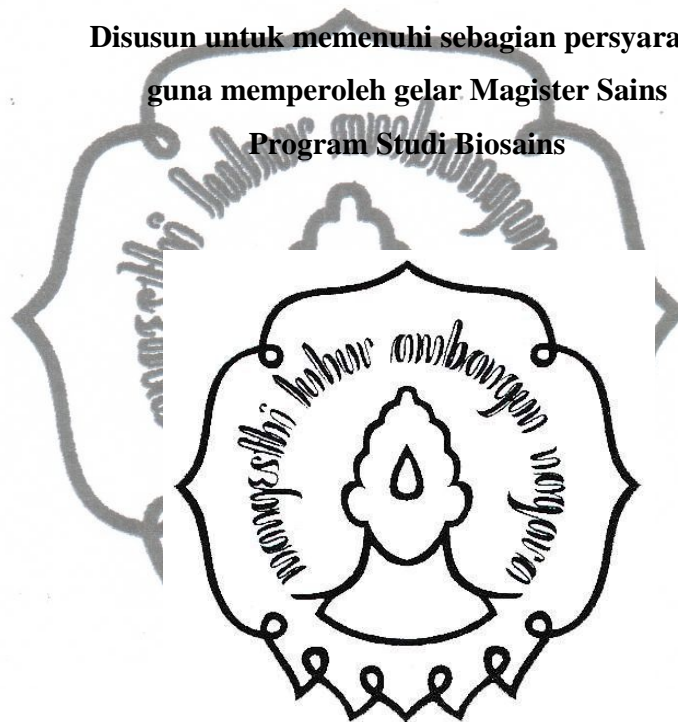


**ANALISIS KANDUNGAN ASAM LINOLEAT DAN LINOLENAT  
TAHU KEDELAI DENGAN *Rhizopus oryzae* DAN  
*Rhizopus oligosporus* SEBAGAI KOAGULAN**

**TESIS**

**Disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan  
guna memperoleh gelar Magister Sains  
Program Studi Biosains**



Oleh

**Cicik Sudaryantiningih**

**NIM: S900208004**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2009**

**ANALISIS KANDUNGAN ASAM LINOLEAT DAN LINOLENAT  
TAHU KEDELAI DENGAN *Rhizopus oryzae* DAN  
*Rhizopus oligosporus* SEBAGAI KOAGULAN**

**TESIS**

Oleh

**Cicik Sudaryantiningsih**

**S-900208004**

**Telah disetujui oleh Tim Pembimbing :**

<b>Komisi Pembimbing</b>	<b>Nama</b>	<b>Tanda Tangan</b>	<b>Tanggal</b>
<b>Pembimbing I</b>	<b>Prof.Drs. Sutarno, M.Sc.,Ph.D. NIP.131 649 948</b>	.....	<b>24 Juli 2009</b>
<b>Pembimbing II</b>	<b>Ir. Supiyani, MP, M Agr., Ph.D. NIP.132 046 020</b>	.....	<b>24 Juli 2009</b>

**Mengetahui  
Ketua Program Studi Biosains  
Program Pasca Sarjana**

**Dr. Sugiyarto, M.Si  
NIP.132 007 622**

**ANALISIS KANDUNGAN ASAM LINOLEAT DAN LINOLENAT  
TAHU KEDELAI DENGAN *Rhizopus oryzae* DAN  
*Rhizopus oligosporus* SEBAGAI KOAGULAN**

TESIS

Oleh

**Cicik Sudaryantiningsih**

**S-900208004**

Telah dipertahankan di depan penguji.  
Dinyatakan telah memenuhi syarat  
Pada tanggal.....2009

Telah disetujui oleh tim penguji

Jabatan	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Ketua	Dr. Sugiyarto, M.Si NIP.132 007 622	.....	.....
Sekretaris	Dr. Artini Pangastuti, M.Si NIP.132 257 941	.....	.....
Anggota penguji:	Prof. Drs. Sutarno, M.Sc.,Ph.D. NIP.131 649 948	.....	.....
	Ir. Supiyani, MP, M Agr., Ph.D. NIP.132 046 020	.....	.....

Mengetahui

Direktur Program Pasca Sarjana

Ketua program Studi Biosains

Prof. Drs. Suranto, M.Sc, PhD  
NIP.131 472 192

Dr. Sugiyarto, M.si  
NIP.132 007 622

## PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PUBLIKASI TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa :

1. Tesis berjudul “**Analisis Kandungan Asam Linoleat dan Linolenat Tahu Kedelai dengan *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus* sebagai Koagulan**” ini adalah karya penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila ternyata di dalam naskah tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur jiplakan, maka saya bersedia tesis beserta gelar MAGISTER saya dibatalkan serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No. 20 Tahun 2003, pasal 25 ayat 2 pasal 70).
2. Tesis ini merupakan hak milik Prodi Biosains PPs-UNS. Publikasi sebagian atau keseluruhan isi Tesis pada jurnal atau forum ilmiah lain harus seizin Ketua Prodi Biosains PPs-UNS dan minimal satu kali publikasi menyertakan tim pembimbing sebagai *author*. Apabila dalam waktu sekurang-kurangnya satu semester (6 bulan sejak pengesahan Tesis) saya tidak melakukan publikasi dari sebagian atau keseluruhan Tesis ini, maka Prodi Biosains PPs-UNS berhak mempublikasikannya pada jurnal ilmiah yang diterbitkan oleh Prodi Biosains PPs-UNS. Apabila saya melakukan pelanggaran dari ketentuan publikasi ini, maka saya bersedia mendapatkan sanksi akademik yang berlaku.

Surakarta, 25 Juli 2009  
Mahasiswa

CICIK SUDARYANTININGSIH  
S900208004

**Analisis Kandungan Asam Linoleat dan Linolenat Tahu Kedelai dengan  
*Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus* sebagai Koagulan**

**Cicik Sudaryantiningih, Supiyani, dan Sutarno  
Program Studi Magister Biosains, PPS-UNS Surakarta**

**ABSTRAK**

Asam linoleat dan linolenat adalah asam lemak tidak jenuh berantai banyak yang tergolong asam lemak esensial. Asam linoleat dan linolenat sangat penting bagi kesehatan dan tidak dapat disintesis sendiri oleh tubuh, oleh karena itu harus diperoleh dari makanan. Kacang kedelai merupakan salah satu bahan makanan yang kaya asam linoleat dan linolenat. Salah satu hasil olahan kacang kedelai yang bernilai gizi tinggi adalah tahu. Tetapi kandungan asam linoleat dan linolenat tahu tidak setinggi tempe, karena tempe dihasilkan dengan cara fermentasi oleh *Rhizopus sp*.

Penelitian ini bertujuan untuk Mengetahui potensi jamur *R. oligosporus* dan *R. oryzae* sebagai koagulan pada proses pembuatan tahu dalam meningkatkan kadar asam linoleat dan linolenat tahu dan mengetahui waktu yang diperlukan oleh *R. oligosporus* dan *R. oryzae* untuk fermentasi tahu sehingga menghasilkan asam linoleat dan linolenat yang tinggi.

Penelitian dilakukan pada bulan Juni hingga Juli 2009. Inokulasi jamur menggunakan PDA, dilakukan di Laboratorium Kimia UNS. Pembuatan tahu dilakukan di pabrik tahu DELE EMAS Surakarta. Analisis kandungan asam linoleat dan linolenat dilakukan dengan metode kromatografi gas, dan dikerjakan di LPPT-UGM Yogyakarta.

Dari hasil penelitian ini diperoleh kesimpulan *R. oryzae* dan *R. oligosporus* memiliki potensi sebagai koagulan dalam pembuatan tahu, dan waktu yang diperlukan untuk melakukan koagulasi *R. oryzae* adalah 18 jam *R. oligosporus* adalah 12 jam. Asam Linoleat dan Linolenat tertinggi diperoleh Pada 6 jam fermentasi *R. oryzae* ( 0,26% dan 0,14%), dan 24 jam fermentasi oleh *R. oligosporus* (0,14% dan 0,08%)

**Kata kunci** : asam linoleat, asam linolenat, tahu, koagulan, *Rhizopus oryzae* ,  
*Rhizopus oligosporus*

**Linoleic and Linolenic Acid Analysis of Soybean Tofu with  
*Rhizopus oryzae* and *Rhizopus oligosporus* as Coagulant**

**Cicik Sudaryantiningsih, Supiyani and Sutarno  
Program Studi Magister Biosains, PPS-UNS Surakarta**

**ABSTRACT**

The linoleic and linolenic acids are polyunsaturated fatty acid classified as an essential fatty acid. Linoleic and linolenic acids are important for building the human healthy, and cannot be produced by human body, they have to be taken from daily diet. Soya bean is one source of food that rich of Linoleic and linolenic acids one of nutritious food which is made from soybean is tofu. The amount of Linoleic and linolenic acid in tofu is not as much as tempe, because tempe is fermented by *Rhizopus sp.*

The aims of this research are to know the potency of *Rhizopus oligosporus* and *Rhizopus oryzae* as a coagulant in tofu processing for increasing the amount of Linoleic and linolenic acid, and to know the time that needed by *R. oligosporus* and *R. oryzae* for increasing amount of Linoleic and linolenic acid.

This research is done at June until July 2009. It use PDA for inoculating Fungi, and it is done at Chemistry Laboratory UNS. Making tofu is done in DELE EMAS Tofu Factory, Surakarta. Analysis of Linoleic and linolenic acids is done by Gas Chromatography, in LPPT- UGM Yogyakarta.

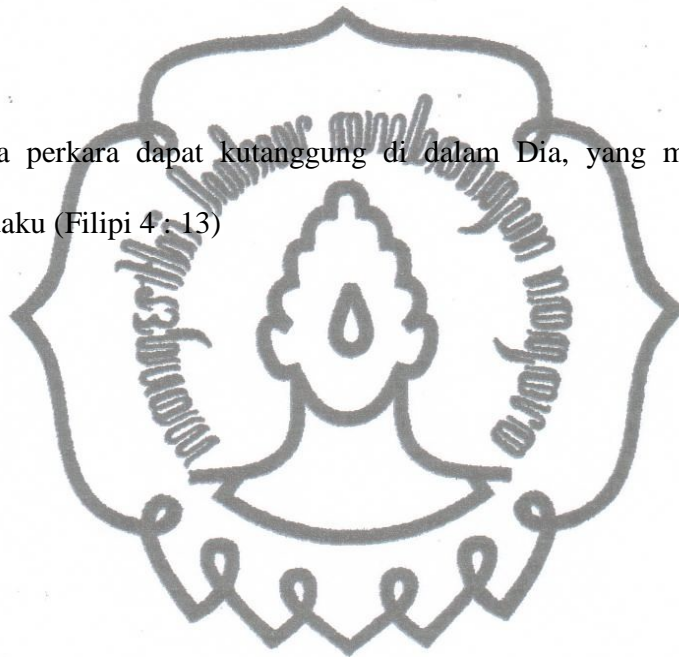
The conclusion of this research are *R. oligosporus* dan *R. oryzae* having a potency as a coagulant in tofu processing for increasing amount of Linoleic and linolenic acid. *R. oryzae* need 18 hours in time to coagulation the tofu, and *R. oligosporus* need 12 hours. The highest amount of Linoleic and Linolenic acid is obtained by *R. oryzae* at six hours of fermentation ( 0,26% and 0,14%), and 24 hours fermentation by *R. oligosporus* ( 0,06% and 0,04%).

**Keywords** : Linoleic acid, Linolenic acid, Tofu, Coagulant, *Rhizopus oryzae* , *Rhizopus oligosporus*

## MOTTO

Aku bersyukur kepadaMU oleh karena kejadianku ajaib. Ajaib apa yang Kau buat, dan jiwaku benar-benar menyadarinya (Mazmur 139 : 14)

Segala perkara dapat kutanggung di dalam Dia, yang memberi kekuatan kepadaku (Filipi 4 : 13)



## PERSEMBAHAN

Kupersembahkan karya ilmiah ini kepada:

- **Tuhan Yesus**, yang telah memberiku kemampuan dan hikmat untuk melakukan segala perkara.
- **Ibu** yang selalu memberikan bantuan dan dorongan.
- **Bapak** yang telah pulang ke rumah Bapa di sorga, terimakasih untuk perjuangan dan jerih payahnya.
- **Mas Pudjianto**, yang dengan penuh cinta selalu setia mendampingiku dalam segala hal baik suka maupun duka.
- **Putik Bunga Melati**, yang kelak menjadi permaisuri pangeran negeri seberang
- **Aldora Duta Perdana**, yang kelak menjadi raja besar. Raja tahu, Raja tempe dan Raja dele.
- **Rini, Susi, Nanang dengan keluarga, Nunung**, terimakasih untuk segala doa, bantuan, dan dukungannya.



## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadapan Tuhan di surga, atas tuntunanNya sehingga penulis untuk dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “**Analisis Kandungan Asam Linoleat dan Linolenat Tahu Kedelai dengan *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus* sebagai Koagulan**” Dalam tulisan ini disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi asam linoleat, asam linolenat, tahu, koagulan, *Rhizopus oryzae*, dan *Rhizopus oligosporus*.

