

Pengaruh teknik pemanasan terhadap kadar asam fitat dan aktivitas antioksidan koro benguk (*Mucuna pruriens*), koro glinding (*Phaseolus lunatus*), dan koro pedang (*Canavalia ensiformis*)

The effect of the heating technique on phytic acid content and antioxidant activity of velvet bean (*Mucuna pruriens*), butter bean (*Phaseolus lunatus*), and jack bean (*Canavalia ensiformis*)

DIAN SRI PRAMITA, SRI HANDAJANI, DIAN RACHMAWANTI

Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 7 Agustus 2008. Revisi disetujui: 31 Agustus 2008.

Abstract. Pramita DS, Handajani S, Rachmawanti D. 2008. The effect of the heating technique on phytic acid content and antioxidant activity of velvet bean (*Mucuna pruriens*), butter bean (*Phaseolus lunatus*), and jack bean (*Canavalia ensiformis*). *Biofarmasi* 6: 36-44. Koro is a kind of local bean which has many varieties. The nutrition of koro is not different from soy, especially carbohydrates and protein, which are high enough and have a low-fat content. However, koro also contains some harmful compounds, including, HCN which is poisoned, and phytic acid, an antinutritional compound. Besides being an antinutritional compound, phytic acid has a positive role, i.e., an antioxidant. Besides phytic acid, a legume also contains phenol and vitamin E compounds with antioxidant activity. This research aimed to determine the contents of phytic acid and antioxidant activity and determine the effect of the heating technique on phytic acid and antioxidant activity of velvet bean, butter bean, and jack bean. The materials used were velvet bean, butter bean, and jack bean obtained from Batuwarno, Wonogiri, Central Java. This research used a Completely Randomized Design (CRD) with five kinds of treatment; each treatment consisted of three replications. The treatments given were soaking for 3 days (P₁), steaming (P₂), boiling (P₃), and pressure cooker (P₄), which compared to a raw bean without heating treatment (P₀). The investigated factors were phytic acid and antioxidant activity (DPPH Radical Scavenging Ability method). This research showed that the phytic acid content of velvet bean, butter bean, and jack bean from the treatment of P₀, P₁, P₂, P₃, and P₄ were degraded. The phytic acid of velvet bean of P₀, P₁, P₂, P₃, and P₄ treatment were 10.87, 8.94, 4.56 and 1.72 and 1.46 mg/db, respectively; on butter bean were 11.78, 8.75, 4.77, 1.73 and 1.61 mg/db, respectively; while on jack bean were 9.04, 1.99, 1.39, 1.42 and 1.21 mg/db. The result of variance analysis showed the phytic acid content was significantly different (p<0.05). The antioxidant activity increased from P₀ to P₁, then the degradation process at P₂, P₃, and P₄. Antioxidant activity at velvet bean were 74.10%, 86.49%, 84.73%, 83.59% and 79.51%, respectively; at butter bean were 4.5%, 7.19%, 6.07%, 6.30% and 6.28%, respectively; at jack bean were 14.64%, 8.55%, 5.84%, 5.17% and 3.58%. The result of variance analysis showed antioxidant activity at velvet bean, and jack bean was significant, while at butter bean for P₁, P₂, P₃, and P₄ were not significant. This research concluded that heating techniques affected the degradation of phytic acid at all kinds of beans used and affected the antioxidant activity at velvet bean and jack bean.

Keywords: Antioxidant activity, heating technique, koro, phytic acid

PENDAHULUAN

Kacang-kacangan merupakan sumber protein dan minyak makan, serta memiliki komponen atau golongan senyawa dengan fungsi fisiologis tertentu sebagai pangan fungsional. Golongan senyawa alami di luar zat gizi dasar yang terkandung dalam bahan pangan yang bersangkutan, yang dianggap sebagai komponen pangan fungsional antara lain serat pangan (*dietary fiber*), oligosakarida, gula alkohol (*polyol*), asam lemak tidak jenuh jamak (*polyunsaturated fatty acids/PUFA*), peptida dan protein tertentu, glikosida, isoprenoid, polifenol, isoflavon, kolin, lesitin, bakteri asam laktat, fitosterol, vitamin, dan mineral tertentu. Adanya potensi yang cukup besar tersebut mendorong usaha untuk mengolah kacang-kacangan menjadi berbagai produk bernilai ekonomi tinggi. Kacang-kacangan selain dikonsumsi dalam bentuk aslinya, misalnya melalui proses penggorengan dan perebusan,

