984. Effects of condensed tannins on the in vitro protein digestibility of cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp). *J. Agric. Food Chem.* 32: 1045-1048.
- Liener, I. E. 1969. Toxic Constituent of Plant Foodstuff. Academic Press, New York.
- Liener, I. E. dan M. L. Kakade. 1969. Protease inhibitors. Di dalam I. E. Liener (ed.). Toxic Constituent of Plant Foodstuff. Academic Press, New York.
- Liener, I. E. 1976. Legume toxins in relation to protein digestibility. A review. *J. of Food Sci.* 41: 1076.
- Liener, I. E. 1977. Remove of naturally occurring toxicants through enzymatic processing. Di dalam R. E. Feeney dan J. R. Whitaker (eds.). Food Proteins Improvement through Chemical and Enzymatic Modification. *Adv. Chem. Series No. 160 Am. Chem. Soc., Washington D. C.*
- Liener, I. E. 1979. The nutritional significance of plant protease inhibitors. *Proc. Nutr. Soc.* 38:109.
- Lyman, R. L. dan S. Lepovsky. 1957. The effect of raw soy bean meal and trypsin inhibitor diets on pancreatic enzyme secretion in the rat. *J. Nutr.* 62:269.
- Lolas, G. dan P. Markakis. 1977. The phytase of navy beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. of Food Sci.* 42(4): 1094-1098.
- Marzuki, A. R. 1974. Bercocok Tanam Kacang Hijau. Lembaga Pusat Penelitian, Bogor.
- Marzuki, A. R. 1977. Pengenalan Varietas Kacang Hijau. Lembaga Pusat Penelitian, Bogor.

- Muchtadi, D. 1987. Antitripsin dalam hubungannya dengan nilai gizi kedelai untuk konsumsi manusia. *Media Teknologi Pangan* 2(1): 1-9.
- Muchtadi, D. 1989. *Petunjuk Laboratorium: Evaluasi Nilai Gizi Pangan*. Pusat Antar Universitas, IPB, Bogor.
- Neucere, N. J. 1972. Effect of heat on peanut protein. II variations in nutrition quality of the meals. *J. Agric. Food Chem.* 20(2): 252-255.
- Oh et al. 1980. Hydrophobic interaction in tannin protein-complexes. *J. Agric. Food Chem.* 28(2): 394.
- Park, H. G. 1976. Review of mungbean research program at AVDRC. AVDRC Seminar on May 27, 1976.
- Payumo, E. M. 1978. The potentials of mngbean as a potein spplement for cild feeding. Di dalam *The 1st International Mungbean Symposium*, UNIDO.
- Pranoto, H. S. et al. 1990. *Biologi Benih*. Pusat Antar Universitas, IPB, Bogor.
- Price, M. L. et al. 1980. Tannin cotent of cowpea, chickpea, pigeonepea and mungbean. *J. Agric. Food Chem.* 28: 459-461.
- Peterson, M. S. dan A. H. Johnson. 1978. *Encyclopedia of Food Science*. The AVI Publishing Company Inc., Westport-Connecticut.
- Rackis, J. J. et al. 1959. Chromatography of soybean proteins. I. fraction of whey proteins on diethylaminoethylcellulose. *J. Am. Chem. Soc.* 81: 6265.
- Rackis, J. J. dan M. R. Gumbman. 1980. Protease inhibitors: physiological properties and nutritional significance. Di dalam R. L. Ory (ed.). *Antinutrient and Nature Toxicant in Food*. Food and Nutrition Press Inc., Westport-Connecticut.
- Ribereau-Gayon. 1974. The Chemistry of red wine color. Di dalam A. D. Webb (ed.). *Chemistry of Wine Making*. Am. Chem. Soc., Washington D. C.
- Rosario, D. R. R. dan D. M. Flores. 1981. Functional properties of four types of mungbean Flous. *J. Sci. Food Agric.* 32: 175-180.

- Sadjad, S. 1974. Dasar-dasar Teknologi Benih. Capita Selecta, Dept. Agronomi-IPB, Bogor.
- Salunkhe, D. K. et al. 1985. Postharvest Biotechnology of Food Legumes. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida.
- Sastrapraja et al. 1979. Prospek pengembangan sumber pangan Indonesia dan masalahnya. Di dalam Widya-karya Nasional Pangan dan Gizi. Buku II, LIPI.
- Schanderl, S. H. 1978. Tannins. Di dalam M. S. Peterson dan A. J. Johnson (eds.). Encyclopedia of Food Science. The AVI Publishing Company, Inc., Westport-Connecticut.
- Setiati, K. D. 1990. Pengaruh Cara Perendaman sebagai Perlakuan Prapengolahan terhadap Nilai Gizi dan Sifat Fisik Tepung Kacang Hijau (*Phaseolus aureus*). Skripsi S₁. Jurusan Pengolahan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, UGM, Yogyakarta.
- Singh, V. P. et al. 1987. Production and utilization of mungbean in India. Di dalam Mungbean: Proceeding of the Second International Symposium. Bangkok 16-20 Nopember 1987.
- Suprpto dan Sutarman. 1990. Bercocok Tanam Kacang Hijau. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Sunaryo, E. 1985. Pengolahan Produk Serealia dan Biji-bijian. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta, IPB, Bogor.
- Tabekhia, M. M. dan B. S. Luh. 1980. Effects of germination, cooking and canning on phosphorus and phytate retention in dry beans. J. of Food Sci. 45: 406-408.
- Tabor et al. 1987. Supply and Demand for Food Crops in Indonesia. Ministry of Agriculture, Jakarta.
- Thirumaran, A. S. dan M. A. Seralathan. 1987. Utilization of mungbean. Di dalam Mungbean: Proceeding of the Second International Symposium. Bangkok 16-20 Nopember 1987.
- Thompson, L. U. 1976. Preparation of mungbean flour and application in bread making. J. Food Sci. Tech. 9:1.