Nilai penting dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi tentang produk tahu yang dibuat dengan menggunakan *R. oryzae* dan *R. oligosporus* sebagai koagulan, dan sekaligus mampu meningkatkan kandungan asam linoleat dan linolenat dalam tahu.

Harapan penulis kiranya karya kecil ini dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu pengetahuan, dan masyarakat dalam meningkatkan kualitas gizi makanan. Selain itu, kiranya, karya ini dapat bermanfaat bagi para pengrajin tahu, untuk meningkatkan mutu tahu yang diproduksi.

Penulis menyadari, meskipun telah berusaha dengan segala kemampuan untuk melakukan penelitian, namun tetap ada kekurangan dan tesis ini jauh dari sempurna. Untuk itu penulis berharap saran yang membangun, agar tulisan ini lebih berguna.

Surakarta, Juli 2009

Penulis

## UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Kuasa, karena telah memberikan bimbingan dan hikmat bagi penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis dengan judul **Analisis Kandungan Asam Linoleat dan Linolenat Tahu Kedelai dengan *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus* sebagai Koagulan**”. Penulis sadar tidak akan mampu menyelesaikan tulisan ini sendirian, oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta, Bapak Prof. Drs. Suranto, M.Sc, PhD., yang telah memberi motivasi dan dukungan.
2. Ketua Program Studi Biosain Pasca Sarjana Universitas sebelas Maret Surakarta, Bapak Dr. Sugiyarto, M.Si., yang senantiasa memberikan bimbingan selama mengikuti perkuliahan di Program Studi Biosain Pasca Sarjana Universitas Sebelas Maret Surakarta
3. Prof. Drs. Sutarno, M.Sc., Ph.D., selaku pembimbing I, yang dengan penuh kesabaran selalu menyediakan waktu untuk memberikan bimbingan.
4. Dr.Supiyani, MSi, selaku dosen pembimbing II, yang selalu membimbing, memotivasi, dan mengarahkan dengan penuh kesabaran.
5. Segenap staf dosen pengajar yang telah memberikan materi perkuliahan yang dapat menunjang keberhasilan tesis ini.
6. Bapak Tjahjadi Purwoko, yang dengan sepenuh hati memberikan petunjuk dan arahan.

7. Teknisi dan Karyawan LPPT- UGM Yogyakarta, yang membantu melakukan analisa bahan
8. Teknisi dan Karyawan Lab. Kimia UNS, yang membantu analisa bahan.
9. Teknisi dan karyawan Laboratorium Biologi UNS, yang telah membantu peremajaan *Rhizopus*, dan meminjamkan peralatan untuk penghitungan jumlah spora.
10. Mas Rosyid, yang membantu dalam penyelesaian administrasi
11. Pemimpin dan segenap karyawan pabrik tahu DELE EMAS, Krajan, Surakarta, yang telah membantu membuat tahu untuk penelitian ini
12. Ibu Riana, selaku kepala sekolah SMP Kristen Kalam Kudus, yang telah memberi kelonggaran waktu bagi penulis untuk belajar dan penelitian.
13. Teman-teman guru SMP Kristen Kalam Kudus, yang penuh pengertian memberikan kelonggaran waktu.
14. Teman-teman seangkatan Biosain, tempat berbagi segala suka dan duka.
15. Ibu, Mas Pudji, Bunga, Aldo, Rini, Susi, Nanang dan keluarga, serta Nunung yang selalu berdoa untuk keberhasilan penulis.
16. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis akan dibalas Tuhan dengan kelimpahan berkat.

Surakarta, Juli 2009

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL.....	i
PENGESAHAN PEMBIMBING .....	ii
PENGESAHAN TIM PENGUJI .....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS DAN PUBLIKASI TESIS.....	iv
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
MOTTO.....	vii
PERSEMBAHAN.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
UCAPAN TERIMA KASIH.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL DAN GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN KERANGKA BERPIKIR</b>	
A. Tinjauan Pustaka .....	5
1. Asam Lemak.....	5
2. Asam Linoleat.....	8
3. Asam Linolenat.....	9
4. Kedelai.....	10
5. Tahu.....	13
6. <i>Rhizopus</i> sp.....	16
7. Koagulan .....	22

B. Kerangka Berpikir .....	24
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
A. Waktu dan Tempat Penelitian .....	25
B. Bahan.....	25
C. Alat.....	26
D. Cara kerja.....	26
1. Pembuatan Inokulum.....	26
2. Perhitungan Spora <i>Rhizopus</i> sp.....	27
3. Pembuatan Tahu.....	28
4. Penentuan Kadar Asam Linoleat dan Linolenat.....	28
E. Variabel Penelitian.....	30
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Morfologi Tahu.....	31
1. Perubahan Warna Tahu.....	32
2. Rongga-Rongga pada Tahu.....	33
3. Peningkatan Kadar Air dan Kepadatan Tahu.....	35
4. Bau Asam.....	36
B. Analisa Kromatografi Gas.....	38
1. Puncak-Puncak Grafik.....	38
2. Kandungan Asam Linoleat dan Linolenat.....	40
3. Fermentasi Tahu oleh <i>Rhizopus oryzae</i> .....	42
4. Fermentasi Tahu oleh <i>Rhizopus oligosporus</i> .....	45
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan.....	48
B. Saran.....	49
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>50</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>54</b>

## DAFTAR TABEL DAN GAMBAR

	Halaman
DAFTAR TABEL	7
Tabel 1. Pemberian Nama asam Lemak Jenuh.....	
Tabel 2. Komposisi Asam Lemak pada Minyak Kedelai .....	12
Tabel 3. Pengaruh Jenis Zat Penggumpal Terhadap Kadar Protein, Kadar Air, Kadar pH, dan Tekstur Tahu .....	24
Tabel 4. Morfologi Tahu .....	31
Tabel 5. pH Sari Kedelai yang Difermentasi <i>Rhizopus sp</i> .....	36
Tabel 6. Tabel Waktu retensi Tahu Fermentasi <i>Rhizopus sp</i> .....	40
Tabel 7. Kandungan Asam Linoleat dan Linolenat pada tahu.....	41
DAFTAR GAMBAR	
Gambar 1. Diagram alir Pembuatan Tahu.....	16
Gambar 2. Struktur Tubuh <i>Rhizopus sp</i> .....	20
Gambar 3. Siklus Hidup <i>Rhizopus sp</i> .....	21

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Grafik Analisa asam Linoleat dan Linolenat sampel Tahu yang Menggunakan Asam Cuka sebagai koagulan.....	55
Lampiran 2 Grafik hasil analisa asam linoleat dan linolenat tahu yang difermentasi <i>Rhizopus oryzae</i> 6 jam dengan menggunakan GC.....	57
Lampiran 3 Grafik hasil analisa asam linoleat dan linolenat tahu yang difermentasi <i>Rhizopus oryzae</i> 12 jam dengan menggunakan GC.....	58
Lampiran 4 Grafik hasil analisa asam linoleat dan linolenat tahu yang difermentasi <i>Rhizopus oryzae</i> 18 jam dengan menggunakan GC.....	59
Lampiran 5 Grafik hasil analisa asam linoleat dan linolenat tahu yang difermentasi <i>Rhizopus oryzae</i> 24 jam dengan menggunakan GC.....	60
Lampiran 6 Grafik hasil analisa asam linoleat dan linolenat tahu yang difermentasi <i>Rhizopus oligosporus</i> 6 jam dengan menggunakan GC.....	62
Lampiran 7 Grafik hasil analisa asam linoleat dan linolenat tahu yang difermentasi <i>Rhizopus oligosporus</i> 12 jam dengan menggunakan GC.....	63
Lampiran 8 Grafik hasil analisa asam linoleat dan linolenat tahu yang difermentasi <i>Rhizopus oligosporus</i> 18 jam dengan menggunakan GC.....	64

Lampiran 9 Grafik hasil analisa asam linoleat dan linolenat tahu yang difermentasi <i>Rhizopus oligosporus</i> 24 jam dengan menggunakan GC.....	66
Lampiran 10 Morfologi <i>Rhizopus sp</i> .....	68
Lampiran 11 Perhitungan Jumlah Spora Jamur.....	69
Lampiran 12 Morfologi Tahu Fermentasi.....	70
Lampiran 13 Alat Gas Chromatography.....	71
Lampiran 14 Riwayat Hidup Penulis.....	72





## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Lemak adalah zat makanan yang selalu ada dalam menu makanan sehari-hari. Berbagai macam makanan, mulai dari pisang goreng, kentang goreng, ayam goreng, rendang, hingga pizza, tidak terlepas dari lemak. Penambahan lemak dalam bentuk minyak memang berguna bagi makanan untuk memperbaiki cita rasa, memperbaiki tekstur, dan meningkatkan flavor (Muchtadi, 2007). Lemak berguna bagi tubuh sebagai sumber energi, dan juga pelarut berbagai vitamin (Campbell *et al.*, 2002). Sebagai sumber energi, lemak memiliki nilai kalori yang tinggi yaitu sebesar 9,3 kkal / gram. Nilai ini lebih tinggi daripada karbohidrat dan protein. Selain itu, pada saat terjadi oksidasi, asam lemak menghasilkan banyak air metabolik, dibanding karbohidrat dan protein (Harper *et al.*, 1979). Hal ini menguntungkan bagi organisme yang hidup di daerah kering.

Ternyata mengkonsumsi lemak yang terlalu banyak akan berbahaya bagi kesehatan jantung (Muchtadi, 2007). Makanan yang memiliki kadar lemak tinggi, dapat mengakibatkan terbentuknya plak pada arteri. Terbentuknya plak akan mengakibatkan dinding bagian dalam arteri menebal, dan menyempitkan luas penampangnya. Penyakit ini disebut arterosklerosis, dan dapat menyebabkan stroke dan serangan jantung (Campbell *et al.*, 2002). Minyak goreng yang digunakan untuk menggoreng lebih dari satu kali juga berbahaya

bagi kesehatan. Menurut Nadesul, (2007), minyak goreng yang digunakan untuk menggoreng lebih dari satu kali merupakan pemicu terjadinya kanker.

Lemak dapat dihidrolisis oleh enzim lipase menjadi asam lemak dan gliserol. Dalam proses metabolisme tubuh, asam lemak dapat membahayakan kesehatan, namun ada pula yang sangat dibutuhkan bagi kesehatan. Asam lemak yang berbahaya adalah asam lemak jenuh, yaitu asam lemak yang tidak memiliki ikatan rangkap pada rantai karbon penyusunnya. Asam lemak jenuh seperti ini banyak terdapat pada lemak hewani, gajih, susu, telur, dan kulit unggas ( Nadesul, 2007). Sedangkan asam lemak yang tidak berbahaya bagi kesehatan adalah asam lemak tidak jenuh (Sipayung, 2003). Asam lemak tak jenuh, adalah asam lemak yang memiliki ikatan rangkap pada rantai karbon penyusunnya. Contoh asam lemak tak jenuh yang penting untuk kesehatan tubuh adalah asam linoleat dan linolenat. Kedua jenis asam lemak ini merupakan asam lemak essensial, yaitu asam lemak yang tidak dapat diproduksi sendiri oleh tubuh (Harper *et al.*,1979). Karena tidak dapat diproduksi oleh tubuh, maka harus ada dalam makanan yang dikonsumsi. Asam linoleat sangat berperan dalam pencegahan penyakit jantung koroner, dan menyetatkan pembuluh darah (Nadesul. 2007).

Salah satu sumber asam linoleat dan linolenat adalah biji kedelai (Harper *et al.*,1979). Masyarakat Indonesia mengkonsumsi kedelai dalam berbagai bentuk olahan makanan, misalnya kecap, tahu, tempe, tauco, susu kedelai, dan lain-lain. Pada beberapa olahan makanan, terjadi perubahan nilai

gizi dari kedelai, misalnya pada proses fermentasi kedelai menjadi tempe terjadi kecenderungan peningkatan asam lemak linoleat dan linolenat (Karyadi dan Hermana. 1995).

Tahu merupakan salah satu jenis makanan yang berasal dari kedelai yang banyak dikonsumsi masyarakat. Tahu dibuat tanpa melalui proses fermentasi, sehingga kandungan asam linoleat dan linolenat tahu tidak setinggi tempe. Untuk itulah pada penelitian ini peneliti mencoba menganalisa kandungan asam linoleat dan linolenat pada tahu dengan menggunakan jamur *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* sebagai koagulan.

#### **B. Perumusan Masalah**

1. Bagaimana potensi jamur *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* sebagai koagulan pada proses pembuatan tahu?
2. Berapa lama waktu yang diperlukan jamur *R. oligosporus* dan *R. oryzae* untuk melakukan koagulasi pada proses pembuatan tahu?
3. Bagaimana potensi *R. oligosporus* dan *R. oryzae* dalam meningkatkan kadar asam linoleat dan linolenat pada tahu?
4. Berapa lama waktu yang diperlukan oleh *R. oligosporus* dan *R. oryzae* untuk fermentasi tahu sehingga menghasilkan kadar asam linoleat dan linolenat yang tinggi?