dapat juga dikonsumsi dalam bentuk lain, sebagai contoh tahu dan susu kedelai sebagai hasil olahan kedelai, tempe sebagai hasil fermentasi kedelai, dan taoge sebagai hasil perkecambahan kacang. Jenis kacang yang lain telah dicoba sebagai bahan baku pembuatan tempe maupun taoge. Koro benguk (*Mucuna pruriens*), gude (*Cajanus cajan*), dan koro putih (*Phaseolus lunatus*) telah dicoba untuk diolah menjadi tempe yang kemudian dilakukan pengujian terhadap perubahan aktivitas enzim fitase selama proses pengolahan (Mahendradatta 2002). Koro-koroan merupakan salah satu jenis kacang-kacangan lokal yang memiliki beragam varietas dan biasa digunakan sebagai bahan baku pengganti kedelai dalam pembuatan tempe. Kandungan gizi koro tidak kalah dengan kedelai yaitu karbohidrat dan protein yang cukup tinggi serta kandungan lemak yang rendah. Tetapi, koro juga mengandung beberapa senyawa merugikan yaitu glukosianida yang bersifat toksik dan asam fitat yang merupakan senyawa

antigizi. Menurut Kanetro dan Hastuti (2003), senyawa antinutrisi yang sering terdapat pada kacang-kacangan antara lain enzim lipoksigenase, tripsin inhibitor, asam fitat, oligosakarida, senyawa glikosida, dan sianida. Komposisi zat gizi utama berupa protein, karbohidrat, dan lemak yang terkandung pada beberapa jenis kacang disajikan pada Tabel 1.

Sejauh ini, keberadaan sebagian besar asam fitat dalam bahan makanan tidak dikehendaki. Hal ini dikarenakan kandungan asam fitat dalam bahan makanan membentuk kompleks dengan mineral-mineral penting dan/atau dengan protein. Banyak dari kompleks tersebut tidak larut dan menyebabkan mineral-mineral yang terikat tidak tersedia secara biologis bagi tubuh pada kondisi fisiologis tertentu. Pada umumnya, hasil penelitian-penelitian sebelumnya memperlihatkan bahwa asam fitat menghambat bio-availabilitas zat besi makanan akibat terbentuknya kompleks. Semakin tinggi kandungan asam fitat dalam bahan makanan, semakin sedikit jumlah zat besi yang dapat diserap oleh tubuh (Alsuhendra 2005). Dari uraian tersebut dapat diketahui dampak negatif asam fitat terhadap kesehatan yaitu kemampuannya dalam mengikat mineral dan protein yang menyebabkan nilai kecernaannya dalam tubuh menjadi rendah.

Pengolahan koro pada umumnya diawali dengan perendaman untuk menghilangkan kandungan sianida, karena kadar sianida pada biji koro yang relatif tinggi. Setelah perendaman biasanya diikuti dengan pemasakan. Oleh karena kandungan karbohidrat yang tinggi menyebabkan koro memiliki tekstur yang keras, sehingga pemasakan dilakukan agar teksturnya menjadi lunak.

Banyak usaha telah dilakukan untuk mengurangi kadar asam fitat agar diperoleh bahan makanan dengan kadar asam fitat seminimal mungkin, antara lain dengan perendaman, perebusan, pengukusan, dan fermentasi. Selama perendaman biji mentah akan terjadi peningkatan aktivitas enzim fitase, sehingga pemecahan fitat berlangsung. Selain itu, dalam proses tersebut juga akan terjadi pelarutan fitat ke dalam air rendaman, sedangkan perendaman biji rebus dalam air akan menyebabkan penurunan fitat yang relatif besar (Sudarmadji dan Markakis 1978). Beal dan Mehta (1985) menjelaskan bahwa perendaman yang diikuti dengan pemanasan akan menyebabkan kadar asam fitat berkurang sekitar 13%.

Selain bersifat sebagai senyawa antinutrisi, asam fitat memiliki pengaruh positif bagi kesehatan yaitu sebagai antioksidan, dimana antioksidan berfungsi untuk menangkal radikal bebas maupun senyawa nonradikal yang dapat menimbulkan oksidasi pada biomolekuler seperti protein, karbohidrat, dan lipid.