Thompson, L. U. dan M. R. Serraino. 1986. Effect of phytic acid reduction on rapeseed protein digestibility and amino acid absorption. *J. Agric. Food Chem.* 34: 468-469.

Triantarti. 1989. Pengaruh Perlakuan Pendahuluan untuk Memudahkan Pengupasan Kulit Kacang Gude (*Cajanus cajan*) terhadap Tepung yang Dihasilkan. Skripsi S₁. Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta, IPB, Bogor.

Wilson, et al. 1985. Bowman-Birk proteinase isoinhibitor complements of soybeans strains. *J. Agric. Food Chem.* 33: 389-393.

Winarno, F. G. 1980. Meneropong Nilai Gizi Tauge dan Potensinya sebagai Makanan Sapihan bagi Bayi. FTDC, IPB, Bogor.

Winarno, F. G. 1984. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia, Jakarta.

White, T. 1957. Tannins: Their occurrence and significance. *J. Sci. Food Agric.* 8(7): 377.

Vanderstoep, J. 1981. Nutrition value of germinating legume. *Food Technology*, March 1981.

Lampiran 1. Hasil analisa sidik ragam kadar abu

Sumber	db	JK	KT	Fhit	F0.01
Perlakuan	12	2.138	0.178	23.004*	2.96
Galat	26	0.201	0.008		
Total	38	2.339	0.062		

* berbeda nyata pada taraf 0.01

Lampiran 2. Hasil analisa sidik ragam kadar kalsium

Sumber	db	JK	KT	Fhit	F0.01
Perlakuan	12	2826.938	239.78	3.338*	2.96
Galat	26	1862.313	71.627		
Total	38	4731.250	124.507		

* berbeda nyata pada taraf 0.01

Lampiran 3. Hasil analisa sidik ragam kadar fosfor

Sumber	db	JK	KT	Fhit	F0.01
Perlakuan	12	19127.500	1593.958	18.362*	2.96
Galat	26	2257.000	86.808		
Total	38	21384.500	562.750		

* berbeda nyata pada taraf 0.01

Lampiran 4. Hasil analisa sidik ragam kadar protein

Sumber	db	JK	KT	Fhit	F0.01
Perlakuan	12	38.703	3.225	4.630*	2.96
Galat	26	18.111	0.697		
Total	38	56.814	1.495		

* berbeda nyata pada taraf 0.01

Lampiran 5. Hasil analisa sidik ragam kadar metionin

Sumber	db	JK	KT	Fhit	F0.01
Perlakuan	12	24298.500	2024.875	9.536*	2.96
Galat	26	5520.750	212.337		
Total	38	29819.250	784.717		

* berbeda nyata pada taraf 0.01

Lampiran 6. Hasil analisa sidik ragam daya cerna protein

Sumber	db	JK	KT	Fhit	F0.01
Perlakuan	12	1221.875	101.823	73.411*	2.96
Galat	26	36.063	1.387		
Total	38	1257.938	33.104		

* berbeda nyata pada taraf 0.01

Lampiran 7. Hasil analisa sidik ragam kadar tanin

Sumber	db	JK	KT	Fhit	F0.01
Perlakuan	12	6.528	0.544	9.226*	2.96
Galat	26	0.287	0.011		
Total	38	6.815	0.179		

* berbeda nyata pada taraf 0.01

Lampiran 8. Hasil analisa sidik ragam kadar asam fitat

Sumber	db	JK	KT	Fhit	F0.01
Perlakuan	12	1.520	0.127	11.624*	2.96
Galat	26	0.283	0.011		
Total	38	1.204	0.047		

* berbeda nyata pada taraf 0.01

Lampiran 9. Hasil analisa sidik ragam antripsin

Sumber	db	JK	KT	Fhit	F0.01
Perlakuan	12	4.846	0.404	48.421*	2.96
Galat	26	0.217	0.008		
Total	38	5.063	0.133		

* berbeda nyata pada taraf 0.01