### C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui potensi jamur *R. oligosporus* dan *R. oryzae* sebagai koagulan pada proses pembuatan tahu
2. Mengetahui lama waktu yang diperlukan jamur *R. oligosporus* dan *R. oryzae* untuk melakukan koagulasi pada proses pembuatan tahu
3. Mengetahui potensi *R.s oligosporus* dan *R. oryzae* dalam meningkatkan kadar asam linoleat dan linolenat pada tahu
4. Mengetahui lama waktu yang diperlukan oleh *R. oligosporus* dan *R. oryzae* untuk fermentasi tahu sehingga menghasilkan kadar asam linoleat dan linolenat yang tinggi

### D. Manfaat Penelitian

1. Menciptakan produk tahu yang menggunakan *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* sebagai koagulan
2. Menciptakan produk tahu yang memiliki kandungan asam linoleat dan linolenat yang tinggi
3. Memberikan informasi manfaat *R. oligosporus* dan *R. oryzae* dalam meningkatkan kandungan asam linoleat dan linolenat pada tahu
4. Memberikan kontribusi berupa informasi tentang pembuatan tahu yang memiliki kandungan asam linoleat dan linolenat yang tinggi.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA DAN KERANGKA BERPIKIR

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Asam Lemak

Lemak adalah senyawa hidrokarbon yang disusun oleh dua jenis molekul yang lebih kecil, yaitu asam lemak dan gliserol. Gliserol adalah sejenis alkohol yang memiliki tiga karbon, yang masing-masing memiliki sebuah gugus hidroksil (Campbell *et al.*, 2002). Jika lemak dihidrolisis maka akan dihasilkan asam lemak (Harper *et al.*, 1979). Asam lemak memiliki kerangka karbon yang panjang, umumnya 16 sampai 18 atom karbon. Salah satu ujung asam lemak itu adalah gugus karboksil, yang biasa disebut disebut ‘kepala’, dan hidrokarbon yang terikat pada gugus karboksil yang disebut ‘ekor’. (Campbell *et al.*, 2002). Asam lemak larut dalam senyawa organik, tetapi tidak larut dalam air (Sipayung, 2003).

Dengan mengacu kepada struktur hidrokarbon yang menyusun ‘ekor’nya, maka asam lemak dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh. Asam lemak jenuh adalah asam lemak yang bagian ekornya tidak memiliki ikatan rangkap. Contoh asam lemak jenuh adalah lemak hewani, (Campbell *et al.*, 2002). Sedangkan asam lemak tak jenuh adalah asam lemak yang memiliki ikatan rangkap pada hidrokarbon penyusun ‘ekornya’, dan biasanya berada dalam dua bentuk, yakni isomer ‘cis’ dan ‘trans’ (Silalahi, dan Tampubolon, 2002). Jika asam lemak hanya memiliki satu ikatan rangkap pada ikatan karbon di dalam rantainya, maka disebut ‘monounsaturated fatty Acid’, sedangkan asam lemak tak

jenuh yang memiliki beberapa ikatan rangkap pada rantai hidrokarbonnya disebut “polyunsaturated fatty Acid” (Harper *et al.*1979). Posisi ikatan rangkap asam lemak sangat menentukan daya reaksinya. Semakin dekat dengan ujung, ikatan ganda semakin mudah bereaksi. Karena asam lemak ini bersifat reaktif, maka dianggap memiliki nilai gizi lebih baik dibanding asam lemak jenuh (Wikipedia, 2009).

Asam lemak tak jenuh banyak terdapat pada tumbuhan. Asam lemak pada tumbuhan umumnya terdapat dalam bentuk minyak dan ditemukan sebagai cadangan makanan dalam buah dan biji-bijian. Asam lemak dipakai dalam sintesis fosfolipid dan glikolipid yang diperlukan untuk pembentukan organel, dan sebagian diubah menjadi gula dan diangkut untuk pertumbuhan kecambah (Sipayung, 2003).

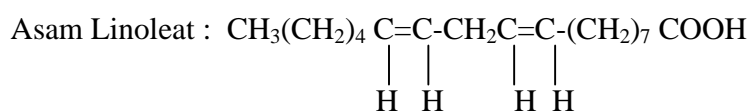
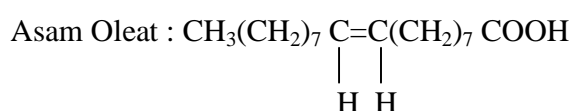
Pada tata nama sistematis yang sering dipakai, asam lemak jenuh diberi nama dengan akhiran “anoat”, dan asam lemak tak jenuh diberi nama dengan akhiran “enoat”, misalnya asam oleat, linoleat, dan linolenat (Harper *et al.*,1979). Martoharsono, (2006), memberikan contoh pemberian nama asam lemak jenuh seperti pada tabel berikut:

Tabel 1. Pemberian nama asam lemak jenuh

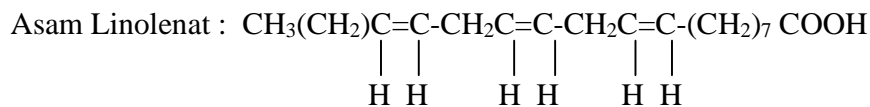
Jumlah atom karbon	Nama		Rumus molekul
	Trivial	sistematika	
2	Asam asetat	Asam binoat	CH <sub>3</sub> COOH
4	Asam butirrat	Asam tetranoat	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH
6	Asam kaproat	Asam heksanoat	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH
8	Asam kaprilat	Asam oktanoat	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH
10	Asam kaprat	Asam dekanoat	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH
12	Asam laurat	Asam dodekanoat	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH
14	Asam miristat	Asam tetradekanoat	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH
16	Asam palmitat	Asam heksadekanoat	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH
18	Asam stearat	Asam oktadekanoat	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH
20	Asam arakidat	Asam eikosanoat	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>18</sub> COOH

Sumber : Martoharsono, (2006)

Pada umumnya, asam lemak tak jenuh yang ada di alam memiliki karbon berjumlah 18. Beberapa contoh asam lemak tak jenuh adalah asam oleat, linoleat, dan linolenat. Salisbury dan Ross (1995) menuliskan Rumus bangun asam-asam tersebut adalah sebagai berikut:



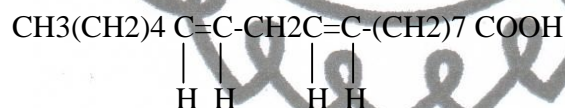
*commit to user*



Asam oleat merupakan asam omega 9. Asam oleat dapat disintesis oleh tubuh sehingga disebut asam lemak non esensial. (Munisa, 2003). Sedangkan asam Linoleat dan Linolenat tidak dapat disintesis oleh tubuh, sehingga harus diperoleh dari makanan. Makanan sumber asam linoleat adalah minyak jagung, kacang tanah, biji kapas, dan minyak kedelai (Iskandar, 2004).

## 2. Asam Linoleat

Asam linoleat tergolong asam lemak tak jenuh yang memiliki dua ikatan rangkap. Rumus bangun asam linoleat adalah sebagai berikut:



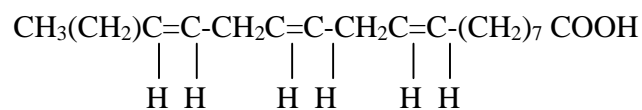
Rumus ini sering ditulis dengan C:18:2:9,12, artinya asam lemak ini memiliki atom C berjumlah 18, memiliki ikatan rangkap berjumlah 2 yaitu pada ujung bernomor 9 dan 12, dihitung dari ujung gugus karboksil (Harper *et al* 1979). Posisi ikatan ganda juga dapat ditulis dengan simbol omega ( $\Omega$ ). Asam linoleat dapat disebut  $\Omega$  6 dan  $\Omega$  9, karena memiliki ikatan ganda pada atom C nomer 6 dan 9 dihitung dari ujung gugus metil sehingga, asam linoleat dapat ditulis 18:2  $\Omega$  6.  $\Omega$  9, dan sering disebut asam omega 6 (deMan, 1997).



Asam linoleat banyak ditemukan pada biji jagung, biji kapas, kacang tanah, biji bunga matahari, dan biji kedelai (Harper et al. 1979). Asam lemak ini tidak dapat disintesis oleh tubuh oleh karena itu harus diperoleh dari makanan. Makanan produk olahan kedelai, misalnya tempe juga mengandung asam linoleat. Jumlah asam linoleat yang ditemukan pada tempe sebesar 7,23 gram dalam 100 gram tempe (Iskandar, 2004). Asam linoleat ini terbentuk ketika proses fermentasi kedelai menjadi tempe (Pawiroharsono, 1997). Menurut Iskandar, (2004), Asam linoleat berperan dalam pertumbuhan, pemeliharaan membran sel, pengaturan metabolisme kolesterol, menurunkan tekanan darah, menghambat lipogenesis hepatic, transport lipid, dan prekursor dalam sintesis prostaglandin. Defisiensi asam lemak linoleat dapat mengakibatkan dermatitis, kemampuan reproduksi menurun, gangguan pertumbuhan, degenerasi hati, dan rentan terhadap infeksi (Harper *et al.* 1979).

### 3. Asam Linolenat

Asam linolenat juga merupakan asam lemak tidak jenuh yang tidak dapat disintesis oleh tubuh. Asam linolenat memiliki 18 rantai karbon, dengan tiga ikatan rangkap dua, yaitu pada atom karbon nomor 9,12, dan 15 dari ujung gugus karboksil, sehingga dapat ditulis  $C:18:3: 9,12,15$  (Harper *et al.* 1979). Asam linolenat dapat juga ditulis  $18:3: \Omega 3, \Omega 6, \Omega 9$  dan sering disebut asam omega 3 (deMan, 1997). Rumus bangun asam linolenat adalah sebagai berikut:



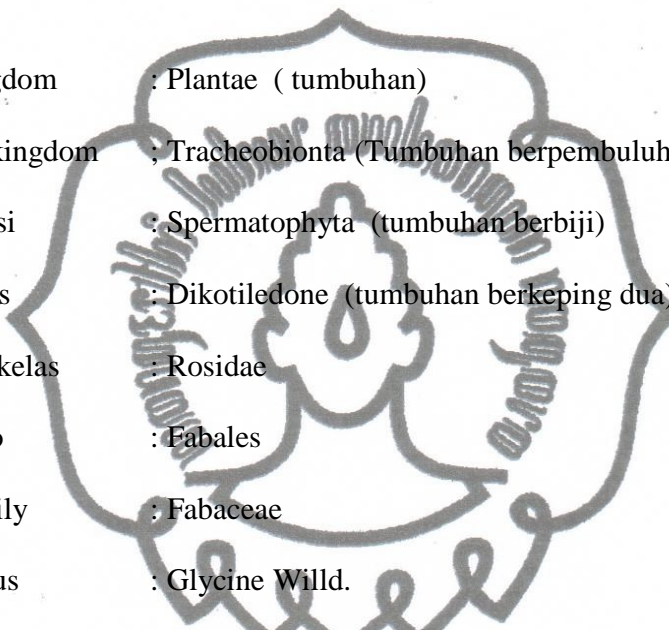
Asam lemak ini berfungsi mencegah penyakit kardiovaskuler, dan penyakit kanker. Selain itu asam omega 3 juga mampu memproduksi substansi yang mengontrol respon imun tubuh (Munisa, 2003), dan mencegah rusaknya membrane sel . Asam linolenat ini banyak terdapat dalam biji kedelai (Gardner *et al.* 1991), juga dalam tempe, (Pawiroharsono, 1997), serta pada biji flax (*Linum usitatissimum*), biji ganja (*Canabis sativa*), dan biji rap (*Brassica napus*).

#### 4. Kedelai

Tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merril), diduga berasal dari China bagian utara. Tanaman ini menyebar ke Negara-negara lain di sekitar China, seperti Jepang, Taiwan, China bagian Selatan, Thailand, India bagian Utara, dan Indonesia (Suprapti, 2005). Kedelai masuk Amerika pada tahun 1802, kemudian dikembangkan secara besar-besaran, sehingga Amerika menjadi Negara penghasil kedelai terbesar di dunia (Morse, 1950, dalam Suprapti, 2005). Sedangkan masuknya kedelai ke negara Indonesia tidak diketahui secara pasti, namun Prijono (1938), dalam Astuti (1995), menuliskan bahwa kata kadele (kedelai) ditemukan dalam pustaka serat Sri Tanjung, yang diperkirakan ditulis pada abad 12 atau 13.

Tanaman kedelai berupa semak, dengan tinggi sekitar 20 – 60 cm, batang persegi, poros daun dengan tangkai 6 – 19 cm. Anak daun oval bulat telur atau memanjang, tepi daun rata, bunga berbentuk tandan, mahkota bunga berwarna

putih atau ungu, memiliki bendera dengan 6 – 7 mm. Buah berbentuk polong, pertandan berisi 1 – 4 biji (Steenis, 1997). Sumarno dan Harnoto (1983), menuliskan taksonomi tanaman kedelai sebagai berikut :



Kingdom	: Plantae ( tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Divisi	: Spermatophyta (tumbuhan berbiji)
Kelas	: Dikotiledone (tumbuhan berkeping dua)
Sub kelas	: Rosidae
Ordo	: Fabales
Family	: Fabaceae
Genus	: Glycine Willd.
Species	: <i>Glycine max</i> (L.) Merr.