Asam fitat bersifat stabil dan berpotensi sebagai *chelating agent* yang mampu mengikat ion besi dan dapat meningkatkan energi aktivasi pada reaksi inisiasi. Senyawa pengikat logam (*chelator*) dalam bentuk berikatan dengan besi dapat dikatakan memiliki aktivitas sebagai antioksidan sekunder, karena oksidasi dapat distabilkan oleh ion logam (Jadhav et al. 1993). Asam fitat dapat berperan sebagai fitonutrien yang memiliki pengaruh antioksidan. Asam fitat dapat mengikat beberapa mineral, sehingga berpotensi mencegah kanker kolon dengan mengurangi stres oksidatif

pada lumen usus. Pengaruh pengikatan asam fitat mampu mengurangi, menghalangi, atau bahkan menghilangkan beberapa jenis kanker dengan menghilangkan mineral, khususnya Fe, yang dibutuhkan oleh sel kanker untuk proses pembelahan.

Koro-koroan di daerah Surakarta, khususnya di Wonogiri, memiliki beragam jenis. Terdapat 23 jenis tanaman yang dikenal oleh para petani sebagai koro. Jenis-jenis koro yang ditemukan di daerah tersebut diantaranya koro uceng, legi, glinding, benguk putih, benguk rawe, benguk rase, benguk ceplis, benguk arab, gajih, loke, pedang, beton, ireng, cipir, cipir welut, mangsi, cecak, eblek, plenth, ijo, gude, lucu, dan urang. Dari 23 jenis koro tersebut, koro-koroan yang polong mudanya sering dimanfaatkan sebagai bahan sayur adalah koro uceng, legi, glinding, benguk putih, gajih, pedang, beton, cipir, cipir welut, cecak, eblek, plenth, ijo, gude, dan lucu, sedangkan polong tua yang dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan tempe adalah koro benguk putih, koro glinding, dan koro pedang (Widianarko et al. 2003). Oleh karena ketiga jenis koro tersebut biasa dimanfaatkan oleh masyarakat dalam bentuk polong muda sebagai sayuran dan polong tua yang diolah menjadi tempe maka ketiga jenis koro tersebut digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini.

Sejauh ini, belum banyak penelitian tentang kadar asam fitat dan aktivitas antioksidan pada koro-koroan, baik koro mentah ataupun setelah pengolahan, sehingga dalam penelitian ini dilakukan kajian tentang pengaruh teknik pemanasan terhadap kadar asam fitat dan aktivitas antioksidan pada koro benguk, koro pedang, dan koro glinding.

Penelitian ini bertujuan untuk: (i) Mengetahui kadar asam fitat dan aktivitas antioksidan pada koro benguk (*Mucuna pruriens*), koro pedang (*Canavalia ensiformis*), dan koro glinding (*Phaseolus lunatus*), serta (ii) Mengetahui pengaruh teknik pemanasan terhadap kadar asam fitat dan aktivitas antioksidan pada koro benguk, koro pedang, dan koro glinding.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian tentang pengaruh teknik pemanasan terhadap kadar asam fitat dan aktivitas antioksidan asam fitat pada beberapa jenis koro-koroan ini dilaksanakan di Laboratorium Pangan dan Gizi, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi jenis koro-koroan, yaitu jenis koro glinding, koro pedang, dan koro benguk, masing-masing sebanyak 250 g dan diperoleh dari Batuwarno, Kabupaten Wonogiri, bahan kimia untuk analisis asam fitat, meliputi HNO_3 0,5 M, FeCl_3 , amonium tiosianat, amil alkohol, natrium fitat (Na-fitat), dan akuades, serta bahan kimia untuk analisis antioksidan dengan metode DPPH, berupa metanol atau air sebagai pelarut dan larutan DPPH 0,004%. Sementara itu,

peralatan yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain seperangkat alat untuk preparasi sampel, seperangkat alat untuk analisis kadar asam fitat, seperangkat alat untuk analisis aktivitas antioksidan, dan spektrofotometer.

Rancangan penelitian

Macam penelitian

Penelitian tentang pengaruh teknik pemanasan terhadap kadar asam fitat dan aktivitas antioksidan asam fitat pada beberapa jenis koro-koroan ini merupakan penelitian eksperimental.

Rancangan percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima macam perlakuan, setiap perlakuan terdiri dari tiga ulangan. Perlakuan (P) yang diberikan adalah perendaman 3 hari (P₁), pengukusan (P₂), perebusan (P₃), dan presto (P₄), dengan penggunaan biji mentah sebagai kontrol (P₀). Jenis koro (K) yang digunakan adalah bengkok, koro glinding, dan koro pedang (Tabel 2)

Parameter yang diamati

Kadar asam fitat

Kadar asam fitat ditentukan dengan metode Davies dan Reid (1979). Kadar fitat dalam sampel dinyatakan dalam mg/g bahan kering.