Kedelai merupakan salah satu bahan pangan yang penting karena mengandung senyawa fitokimia yang berguna bagi kesehatan manusia. Kedelai mengandung berbagai zat penting seperti asam fitat, saponin, dan isoflavon. Asam Fitat merupakan antioksidan, yaitu zat yang mampu menangkal radikal bebas (Jha, 1997). Radikal bebas merupakan penyebab berbagai penyakit degeneratif seperti liver, jantung koroner, diabetes, katarak, penyakit hati, kanker, dan berbagai proses penuaan dini ( Sapuan dan Sutrisno, 1997).

Saponin kedelai memiliki efek menurunkan kolesterol (hipokolesterolemia), sedangkan isoflavon memiliki struktur yang sama dengan estrogen, yang berperan sebagai anti kanker (Astuti, 1999).

Kedelai juga mengandung asam lemak, seperti dalam table berikut:

Tabel 2 : Komposisi asam lemak pada minyak kedelai

Asam Lemak	Persentase
Miristat	0,1
Palmitat	11,0
Palmitoleat	0,1
Stearat	4,0
Oleat	23,4
Linoleat	53,2
Linolenat	7,8
Arakhidat	0,3
Benoat	0,1

Sumber : Gardner *et al.* (1991).

Dalam lemak kedelai ini terkandung beberapa fosfolipida penting, yaitu lesitin, sepalin dan lipositol. Lesitin adalah zat yang diperlukan tubuh untuk pembentukan membran sel. Lesitin juga mampu melindungi sel-sel tubuh dari radikal bebas, sehingga lesitin berperan sebagai antioksidan. Selain itu lesitin juga mampu meningkatkan memori otak, dan mempertinggi daya tahan tubuh (Astuti, 1999).

Selain itu, Salunke and Kadam (1990) dalam Handajani (1993) melaporkan kedelai juga memiliki kandungan zat gizi yang lain, diantaranya

*commit to user*

adalah mineral. Di dalam 100 gram biji kedelai terkandung Na (27,9 gram), Ca (22,6 gram), Cu (2,9 gram), Fe (8,5 gram), Mg (2,36 gram), dan P (5,46 gram). Karena begitu banyak kandungan nutrisi yang terdapat dalam kedelai, maka Astuti. (1999), menyebutnya sebagai biji ajaib dari timur.

Masyarakat Indonesia telah lama mengonsumsi kedelai dalam bentuk produk-produk olahan seperti tahu, tempe, kecap, sari kedelai, dan taoco. Hasil olahan kedelai ini dapat dijadikan berbagai jenis masakan. Produk-produk olahan ini dapat dengan mudah diperoleh di pasaran dengan harga yang terjangkau, sehingga menjadi sumber bahan pangan yang strategis bagi rakyat Indonesia.

## 5. Tahu

Tahu merupakan salah satu produk olahan dari kedelai yang sangat mudah ditemukan di pasaran. Tahu berasal dari negara China. Kata tahu merupakan kata serapan dari bahasa Hokkian. Kacang dalam bahasa China disebut *dou (tau)* (Mulyono dan Matsuyama 1985, dalam Astuti, 1995). Oleh karena itu produk-produk yang dibuat dari bahan kacang di negara China selalu menggunakan kata depan tau, misalnya tau-chu (tauco), Tau-hu (tahu), dan tau-chiang (kedelai goreng) (Astuti, 1995).

Proses pembuatan tahu berbeda dengan proses pembuatan tempe. Tempe dibuat dengan cara memfermentasikan kedelai dengan jamur *Rhizopus* sp. Selama proses fermentasi tersebut terjadi perubahan, baik kimiawi, fisikawi, maupun mikrobiawi. Perubahan-perubahan ini menjadikan tempe menjadi makanan yang bergizi tinggi. Perubahan fisik terlihat dari timbulnya massa putih yang menyelimuti kedelai. Massa putih ini merupakan hifa jamur *Rhizopus* sp. Selain

itu tekstur tempe menjadi lebih kompak, dan terbentuk aroma khas tempe (Prawiroharsono.1997). Perubahan kimiawi yang terjadi adalah peningkatan protein, karbohidrat, dan asam lemak tak jenuh (Samson *et al.* 1984).. Asam lemak tak jenuh yang meningkat adalah asam linoleat dan linolenat. Karyadi dan Hermana (1995), mengadakan penelitian kadar asam linoleat dan linolenat pada tempe, dan ternyata pada tempe ditemukan asam lemak linoleat sebesar 2,5% dan asam linolenat sebesar 0,3 % .

Perubahan mikrobiawi dilakukan oleh enzim yang dihasilkan oleh jamur *Rhizopus* sp. antara lain enzim protease yang memecah protein menjadi asam amino, enzim lipase memecah lemak menjadi asam lemak dan gliserol, dan enzim amylase yang menghidrolisis pati kedelai menjadi disakarida dan monosakarida (Septiani *et al.* 2004). Proses mikrobiawi juga dilakukan oleh beberapa bakteri, misalnya kelompok *Enterobacillus*, seperti *Lactobacillus* sp, *Lactobacillus plantarum*, dan sebagainya, yang mampu menurunkan pH media, sehingga fermentasi berjalan dengan baik (Sapuan dan Sutrisno, 1997). Selain itu, terdapat pula beberapa bakteri yang mampu mengubah isoflavon menjadi factor-II, yaitu *Microccus luteus*, *Microbacterium arborescens*, dan *Brevibacterium epidermis* (Prawiroharsono, 1997).

Tahu diproduksi dengan cara menggumpalkan protein dengan asam, misalnya dengan asam cuka. Penggumpalan protein ini terjadi secara cepat dan serentak di seluruh bagian cairan sari kedelai, sehingga air yang semula tercampur akan terperangkap di dalamnya. Selanjutnya air yang terperangkap ini dapat

dikeluarkan dengan cara ditekan, sehingga akan terbentuk gumpalan protein. Gumpalan protein inilah yang disebut tahu (Suprapti, 2005). Karena proses pembuatan tahu tanpa melalui proses fermentasi, maka kandungan nutrisi, terutama kandungan asam lemak tak jenuh pada tahu tidak setinggi pada tempe.

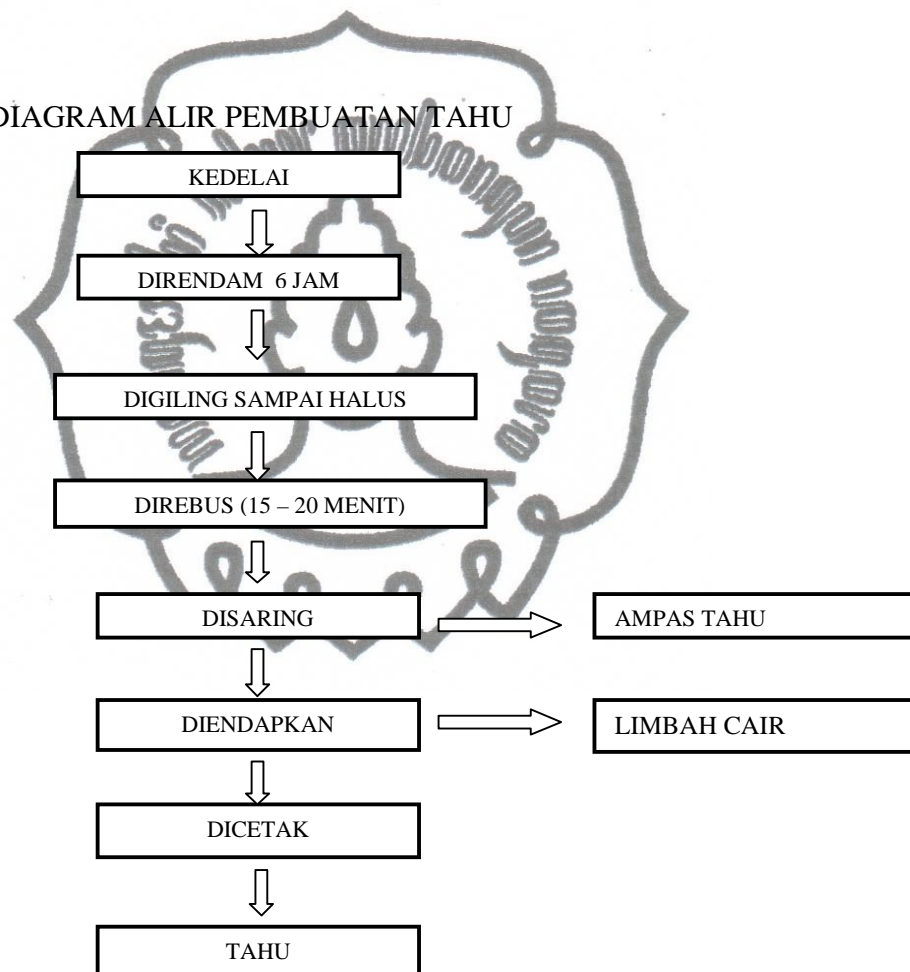
Proses pembuatan tahu menurut Suprapti (2005), adalah sebagai berikut :

1. Kedelai yang bagus dicuci, lalu direndam dalam air bersih selama 6 – 24 jam.
2. Kedelai dicuci lagi dan ditiriskan, kemudian digiling hingga menjadi bubur.
3. Bubur kedelai dimasukkan ke dalam wajan yang berisi air mendidih, dan dibiarkan mendidih lagi.
4. Bubur kedelai dalam kondisi panas segera disaring dengan kain. Limbah penyaringan, yang disebut ampas tahu, diperas lagi dengan menyiram air panas, sampai tidak mengandung sari lagi.
5. Sari kedelai segera dicampur dengan asam cuka agar menggumpal. Selain asam cuka, dapat juga digunakan cairan whey (air sari tahu bila tahu telah menggumpal) yang telah dieramkan, atau bubuk batu tahu (sulfat kapur).
6. Cairan bening yang terbentuk di atas gumpalan-gumpalan protein segera dipisahkan dengan menggunakan saringan yang terbuat dari anyaman bambu.
7. Gumpalan yang mulai mengendap dituangkan dalam kotak berukuran misalnya 50 x 60 cm<sup>2</sup> dan dialasi kain belacu.
8. Bubur tahu dalam kotak cetakan ditutup dengan kayu penutup, dibiarkan selama 10 – 15 menit, dan di atasnya diberi batu pemberat, sehingga air yang masih tercampur dalam adonan tahu itu terperas habis.

9. Selanjutnya pemberat diambil, kain saring dibuka, dan tahu siap dipotong-potong untuk dijual.

Secara lengkap, diagram pembuatan tahu ditulis sebagai berikut:

Gambar 1 : DIAGRAM ALIR PEMBUATAN TAHU



## 6. *Rhizopus sp.*

*Rhizopus sp.* adalah jenis kapang yang digunakan untuk memfermentasi kedelai menjadi tempe (Astuti, 1995). Beberapa spesies dari genus *rhizopus* antara



lain adalah *R. oligosporus*, *R. oryzae*, dan *R. stolonifer* (Samson *et al.* 1984). Ketiga jenis Rhizopus ini mampu memfermentasi kedelai menjadi tempe, tetapi jenis yang umum digunakan untuk fermentasi tempe adalah *R. oligosporus*, karena jamur ini mampu hidup berdampingan dengan mikroorganisme kontaminan dalam bentuk asosiasi mutualisme dan komensalisme. Kehadiran kontaminan-kontaminan ini akan menentukan hasil akhir fermentasi (Pawiroharsono, 1997). Beberapa contoh mikroorganisme yang bersimbiosis dengan *R. oligosporus* adalah *Micrococcus luteus* dan *Brevibacterium epidermidis*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Siregar dan Prawiroharsono (1997). Kehadiran kedua mikroorganisme ini akan meningkatkan kandungan isoflavon pada tempe. Isoflavone adalah zat yang mampu menurunkan resiko penyakit jantung, menurunkan kadar kolesterol dalam darah, dan menghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Koswara, 2006). Lebih lanjut Pawiroharsono (1997), melaporkan *Micrococcus luteus* dan *Brevibacterium epidermidis* ini mampu mengubah jenis isoflavon daidzein dan glisitein menjadi factor-2, (6,7,4-trihidroksi isoflavon) yang mempunyai sifat antioksidan sangat kuat.