Aktivitas antioksidan

Analisis terhadap aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode *DPPH Radical Scavenging Ability*.

Cara kerja

Persiapan bahan dan sortasi

Tahap pertama dimulai dengan penyiapan tiga jenis koro, yaitu koro bengkok, koro glinding, dan koro pedang, masing-masing 250 g, dipilih yang utuh.

Perendaman

Perendaman dilakukan dengan merendam 250 g masing-masing jenis koro dalam 750 ml air bersih selama tiga hari untuk menghilangkan senyawa glukosianida

(HCN). Setiap 24 jam sekali dilakukan penggantian air agar air yang digunakan untuk merendam koro-koroan tidak jenuh.

Teknik pemanasan

Variasi teknik pemanasan meliputi pengukusan, perebusan, dan presto, masing-masing dilakukan setelah perendaman pada hari ketiga. Pengukusan, perebusan, dan presto dilakukan selama satu jam, terhitung setelah air mendidih.

Pengambilan data

Analisis kadar asam fitat

Ekstrak untuk analisis kadar asam fitat diperoleh dari 5 g sampel yang disuspensikan dalam 50 ml larutan HNO₃ 0,5 M. Suspensi tersebut diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 2 jam pada suhu ruang kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk menetapkan kadar asam fitat.

Penentuan kadar asam fitat dilakukan dengan cara 0,5 ml filtrat ditambah dengan 0,9 ml HNO₃ 0,5 ml dan 1 ml FeCl. Kemudian tabung reaksi ditutup dan direndam dalam air mendidih selama 20 menit. Setelah didinginkan, sampel ditambah dengan 5 ml amil alkohol dan 1 ml amonium tiosianat. Selanjutnya, sampel disentrifuse pada kecepatan 1500 rpm selama 10 menit. Setelah terbentuk dua lapisan, lapisan amil alkohol diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 465 nm dengan blangko amil alkohol, dilakukan 15 menit setelah penambahan amonium tiosianat. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan kurva standar Na-fitat yang diperoleh dengan cara seperti di atas.

Tabel 2. Variasi perlakuan

Jenis Koro (K)	Perlakuan (P)				
	P ₀	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
Koro bengkok (K ₁)	P ₀ K ₁	P ₁ K ₁	P ₂ K ₁	P ₃ K ₁	P ₄ K ₁
Koro glinding (K ₂)	P ₀ K ₂	P ₁ K ₂	P ₂ K ₂	P ₃ K ₂	P ₄ K ₂
Koro pedang (K ₃)	P ₀ K ₃	P ₁ K ₃	P ₂ K ₃	P ₃ K ₃	P ₄ K ₃

Tabel 1. Komposisi zat gizi utama beberapa jenis kacang setiap 100 g bahan

Jenis kacang	Protein (%)	Karbohidrat (%)	Lemak (%)	Referensi
Koro glinding	17,9-29	54,5-74,2	0,9-2,8	*
Koro pedang	23,8-27,6	45,2-56,9	2,3-3,9	*
Koro bengkok	23,4	51,5	5,7	*
Kedelai	34,9	34,8	18,6	**
Kacang hijau	22,20	62,90	1,26	**
Kacang tanah	26,00	18,60	47,50	**
Kecipir (polong muda)	1,9-4,3	1,1-1,7	0,1-3,4	***
Kecipir (biji muda)	4,6-10,7	25,6-42,1	0,7-10,4	***
Kecipir (biji tua)	29,8-39,0	23,9-42,0	15,0-20,4	***
Kacang tunggak	22,90	61,60	1,40	****
Kacang gude	17,10	70,70	1,80	*****

Sumber: * Kay (1979); ** Soesanto dan Saneto (1994); *** Cemy (1978); **** Kanetro dan Hastuti (2006); ***** Mahendradatta (2002)

Untuk pembuatan kurva standar Na-fitat, konsentrasi larutan Na-fitat yang digunakan adalah 0,025 mM, 0,05 mM, 0,075 mM, 0,1 mM, 0,125 mM, 0,15 mM, 0,175 mM, dan 0,2 mM. Kadar asam fitat dalam sampel dinyatakan dalam mg/g bahan kering.