Keunggulan *R. oligosporus* yang lain adalah mampu memfermentasi kedelai menjadi tempe yang sempurna dalam waktu 24 – 36 jam. Sedangkan *R. oryzae* membutuhkan waktu 48 jam untuk mengubah kedelai menjadi tempe sempurna (Pawiroharsono, 1997). Menurut Hermana dan Karmini, (1997), waktu pemeraman akan menentukan produksi dan aktifitas enzim amylase, lipase, dan protease yang akan bekerja untuk mencerna karbohidrat, lemak, dan protein

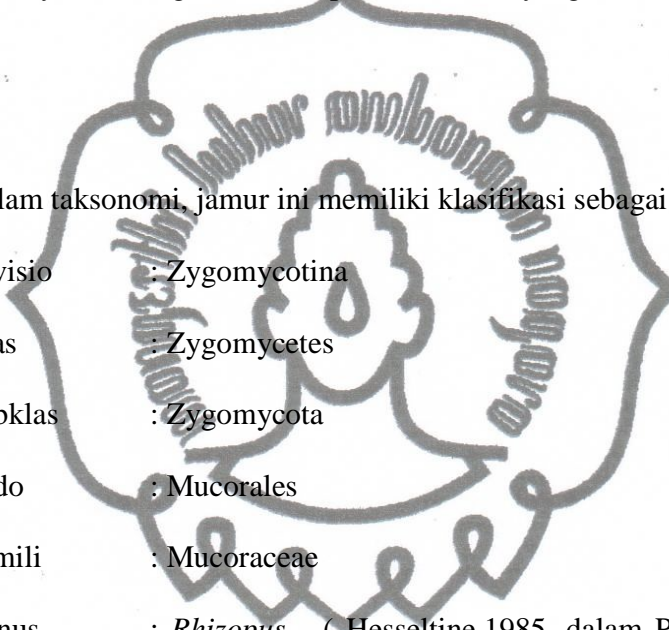
yang terdapat dalam kedelai, sehingga menentukan mutu gizi tempe yang dihasilkan.

Selama proses fermentasi berlangsung, jamur *Rhizopus sp.* Melakukan proses enzimatik sehingga terjadi perubahan pada kedelai. Enzim yang dihasilkan diantaranya adalah proteolitik yang meningkatkan kadar asam amino (Samson *et al.* 1984), disamping adanya enzim lipase, *R. oligosporus* memiliki aktifitas enzim lipase lebih tinggi dibanding *R. oryzae*. Kecepatan hidrolisis lemak dari *R. oligosporus*, *R. oryzae*, dan campuran keduanya, terjadi pada periode 12 – 24 jam. Asam lemak bebas yang diproduksi oleh *R. oligosporus* selalu lebih tinggi dan jumlah optimum terjadi pada fermentasi 36 jam. Asam lemak bebas yang dapat diproduksi oleh *R. oryzae*, dan kapang campuran dari jumlah kedelai yang sama tidak pernah mencapai jumlah yang diproduksi oleh *R. oligosporus* pada fermentasi 36 jam, meskipun waktu fermentasi diperpanjang sampai 72 jam (Hermana dan Karmini, 1997). Pawiroharsono, (2000), melaporkan *R. oligosporus* memiliki potensi untuk meningkatkan kadar asam linolenat pada fermentasi tempe. Jamur *Rhizopus* juga memiliki enzim amylase yang mampu mengubah karbohidrat menjadi maltose. Tetapi ternyata aktivitas enzim amylase tertinggi dimiliki oleh *R. oryzae*, yaitu selama 12 jam, sedangkan aktivitas enzim amylase pada *R. oligosporus* terjadi selama fermentasi 36 jam (Hermana dan Karmini, 1997).

Pada proses fermentasi tempe, Jamur *Rhizopus sp.* juga menghasilkan enzim-enzim protease yang mampu merombak senyawa organik kompleks

menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga senyawa tersebut dengan cepat dapat dipergunakan oleh tubuh (Pangastuti dan Triwibowo, 1996). Perombakan senyawa kompleks protein menjadi senyawa-senyawa lebih sederhana adalah penting dalam fermentasi tempe, dan merupakan salah satu faktor utama penentu kualitas tempe, yaitu sebagai sumber protein nabati yang memiliki nilai cerna amat tinggi.

Dalam taksonomi, jamur ini memiliki klasifikasi sebagai berikut :

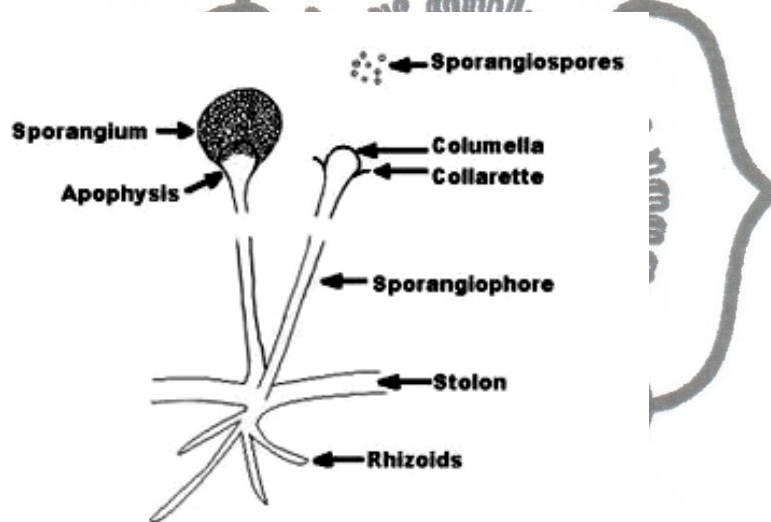


Divisio : Zygomycotina  
Klas : Zygomycetes  
Subklas : Zygomycota  
Ordo : Mucorales  
Famili : Mucoraceae  
Genus : *Rhizopus* ( Hesseltine,1985, dalam Prawiroharsono,

1995)

Kelompok jamur yang tergolong dalam genus *Rhizopus* memiliki bentuk sel vegetatif yang berupa benang yang disebut hifa/miselium. Sporangium berisi banyak spora, berwarna keputihan ketika masih muda, dan berangsur menjadi kecoklatan ketika sudah tua. Spora berbentuk elip, pendek, dengan beberapa sudut yang tidak teratur (Samson *et al.* 1984). Menurut Pawiroharsono, (1997), *Rhizopus* memiliki tiga tipe hifa, yaitu:

- a. Stolon, hifa yang membentuk jaringan pada permukaan substrat (misalnya roti).
- b. Rizoid, hifa yang menembus substrat dan berfungsi sebagai jangkar untuk menyerap makanan.
- c. Sporangiofor, hifa yang tumbuh tegak pada permukaan substrat dan memiliki sporangium globuler di ujungnya.

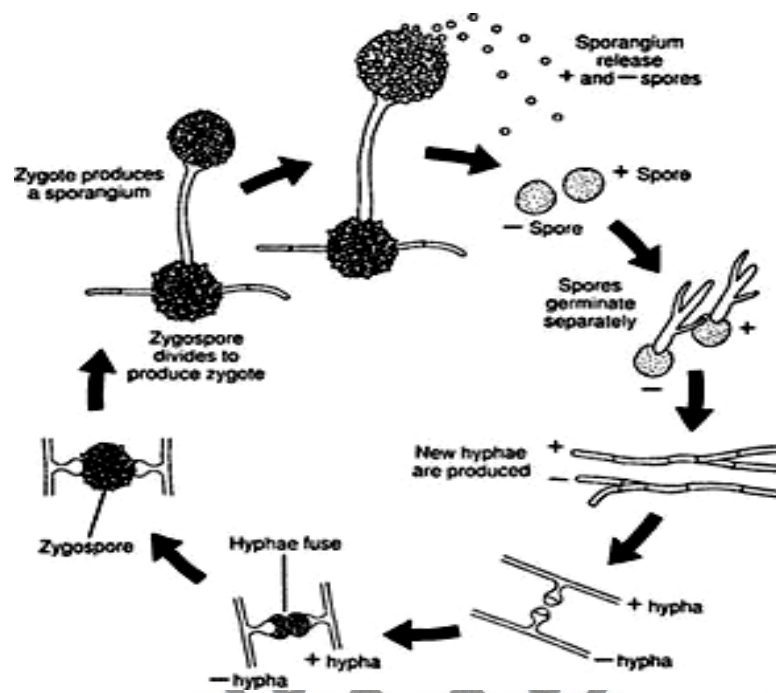


Gambar 2 : struktur tubuh *Rhizopus sp.*  
Sumber : Hermana dan Karmini, (1997)

Pada proses fermentasi tempe, benang-benang hifa akan tumbuh membalut dan menembus biji kedelai. Apabila benang-benang tersebut sedemikian padat, maka terbentuklah tempe yang kompak, putih, dan beraroma khas tempe (Prawiroharsono, 2000)

Kapang *Rhizopus* mampu berkembang biak secara vegetatif maupun generatif. Secara vegetatif yaitu dengan membuat sporangium yang

menghasilkan spora tak berflagel (aplanospora). Sedangkan secara generatif dengan cara konjugasi dua hifa (-) dan hifa (+), dan menghasilkan zigospora.



Gambar 3 : Cara reproduksi *Rhizopus*  
Sumber : Samson *et al.* (1984)

Samson *et al* (1984), menuliskan ciri-ciri *R. oryzae* dan *R. oligosporus* sebagai berikut :

#### a. *Rhizopus oryzae*

- 1) Koloni berwarna putih dan berangsur-angsur menjadi abu-abu kecoklatan sesuai dengan usia.
- 2) Stolon halus atau sedikit kasar dan tidak berwarna, atau berwarna kekuningan hingga coklat

- 3) Sporangiofora tumbuh dari stolon yang mengarah ke udara, baik tunggal maupun dalam kelompok (hingga 5 sporangiofora).
- 4) Rhizoid berwarna kecoklatan, tumbuh berlawanan dan terletak pada posisi yang sama dengan sporangiofora.
- 5) Spora bulat, oval, atau elip, dengan ukuran diameter 8-13 $\mu$ m x 16-24  $\mu$ m
- 6) Temperatur optimal untuk pertumbuhan pada 35°C, temperatur minimal pada 5-7 °C, dan maksimal pada 44°C

#### ***b. Rhizopus oligosporus***

- 1) Koloni tampak pucat berwarna abu-abu kecoklatan
- 2) Sporangiofora soliter (sendiri), atau dalam kelompok terdiri dari 4-6 sporangiofora yang tumbuh ke arah udara dan tingginya mencapai 1 mm.
- 3) Sporangiofora muda berwarna transparan dan berangsur menjadi kecoklatan.
- 4) Rhizoid bercabang pendek dan tumbuh berlawanan dengan sporangiofora, yaitu ke arah substrat, dengan dinding sel halus atau agak kasar.
- 5) Spora berupa sel tunggal, bentuk tidak beraturan antara bulat sampai elip dengan diameter 7 – 10  $\mu$ m.
- 6) Temperatur optimum 32 – 35°C, minimum 12°C, dan maksimum 42

## **7. Koagulan**

Koagulan adalah zat yang berfungsi sebagai bahan penggumpal protein pada proses pembuatan tahu. Koagulan yang biasa digunakan adalah asam cuka, batu tahu, dan cairan sisa (whey) (Syamsir, 2008).

Menurut Suhaidi (2003), Asam cuka selain berfungsi sebagai penggumpal, juga berperan sebagai pengawet, dimana pH yang rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk, dan jumlah asam yang cukup akan menyebabkan denaturasi protein.

Batu tahu adalah nama dagang dari kalsium sulfat ( $\text{CaSO}_4$ ). Batu tahu berbentuk pecahan kaca. Untuk menggunakannya terlebih dahulu harus dihancurkan dengan cara dibakar. Selanjutnya tepung yang terjadi dilarutkan dalam air, dan dibiarkan mengendap. Kemudian bagian yang bening diambil untuk dipergunakan sebagai penggumpal (Suprapti, 2005). Penggumpalan protein yang terjadi disebabkan karena ion  $\text{Ca}^{2+}$  bereaksi dan berikatan dengan protein yang terdapat pada bahan tahu tersebut, dan bersama lipid membentuk gumpalan (Santoso, 1993, dalam Suhaidi, 2003)

Cairan sisa (whey) adalah air sisa perasan gumpalan tahu yang dibiarkan semalam. Dalam proses pembuatan tahu setelah protein kedelai menggumpal, gumpalan ini disaring. Sisa cairannya sebagian besar dibuang. Sedangkan bagian sisanya ditampung dan dibiarkan selama satu malam. Supaya cepat menjadi bahan penggumpal yang baik, biasanya si pengrajin tahu akan menambahkan cairan hasil peraman malam sebelumnya. Bahan ini selain aman juga sangat ekonomis karena sudah tersedia di tempat pembuatan tahu (Suprapti, 2005).

Bahan koagulan sangat menentukan kualitas tahu. Semakin bagus koagulan, maka akan mampu mengikat lebih banyak protein tahu, sehingga randemen yang dihasilkan juga banyak. Menurut hasil percobaan yang dilakukan

Suhaidi (2003), jenis penggumpal batu tahu menghasilkan kadar protein, kadar air, pH, rasa-aroma, dan tekstur yang lebih tinggi dari pada tahu yang digumpalkan dengan asam cuka, seperti yang terlihat pada tabel berikut:

Tabel 3: Pengaruh Jenis zat Penggumpal Terhadap Kadar Protein, kadar air, pH, Rasa-aroma, dan tekstur tahu.

Jenis Zat penggumpal	Kadar Protein (%)	Kadar Air (%)	pH	Rasa Aroma (skor)	tekstur
Asam cuka	4,59	79,42	5,09	3,24	2,94
Batu tahu	4,99	79,68	5,43	3,28	3,23

Sumber: Suhaidi, 2003

Sedangkan Elvira (2008), melaporkan koagulan dengan asam cuka memberikan rendemen yang rendah dengan tekstur tahu yang rapuh (mudah hancur), dan flavor agak asam.

## B. Kerangka Berpikir

Tahu merupakan makanan rakyat yang berbahan dasar kedelai. Kedelai memiliki kandungan berbagai nutrisi yang penting. Selain itu juga mengandung asam lemak tak jenuh. Namun kandungan asam lemak tak jenuh pada tahu, terutama asam linoleat dan linoleat tidak setinggi pada tempe. Kandungan asam linoleat dan linoleat yang tinggi pada tempe terbentuk selama proses fermentasi.

Apabila dalam proses pembuatan tahu menggunakan kapang *R. oligosporus* dan *R. oryzae* sebagai koagulan, dapatkah terbentuk asam linoleat dan linoleat yang tinggi? Untuk menjawab permasalahan ini, maka perlu dilakukan

*commit to user*



penelitian tentang kandungan asam linoleat dan linolenat pada tahu yang menggunakan *R. oligosporus* dan *R. oryzae* sebagai koagulan. Disamping itu, pada penelitian ini juga dipelajari lama fermentasi sehingga terbentuk kadar asam linoleat dan linolenat yang paling tinggi.

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada pertengahan bulan Juni hingga Juli 2009. Pembuatan inokulum biakan *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* dilakukan di laboratorium Biologi FMIPA UNS Surakarta. Pembuatan tahu dilakukan di pabrik tahu “DELE EMAS”, Krajan RT. 02 RW.01, Debean, Surakarta. Sedangkan uji asam lemak tak jenuh dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

##### **B. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- 1) Kedelai import dari Amerika (*Glycine max*), sebagai bahan untuk membuat tahu, diperoleh dari pengepul kedelai import, di pasar Mojosongo, Surakarta.
- 2) *Rhizopus oligosporus* dan *Rhizopus oryzae* diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta.

- 3) Media Potato Dextrose Agar (PDA), diperoleh dari laboratorium Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta, untuk membiakkan *R. oryzae* dan *R. oligosporus*
- 4) Bahan kimia, yaitu : metil linoleat standard, metil linolenat standard, Petroleum Benzen, NaOH-metanol, dan BF<sub>3</sub> metanol 20 %., diperoleh dari LPPT UGM Yogyakarta.

### C. Alat :

8 Tabung reaksi, gelas beaker, pengaduk, jarum ose, kapas, autoklaf, papan miring. Haematisometer beserta gelas penutup, jarum ose, pipet, mikroskop. Ember, penggilingan dele, kain belacu, cetakan tahu. Timbangan, labu ukur. Pipet, Gas Chromatography

### D. Cara Kerja

#### a. Pembuatan inokulum

Media untuk membuat inokulum biakan murni adalah dengan Potato Dextrose Agar (PDA). Dalam aturan pakai untuk membuat 1 liter media agar dibutuhkan 39 gram PDA, sehingga untuk membuat inokulum biakan murni sebanyak 4 tabung reaksi, masing-masing 5 ml dibutuhkan  $\{(4 \times 5) / 1000\} \times 39$  gram = 0,78gram. Cara untuk membuat biakan tersebut sebagai berikut :

- 1) 20 ml aquades dimasukkan dalam gelas beaker, kemudian ditambahkan 0,78 PDA E.Merck, kedalamnya dan diaduk hingga tercampur rata.
- 2) Larutan PDA dituang ke dalam 4 tabung reaksi, masing-masing 5 ml.

- 3) Selanjutnya tabung reaksi disumbat dengan kapas, dan dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.
- 4) Setelah itu diletakkan pada papan miring sampai agar dingin dan padat, dan dibiarkan selama 3 hari.
- 5) 1 ose biakan murni *R. oligosporus*. Digoreskan pada agar miring, dan dibiarkan selama 48 jam untuk siap digunakan.

Hal yang sama juga dilakukan untuk membuat biakan murni *R. oryzae*.

#### **b. Perhitungan spora *Rhizopus sp***

- 1) Permukaan haemasitometer dan tutupnya dibersihkan dengan kertas lensa dan aquades.
- 2) Gelas penutup haemasitometer diletakkan di atas permukaan hitung.
- 3) 5 ml agudes dituang dalam biakan *Rhizopus sp*.
- 4) Dengan menggunakan jarum ose, *Rhizopus sp*. dikerok agar seluruh spora dapat terangkat.
- 5) Suspensi jamur dituang kedalam tabung reaksi lain, dan dikocok
- 6) Diambil 1 ml suspensi jamur dengan pipet, dan dimasukkan kedalam lekukan berbentuk huruf V yang terletak di tepi penutup haemasitometer.
- 7) Hemasitometer diletakkan dibawah mikroskop, dan dihitung sporanya.
- 8) Hasil yang diperoleh ternyata dalam 1 ml suspense *R. oryzae* terdapat  $8,3 \times 10^6$  spora. Padahal untuk membuat tahu dari 1 liter sari kedelai dibutuhkan  $10^7$  spora (Purwoko, 2001). Sehingga jumlah suspensi yang dibutuhkan adalah:  $10^7 / 8,3 \times 10^6 = 1,2048$  ml.

Sedangkan dalam 1 ml suspense *R. oligosporus* diperoleh  $10,9 \times 10^6$  spora, sehingga untuk 1 liter bahan diperlukan  $10^7 / 10,9 \times 10^6 = 0,9174$  ml

### 3. Pembuatan Tahu

- 1) Satu kilogram kedelai dicuci bersih, lalu direndam selama 6 jam.
  - 2) Selanjutnya digiling hingga halus, disaring diambil sarinya, dibuang ampasnya.
  - 3) Satu liter sari kedelai dimasak hingga mendidih, kemudian didinginkan, dan setelah dingin diinokulasi dengan  $10^7$  spora *R. oligosporus*.
  - 4) Sari kedelai yang telah diinokulasi dibuat 4 macam perlakuan, yaitu dibiarkan selama 6 jam, 12 jam, 18 jam, dan 24 jam.
  - 5) Endapan yang terbentuk dipisahkan dari cairan dan dikempa dengan alat pengempa yang dilapisi kain belacu.
- Hal yang sama juga dilakukan pada *R. oryzae*.

### 4. Penentuan Kadar Asam linoleat dan Linoleat

Penentuan kadar asam linoleat dan linoleat dilakukan dengan metode kromatografi gas, dengan langkah-langkah sebagai berikut:

#### I. Persiapan Bahan

- 1) Masing-masing sampel ditimbang sebesar 10 gram, kemudian dilumatkan / digerus untuk dihomogenkan
- 2) Sampel dimasukkan dalam labu 50 ml lalu ditambahkan 4 ml HCl pekat, dihomogenkan, kemudian ditambahkan 7 ml HCl pekat

#### II. Hidrolisis

Bahan yang sudah dihomogenkan dimasukkan ke dalam pemanas air, dipanaskan pada suhu 70° celcius, kemudian dilanjutkan sampai mendidih, dan dibiarkan selama 90 menit. Sambil dilakukan pemanasan, wadah ditutup dengan plastik agar bahan tidak menguap.

### III. Ekstraksi

- 1) Bahan didinginkan, lalu ditambah 7 ml etanol, digojog, selanjutnya ditambahkan 25 ml diethyl eter dan digojog.
- 2) Ke dalam bahan ditambahkan 25 ml Petroleum benzen fraksi 40-60 derajat celcius, kemudian digojog/divortex.
- 3) Lapisan atas yang terbentuk dipisahkan
- 4) Bagian bawah lapisan dilakukan ekstraksi lagi, dengan menggunakan 15 ml diethyl eter dan 15 ml petroleum benzen. Lapisan atas dipisahkan lagi, kemudian jadikan satu dengan lapisan atas yang pertama.
- 5) Selanjutnya dilakukan evaporasi pada suhu 50 derajat celcius dengan pertolongan gas N<sub>2</sub>, sampai kering.

### IV. Saponifikasi

Ke dalam bahan yang telah kering ditambahkan 1 ml larutan 0,5 M NaOH-metanol, dipanaskan sampai mendidih selama 1 menit.

### V. Esterifikasi

- 1) Selanjutnya bahan yang telah disaponifikasi ditambahkan 2 ml larutan BF<sub>3</sub>-metanol 20%, dan dipanaskan hingga mendidih, selama 1 menit.

- 2) Kemudian diekstrak dengan 1 ml n-heptan dan 1 ml NaCl jenuh, hingga terbentuk 2 palisan, yaitu lapisan atas yang terdiri dari heptan dan metil ester.
- 3) Lapisan atas diambil kemudian diinjeksikan ke dalam GC.
- 4) Pada kondisi yang sama, injeksikan pula standar Metil linoleat dan metil linolenat, dengan konsentrasi 0,125%.

### **E. Variabel Penelitian**

Variabel yang diteliti pada penelitian ini antara lain:

- 1) Morfologi tahu yang difermentasi oleh jamur *R. oligosporus* dan *R. oryzae*
- 2) Perubahan pH tahu selama proses fermentasi
- 3) Waktu yang diperlukan jamur *R. oligosporus* dan *R. oryzae* untuk melakukan koagulasi
- 4) Kandungan asam linoleat dan linolenat tertinggi yang terbentuk selama proses fermentasi oleh jamur *R. oligosporus* dan *R. oryzae*
- 5) Waktu optimum yang diperlukan oleh *R. oligosporus* dan *R. oryzae* untuk menghasilkan kadar asam linoleat dan linolenat yang tertinggi selama fermentasi

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Morfologi Tahu

Pada proses pembuatan tahu ini dilakukan fermentasi dengan waktu yang berbeda, yakni 6 jam, 12 jam 18 jam dan 24 jam. Ternyata dari perlakuan di atas terlihat morfologi tahu yang berbeda-beda, seperti pada table 4 berikut :

Tabel 4: Morfologi tahu fermentasi

Lama fermentasi	<i>Rhizopus oryzae</i>	<i>Rhizopus oligosporus</i>
6 jam	Warna putih, bau susu kedelai	Warna putih, bau susu kedelai
12 jam	Sari kedelai menjadi padat, warna putih kekuningan bau seperti tempe.	Sari kedelai menjadi padat (terbentuk tahu), Warna kekuningan, bau seperti tempe, timbul rongga-rongga kecil, timbul sedikit air
18 jam	Sari kedelai makin padat (terbentuk tahu), warna kuning, bau tempe bercampur asam, timbul rongga-rongga kecil, timbul sedikit air.	Sari kedelai lebih padat, Warna kuning, bau seperti tempe bercampur sedikit asam, rongga-rongga menjadi besar, air makin bertambah
24 jam	Sari kedelai padat, warna kuning, bau asam makin terlihat, rongga-rongga bertambah, air bertambah	Sari kedelai padat, Warna kuning kecoklatan, bau asam makin jelas, rongga-rongga besar dan banyak, air bertambah banyak

Dari tabel 4. Di atas terlihat adanya perubahan morfologi tahu dari bentuk awalnya yaitu sari kedelai. Perubahan itu dapat terlihat pada : perubahan warna, terbentuknya rongga-rongga, perubahan bau menjadi asam, kepadatan, dan peningkatan kadar air.

### 1. Perubahan Warna Tahu

Pada peristiwa fermentasi tahu ini terjadi perubahan warna dari warna putih, pada susu kedelai, berubah menjadi kekuningan , dan selanjutnya menjadi kecoklatan. Perubahan ini terjadi secara perlahan-lahan, seiring dengan lama waktu fermentasi. Perubahan warna ini baik pada *Rhizopus oligosporus* maupun *Rhizopus oryzae* dimulai setelah fermentasi berlangsung selama 6 jam. Selanjutnya, warna berubah menjadi kuning pada fermentasi 12 jam, lalu berubah menjadi kuning kecoklatan pada fermentasi 24 jam.

Menurut Sumantri, (2003), warna kuning ini disebabkan oleh pigmen karoten yang terdiri dari alfa dan beta karoten. Pigmen ini merupakan zat warna alamiah yang terdapat dalam bahan yang mengandung minyak, atau menghasilkan minyak, contohnya kelompok jamur dari ordo Mucorales. Sedangkan Hans, (2009), melaporkan Warna kuning yang terbentuk merupakan hasil biosintesis  $\beta$ -carotene oleh *Rhizopus* sp. dan menandakan proses fermentasi berjalan cukup baik. Bisping *et al.* (1997). Menuliskan *Rhizopus* adalah jenis kapang yang mampu membentuk  $\beta$ -carotene.



Dalam penelitian ini, perubahan warna yang terjadi menunjukkan adanya aktivitas fermentasi oleh jamur *Rhizopus* sp. Selama proses fermentasi *Rhizopus* sp. mensintesa  $\beta$ -carotene dan dilepaskan ke media, sehingga media berubah warna dari putih menjadi kuning. Peristiwa ini pada *R. oryzae* terjadi terus menerus hingga fermentasi 24 jam. Namun tidak demikian pada fermentasi dengan *R. oligosporus*.

Setelah fermentasi berjalan selama 24 jam, tahu yang difermentasi dengan *R. oligosporus* warnanya tidak lagi kuning, tetapi berubah menjadi kecoklatan. Hal ini menunjukkan adanya peristiwa hidrolisis protein menjadi ikatan peptida oleh enzim protease, menghasilkan gugus amina, yang dapat bereaksi dengan gugus aldehid atau keton dan menghasilkan warna kecoklatan. Hal ini sesuai dengan laporan Subagio *et al.* (2002), yaitu selain adanya  $\beta$ -carotene, proses perubahan warna pada fermentasi oleh *Rhizopus* sp. juga disebabkan adanya proses hidrolisis protein menjadi ikatan peptida oleh enzim protease. Hasil hidrolisis adalah gugus amina, yang selanjutnya bereaksi dengan gugus aldehid atau keton dan menghasilkan warna kecoklatan. Warna kecoklatan nampak pada fermentasi oleh *R. oligosporus* setelah 24 jam, dan belum nampak pada fermentasi dengan *R. oryzae* selama 24 jam. Ini membuktikan bahwa *R. oligosporus* memiliki kemampuan menghidrolisis protein lebih cepat dibanding *R. oryzae*, atau *R. oligosporus* lebih aktif melakukan fermentasi dibanding dengan *R. oryzae*.

## 2. Rongga-Rongga pada Tahu

Selain terjadi perubahan warna, pada proses fermentasi tahu juga timbul adanya rongga-rongga. Pada fermentasi oleh *R. oryzae* rongga-rongga mulai nampak pada saat fermentasi 18 jam, dan bertambah banyak pada fermentasi 24 jam. Sedangkan pada fermentasi oleh *R. oligosporus* rongga-rongga kecil sudah mulai nampak pada fermentasi 12 jam, dan semakin bertambah banyak seiring dengan lama fermentasi. Rongga-rongga ini terbentuk karena protein yang mula-mula tersebar merata pada cairan sari kedelai, mulai menggumpal.

Pada awalnya baru sedikit protein yang terkoagulasi, sehingga memiliki berat molekul yang ringan, dan masih dapat tersebar pada wadah fermentasi. Akibatnya, terbentuk rongga-rongga yang hanya kecil. Peristiwa ini terjadi pada fermentasi *R. oligosporus* setelah 12 jam fermentasi. Selanjutnya, setelah waktu fermentasi oleh *R. oligosporus* berlangsung selama 18 jam, protein yang terbentuk semakin banyak, protein ini membentuk gumpalan yang lebih besar, dengan berat molekul yang besar, sehingga cenderung mengendap, dan terbentuk rongga-rongga yang lebih besar.

Pada proses produksi tahu yang dilakukan di pabrik tahu, penggumpalan protein yang terjadi disebabkan karena sari kedelai diberi tambahan asam sebagai koagulan. Asam yang diberikan misalnya asam cuka, atau cairan tahu yang telah dieramkan selama semalam. Selanjutnya, asam ini bereaksi dan berikatan dengan protein yang terdapat pada bahan tahu tersebut, dan bersama lipid membentuk gumpalan (Santoso, 1993, dalam Suhaidi,

2003). Bahan koagulan sangat menentukan kualitas tahu. Semakin bagus koagulan, makin banyak protein yang terikat, sehingga randemen yang dihasilkan juga banyak (Suprapti, 2005).

Pada penelitian ini diperoleh hasil koagulasi oleh *R. oligosporus* lebih cepat membentuk tahu padat dibandingkan fermentasi oleh *R. oryzae*. *R. oryzae* membutuhkan waktu 18 jam untuk membentuk tahu, sedangkan *R. oligosporus* hanya membutuhkan waktu 12 jam, untuk menggumpalkan sari kedelai menjadi tahu. Hal ini sesuai dengan laporan Sapuan dan Sutrisno (1997), *R. oligosporus* memiliki kecepatan hidrolisis protein lebih tinggi dibanding *R. oryzae*. Dengan adanya protein hasil hidrolisat ini, maka akan terbentuk gumpalan-gumpalan, dan kemudian gumpalan ini mengendap membentuk tahu.

### 3. Peningkatan Kadar Air dan Kepadatan Tahu

Akibat gumpalan-gumpalan yang terbentuk selama proses fermentasi terdapat daerah yang tidak berisi massa protein. Daerah ini tidak kosong tetapi berisi air. Adanya air ini tidak hanya dapat dilihat dari rongga-rongga yang muncul, tetapi juga dari adanya pengembunan yang terlihat pada tutup wadah fermentasi.

Pada fermentasi dengan *R. oligosporus*, terbentuknya air dan uap air pada tutup wadah fermentasi terjadi pada fermentasi 12 jam, dan kadar air semakin meningkat sampai fermentasi 24 jam. Seiring dengan adanya air dan

timbulnya uap air pada tutup wadah, sari kedelai juga berubah menjadi padat. Tetapi tidak demikian dengan fermentasi oleh *R. oryzae*. Pembentukan air yang terjebak dalam rongga-rongga terlihat pada fermentasi 18 jam, dan terus meningkat hingga 24 jam fermentasi. Terbentuknya padatan sari kedelai juga baru terlihat pada fermentasi 18 jam. Ini menunjukkan *R. oligosporus* melakukan fermentasi tahu lebih cepat dibanding *R. oryzae*.

Dalam proses pembuatan tahu yang dilakukan di pabrik, kadar air yang tinggi dapat dihilangkan dengan cara dikempa menggunakan cetakan tahu dari kayu yang dilapisi kain belacu (Suprapti, 2005).

Pada fermentasi tahu dengan *R. oligosporus* menghasilkan banyak gumpalan protein, dan terlihat tahu yang lebih padat, dibandingkan fermentasi dengan *R. oryzae*. Hal ini sesuai dengan pendapat Suhaidi (2003), semakin banyak gumpalan yang terbentuk, berarti semakin banyak pula protein yang terjebak didalamnya, sehingga akan menghasilkan randemen yang banyak.

#### 4. Bau asam

Tahu yang difermentasi oleh *Rhizopus* sp. ini memiliki bau yang asam. Bau asam timbul karena adanya penurunan pH sari kedelai. Bau asam dapat diamati oleh indera pada fermentasi 18 jam, baik oleh *R. oryzae*, maupun *R. oligosporus*. Pengamatan pH sari kedelai dengan menggunakan pH meter terlihat pada tabel 5 berikut ini

Tabel 5 : pH sari kedelai yang difermentasi *Rhizopus sp.*

Lama fermentasi	pH	
	<i>Rhizopus oryzae</i>	<i>Rhizopus oligosporus</i>
6 jam	5,81	5,86
12 jam	5,52	5,61
18 jam	5,31	5,44
24 jam	5,53	5,47

Pada tabel 5 terlihat fermentasi oleh *Rhizopus sp* akan menghasilkan produk yang memiliki Ph berkisar pada angka 5. Ini sesuai dengan laporan Sapuan dan Sutrisno, (1997), Penurunan pH pada media fermentasi dapat terjadi hingga pH media mencapai 4.5 – 5,3 , dan perubahan pH ini mengakibatkan kapang tumbuh dengan baik, dan terjadilah proses fermentasi.

Hidayat, (2009), melaporkan pada proses fermentasi tempe, penurunan pH dimulai pada proses perendaman kedelai. Proses perendaman memberikan kesempatan tumbuh kepada bakteri-bakteri asam laktat sehingga menurunkan pH biji kedelai. Penurunan pH ini dapat menghambat tumbuhnya bakteri kontaminan yang bersifat pembusuk. Selain itu, penurunan pH mengakibatkan kapang dapat melakukan fermentasi dengan baik.

Selanjutnya pada saat fermentasi berlangsung, *Rhizopus sp* akan menghasilkan asam laktat, dan menyebabkan pH sari kedelai menurun. Penurunan pH ini mengakibatkan protein pada kedelai mengalami penggumpalan atau koagulasi (Gaman, 1992). Pada proses fermentasi tahu,

penggumpalan ini mengakibatkan protein tahu yang semula tersebar, menjadi saling berikatan satu dengan yang lain sehingga terbentuk tahu.

Pada penelitian ini penurunan derajat keasaman paling tajam terjadi pada fermentasi 18 jam. Bau asam dapat diamati bahkan hanya dengan indera penciuman. Ini menunjukkan aktifitas koagulasi optimum pada fermentasi *Rhizopus sp.* 18 jam.

## **B. Analisa Kromatografi Gas**

### **1. Puncak-Puncak Grafik**

Uji kandungan asam linoleat dan linolenat dilakukan dengan metode kromatografi gas, dengan menggunakan etanol sebagai pelarut, dan menggunakan Flame Ionic Detector (FID) sebagai detektor. Penggunaan Kromatografi gas dapat dilakukan pada sampel yang membutuhkan suhu tinggi untuk menguap, misalnya asam lemak. Hasil yang diperoleh berupa grafik yang memiliki puncak-puncak (hasil penelitian ini terlampir).

Dari pengamatan grafik analisa kandungan tahu yang difermentasi *Rhizopus sp.* alat kromatografi gas dapat mendeteksi 3 puncak yang dominan. Berdasarkan perbandingan dengan standart, maka dapat dipastikan puncak pertama adalah asam linoleat, dan puncak yang ke dua adalah asam linolenat. Sedangkan puncak ke tiga adalah suatu senyawa yang terbentuk dari hasil oksidasi asam linolenat. Diduga senyawa ke tiga ini adalah asam arakhidonat. Hal ini sesuai dengan pendapat deMan (1997), asam linoleat akan mengalami

oksidasi menjadi asam linolenat, selanjutnya asam linolenat mengalami oksidasi menjadi asam arakhidonat. Proses oksidasi ini sangat dipengaruhi oleh suhu dan intensitas cahaya. Semakin tinggi suhu dan semakin besar intensitas cahaya, semakin cepat terjadi oksidasi.

Tinggi puncak-puncak yang terbentuk pada grafik percobaan ini menunjukkan konsentrasi zat yang diuji pada sampel, dalam penelitian ini menunjukkan kadar asam linoleat dan linolenat. Kadar linoleat dan linolenat ini dapat dilihat dalam table 6.

Tinggi puncak dari dasar grafik menunjukkan waktu retensi. Menurut Rohman, A. dkk.(2007), waktu retensi adalah waktu yang diperlukan untuk memisah, dan kemudian menguap, keluar dari kolom. Waktu retensi yang lama menunjukkan, bahan tersebut membutuhkan suhu yang tinggi untuk memisah. Suhu yang tinggi diperlukan untuk melakukan pemisahan bahan yang memiliki banyak ikatan rantai ganda. Jadi semakin lama waktu retensi menunjukkan bahwa zat tersebut memiliki ikatan rangkap yang lebih banyak.

Waktu retensi juga dapat menunjukkan kecepatan gerak molekul. Dalam percobaan ini waktu retensi digunakan untuk membandingkan kecepatan gerak molekul standard, dengan kecepatan gerak molekul sampel. Pada penelitian ini waktu retensi standard adalah 8,80 menit untuk asam linoleat, dan 11,0 untuk asam linolenat. Sedangkan waktu retensi sample dapat dilihat seperti tabel berikut :

Tabel 6. : waktu retensi tahu fermentasi *Rhizopus sp*

Lama fermentasi	Puncak	<i>Rhizopus oryzae</i>		<i>Rhizopus oligosporus</i>	
		Waktu retensi (menit)	Tinggi puncak	Waktu retensi (menit)	Tinggi puncak
6 jam	1	8,998	1487980	8,983	8681484
	2	10,873	3561719	10,847	2593481
	3	11,029	604055	10,907	708088
12 jam	1	8,996	1513297	8,987	1077314
	2	10,885	4157405	10,862	3169875
	3	11,031	646773	11,022	466356
18 jam	1	8,990	1390400	9,009	2175045
	2	10,873	3711272	10,928	5733475
	3	11,027	619996	11,051	1090065
24 jam	1	8,991	1283842	9,014	2484471
	2	10,873	3582183	10,941	6473468
	3	11,026	573739	11,060	1268570

Dari tabel 6 di atas menunjukkan analisis dengan kromatografi gas ini berjalan baik, yang ditunjukkan dengan waktu retensi yang mendekati standard, dan jarak waktu satu dengan yang lain terlihat perbedaan.



## 2. Kandungan asam linoleat dan linolenat

Hasil analisa kandungan asam linoleat dan linolenat dengan menggunakan kromatografi gas dapat dilihat pada tabel 7 berikut :

Tabel 7: Kandungan Asam linoleat dan Linolenat pada Tahu

No	Nama Sample	Kandungan (%)	
		Asam linoleat	Asam linolenat
1	Tahu kontrol	0,05	0,03
2	<i>R. oryzae</i> 6 jam	0,26	0,14
3	<i>R. oryzae</i> 12 jam	0,10	0,05
4	<i>R. oryzae</i> 18 jam	0,09	0,06
5	<i>R. oryzae</i> 24 jam	0,07	0,04
6	<i>R. oligosporus</i> 6 jam	0,06	0,04
7	<i>R. oligosporus</i> 12 jam	0,07	0,05
8	<i>R. oligosporus</i> 18 jam	0,12	0,07
9	<i>R. oligosporus</i> 24 jam	0,14	0,08

Dari tabel 7 terlihat tahu kontrol, yang dibuat dengan menggunakan asam cuka sebagai koagulan, memiliki kandungan asam linoleat dan linolenat masing-masing sebesar 0,05 % dan 0,03 %. Sedangkan kandungan asam linoleat dan linolenat pada tahu dengan koagulan *Rhizopus* sp. lebih tinggi. Diduga asam linoleat dan linolenat yang ada pada tahu ini merupakan asam linolenat dan linoleat yang sudah ada pada kedelai. Ini sesuai dengan laporan Iskandar, Y. (2004), kedelai merupakan sumber asam linoleat.

Proses pembuatan tahu yang beredar dipasaran, biasanya menggunakan asam cuka, atau sisa air tahu kemarin yang dieramkan semalam, dan tanpa mengalami fermentasi. Asam cuka akan bereaksi dengan protein, mengakibatkan terjadinya penggumpalan protein, dan terbentuk tahu. Perubahan dari sari kedelai menjadi tahu ini berlangsung kira-kira selama 90 menit.

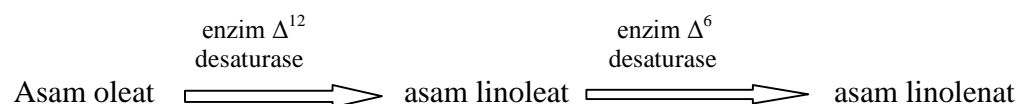
Sedangkan pada pembuatan tahu yang menggunakan *Rhizopus* sp. terjadi perubahan sari kedelai menjadi tahu yang padat secara perlahan-lahan. Perubahan ini terjadi secara enzimatik, sehingga terbentuk zat baru. Misalnya perubahan dengan enzim lipase, mengakibatkan terbentuknya asam lemak linoleat dan linolenat (Pawiroharsono, S.1997).

### **3. Fermentasi tahu oleh *Rhizopus oryzae***

Pada 6 jam pertama fermentasi dengan *R. oryzae*, tahu memiliki kandungan asam linoleat dan linolenat yang paling tinggi, setelah itu terjadi kecenderungan menurun. Hal ini terjadi karena pada awal fermentasi *R. oryzae* akan mensintesis asam linoleat yang tinggi, setelah itu asam lemak ini diubah

menjadi asam linolenat. Asam linoleat berasal dari asam oleat yang merupakan hasil hidrolisis lemak oleh enzim lipase pada saat proses fermentasi. Hal ini sesuai dengan teori Teng *et al.* (2008), bahwa *Rhizopus* memproduksi lipase, selama proses fermentasi berlangsung. Lipase ini berfungsi melakukan aktivitas hidrolisis, namun sekaligus juga mensintesis. Pada mulanya asam lemak yang terbentuk adalah asam oleat, namun selanjutnya asam ini akan mengalami desaturasi menjadi asam linoleat, dan diubah lagi menjadi asam linolenat (Styme and Stobart, 1986).

Jamur dari kelas Zygomycetes memiliki enzim desaturase, yaitu enzim yang mampu mengubah asam oleat hasil hidrolisis lemak oleh lipase, menjadi asam linoleat dan linolenat (Suharyanto *et al.* 2006). Pada awal tahap hidrolisis lemak terbentuk asam linoleat, selanjutnya asam ini mengalami penambahan ikatan rangkap, menjadi asam linolenat (Harper *et al.* 1979). Reaksi desaturasi asam lemak merupakan reaksi berantai. Asam oleat diubah menjadi asam linoleat dengan bantuan enzim  $\Delta^{12}$  desaturase, selanjutnya asam linoleat diubah menjadi asam linolenat dengan bantuan enzim  $\Delta^6$  desaturase (Suharyanto *et al.* 1986). Secara ringkas perubahan asam linoleat menjadi linolenat dapat dituliskan sebagai berikut:



Gambar 4: Skema perubahan asam linoleat menjadi linolenat

Pada fermentasi *R. oryzae* 12 jam dan seterusnya, asam linoleat tidak terbentuk lagi tetapi telah diubah menjadi asam linolenat, sehingga jumlah linoleat berangsur-angsur menurun, diikuti dengan penurunan kadar asam linolenat. Kecenderungan menurunnya asam linoleat dan linolenat ini berlangsung terus menerus, pada fermentasi 18 jam, hingga fermentasi 24 jam. Ini menunjukkan waktu optimum pembentukan asam linoleat dan linolenat pada tahu yang difermentasi dengan *R. oryzae* adalah 6 jam, dan selanjutnya pembentukan asam linoleat berhenti, dan asam linoleat mengalami hidrolisis menjadi asam linolenat.

Pembentukan asam linoleat, diduga disebabkan beberapa faktor, antara lain :

**a. Suhu**

Purwoko, dkk. (2001) melaporkan terjadinya peningkatan suhu pada fermentasi tempe kedelai oleh kapang *Rhizopus* sp. Menurut Suharyanto *et al* (2006), peningkatan suhu pada proses fermentasi dapat menghambat aktivitas enzim desaturase, sehingga pembentukan asam lemak tak jenuh menurun. Sedangkan de Man (1997), juga melaporkan proses oksidasi asam linoleat dan linolenat sangat dipengaruhi oleh suhu dan intensitas cahaya. Semakin tinggi suhu, proses pembentukan asam lemak akan semakin menurun.

Pada penelitian ini, fermentasi oleh *R. oryzae* dilakukan pada suhu kamar (25°C -26 °C). Pada suhu ini pembentukan asam lemak terjadi secara normal. Selanjutnya, seiring dengan terjadinya fermentasi terjadi pula peningkatan suhu.

Akibatnya, proses pembentukan asam linoleat semakin menurun, dan diikuti pula penurunan asam linolenat.

#### **b. Kadar air**

Kadar air akan mempengaruhi kerja enzim lipase. Kadar air yang tinggi, enzim lipase akan menghidrolisis lemak menjadi gliserol dan asam lemak. Sedangkan pada kadar air yang rendah, akan terbentuk alkohol atau ester lainnya (Suharyanto, 2006). Pada penelitian ini media yang digunakan adalah sari kedelai yang berbentuk cair, sehingga kadar air cukup tinggi, dan mengakibatkan aktivitas enzim lipase menghidrolisis lemak dapat berjalan baik.

Suharyanto (2006), juga melaporkan, kadar air yang terlalu tinggi akan mempengaruhi kelarutan oksigen. Pada awal proses fermentasi air yang tersedia adalah air yang terdapat dalam media. Air ini mempercepat pembentukan asam lemak linoleat, dan linolenat. Selanjutnya, media mendapatkan tambahan air dari proses fermentasi (Purwoko, 2002). Meningkatnya kadar air pada tahu dapat dilihat dari munculnya rongga-rongga pada tahu, dan juga dari adanya uap air pada tutup wadah fermentasi. Akibatnya kelarutan oksigen menjadi berkurang, dan pembentukan asam linoleat juga menurun.

#### **c. Oksigen**

Mikroorganisme aerob dan anaerob fakultatif membutuhkan oksigen pada proses desaturasi asam lemak. Aerasi dapat meningkatkan kelarutan oksigen sehingga meningkatkan derajat ketidakjenuhan asam lemak yang diproduksi (Suharyanto, 2006). Pada penelitian ini, pada awal fermentasi kandungan oksigen

dalam media tinggi, tetapi setelah beberapa saat terjadi fermentasi, maka kandungan oksigen semakin menurun, sehingga pembentukan asam linoleat juga menurun.

#### 4. Fermentasi tahu oleh *Rhizopus oligosporus*

Pada fermentasi tahu yang menggunakan *R. oligosporus*, terjadi kecenderungan yang berbeda dengan fermentasi yang menggunakan *R. oryzae*. Pada fermentasi selama 6 jam, terbentuk asam linoleat dan linolenat yang paling kecil jumlahnya. Ini menunjukkan fermentasi sudah mulai aktif, *R. oligosporus* sudah mulai mengeluarkan enzim lipase pada 6 jam fermentasi.

Selanjutnya, pada fermentasi 12 jam, kandungan asam linoleat mengalami peningkatan, dan diikuti dengan asam linolenat. Ini membuktikan, pada fermentasi 12 jam, enzim lipase masih aktif bekerja menghasilkan asam linoleat. Selain terjadi pembentukan asam linoleat, juga terjadi hidrolisis asam linoleat menjadi linolenat. Sifat ini sangat berbeda dengan fermentasi jamur *R. oryzae*, karena aktivitas enzim lipase pada fermentasi *R. oryzae* 12 jam sudah tidak lagi menghasilkan asam linoleat.

Jika diperhatikan pada table 7, fermentasi oleh *R. oligosporus* selama 18 jam, aktivitas fermentasi terlihat semakin kuat, produksi asam linoleat semakin banyak. Kecepatan reaksi dari asam linoleat menjadi linolenat, lebih kecil dibanding kecepatan reaksi pembentukan asam linoleat. Akibatnya kandungan asam linoleat terjadi peningkatan yang lebih besar dibanding asam linolenat. Tetapi hal ini tidak berlangsung lama, karena pada aktivitas fermentasi jam ke 24,

pembentukan asam linoleat meskipun mengalami peningkatan, tapi tidak sebanyak pada fermentasi 18 jam.

Peningkatan asam linoleat dan linolenat yang terjadi terus menerus seiring dengan waktu fermentasi. Hal ini sesuai dengan pendapat Sapuan dan Sutrisno (1997), *R. oligosporus* memiliki aktivitas enzim lipase yang lebih tinggi dibanding *R. oryzae*, sehingga mampu menghasilkan asam lemak yang lebih banyak. Selain itu *R. oligosporus* dapat melakukan fermentasi kedelai dan menghasilkan tempe yang sempurna dalam waktu yang lebih singkat. Steinkrause, *et al.*, dalam Sapuan dan Sutrisno (1997), melaporkan *R. oryzae* membutuhkan waktu 48 jam untuk menghasilkan tempe yang sempurna, sedangkan *R. oligosporus* hanya membutuhkan waktu 24 – 36 jam untuk menghasilkan tempe yang sempurna. Sementara itu, Ariani, (2003) melaporkan *R. oligosporus* aktif melakukan fermentasi hingga jam ke 48.

Dengan kemampuannya melakukan aktivitas fermentasi yang lama, maka *R. oligosporus* akan mampu melakukan metabolisme terhadap berbagai zat, diantaranya asam linoleat, sehingga terbentuk asam linoleat yang tinggi. Selanjutnya ketika masih aktif melakukan fermentasi, asam linoleat sebagian telah diubah menjadi asam linolenat. Akibatnya, pada fermentasi menggunakan *Rhizopus oligosporus* kandungan asam linoleat cenderung meningkat, sementara asam linolenat juga meningkat.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. *R. oryzae* dan *R. oligosporus* memiliki potensi untuk dipergunakan sebagai koagulan dalam pembuatan tahu.
2. Waktu optimum untuk melakukan koagulasi *R. oryzae* adalah 18 jam *R. oligosporus* adalah 12 jam.
3. Tahu yang dibuat dengan menggunakan *R. oryzae* dan *R. oligosporus* sebagai koagulan memiliki kandungan asam linolenat dan linoleat yang lebih tinggi dari pada tahu yang menggunakan asam cuka sebagai koagulan.
4. Asam linoleat dan linolenat tertinggi diperoleh :
  - a. *R. oryzae* pada fermentasi 6 jam ( 0,26% dan 0,14%), setelah itu asam linoleat dan linolenat cenderung mengalami penurunan, seiring dengan lama fermentasi.
  - b. *R. oligosporus* pada fermentasi 24 jam (0,14% dan 0,08%)



## B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang zat-zat gizi selain asam linoleat dan linolenat, maupun zat-zat anti gizi yang terjadi pada proses pembuatan tahu yang menggunakan *R. oryzae* dan *R. oligosporus* sebagai koagulan.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang keunggulan tahu yang menggunakan *R. oryzae* dan *R. oligosporus* sebagai koagulan, diantaranya kandungan isoflavon, asam amino essensial, vitamin, karoten, dan sebagainya
3. Anggota jamur ordo Mucorales memiliki banyak anggota selain *R.oryzae* dan *R. oligosporus*. Kemungkinan jamur-jamur itu juga memiliki potensi sebagai koagulan dalam pembuatan tahu, dan menghasilkan zat gizi yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Untuk itu perlu penelitian lebih lanjut tentang anggota ordo Mucorales yang lain, yang memiliki kemampuan sama dengan *R.oryzae* dan *R. oligosporus*.
4. Perlu dilakukan sosialisasi kepada masyarakat tentang kemampuan *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus* sebagai koagulan dalam pembuatan tahu, dan juga sebagai penghasil asam linoleat dan linolenat.