Analisis aktivitas antioksidan

Sebanyak 0,1 g sampel diencerkan dalam 10 ml metanol, kemudian divortek selama 1 jam atau didiamkan selama semalam. Dari larutan tersebut diambil 100 µl kemudian diencerkan menjadi 5 ml. Kemudian ke dalam sampel ditambahkan 0,1 mM DPPH sebanyak 1 ml dan divortek. Selanjutnya, sampel disimpan dalam ruang gelap selama 30 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm.

Analisis data

Data hasil penelitian dianalisis dengan ANOVA uji F pada tingkat signifikansi 5%. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dari data penghitungan dan pengukuran kadar asam fitat dan aktivitas antioksidan dilakukan uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Analisis data dilakukan dengan mengaplikasikan *software* SPSS 11.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar asam fitat

Asam fitat merupakan bentuk penyimpanan fosfor yang terbesar pada tanaman serealia dan leguminosa. Asam fitat dianggap sebagai senyawa antinutrisi pada bahan pangan karena pada kondisi alami, asam fitat akan membentuk ikatan dengan mineral bervalensi dua (Ca, Mg, Fe) maupun protein menjadi senyawa yang sukar larut. Hal ini menyebabkan mineral dan protein tidak dapat diserap oleh tubuh, atau nilai cernanya rendah. Kadar asam fitat dalam suatu bahan makanan dapat ditentukan dengan metode Davies dan Reid (1979) menggunakan prinsip pengikatan ion-ion besi oleh senyawa fitat. Kompleks antara ion-ion besi dengan asam fitat tidak dapat lagi bereaksi dengan ion-ion tiosianat untuk membentuk suatu kompleks berwarna merah (Muchtadi 1989). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kadar asam fitat pada koro benguk, koro glinding, dan koro pedang dengan berbagai perlakuan pemanasan yang ditunjukkan pada Tabel 3, Gambar 5, dan Gambar 6.

Hasil analisis asam fitat menunjukkan bahwa kadar asam fitat memiliki kecenderungan mengalami penurunan dari bahan mentah hingga perlakuan perendaman, kukus, rebus, dan presto.

Proses perendaman dilakukan selama tiga hari dengan penggantian air setiap 24 jam sekali. Perendaman ini bertujuan untuk menghilangkan senyawa HCN yang bersifat beracun yang terkandung dalam kacang-kacangan, khususnya koro benguk. Dari penelitian ini, proses perendaman ternyata mampu menurunkan kadar asam fitat pada biji mentah koro benguk, koro glinding, dan koro pedang. Menurut Suhardi dan Kamarijani (1985), selama perendaman terjadi difusi yang menyebabkan kadar asam fitat pada koro menurun, karena terlarutnya asam fitat pada

air rendaman. Selama perendaman, juga terjadi penurunan pH yang disebabkan oleh fermentasi dan pengasaman oleh bakteri asam laktat (Supriyanti 1997). Perlakuan perendaman juga menyebabkan meningkatnya enzim fitase yang merupakan salah satu enzim yang dapat menghidrolisis asam fitat menjadi inositol dan orthofosfat sehingga mampu mengurangi kandungan asam fitat (Setyono 1987). Penurunan kadar asam fitat selama perendaman diduga disebabkan adanya bakteri kontaminan yang berasal dari kacang-kacangan, air rendaman, maupun dari lingkungan sekitar yang berkembang selama perendaman. Samson et al. (1987) mengidentifikasi adanya *Lactobacillus casei*, *Streptococcus jaecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloaceae*, *Bacillus brevis*, dan *Bacillus pumilus* dalam air rendaman kedelai. Dilaporkan bahwa bakteri jenis *Bacillus* sp. mempunyai aktivitas enzim fitase. Dengan demikian, turunnya kadar asam fitat selama perendaman koro-koroan selain disebabkan oleh meningkatnya enzim fitase, diduga juga disebabkan adanya aktivitas bakteri yang tumbuh selama perendaman. Pada tahap perendaman, terjadi perubahan secara kimia dan fisik. Perubahan secara kimia yaitu turunnya kadar asam fitat pada koro, sedangkan perubahan secara fisik yaitu biji menjadi lebih lunak dan lebih besar karena menyerap banyak air. Hal ini akan memperingan tahap pengolahan selanjutnya.

Dari ketiga jenis koro yang digunakan, koro pedang mengalami penurunan kadar asam fitat paling besar dari biji mentah ke perlakuan perendaman, yaitu 9,04 mg/g menjadi 1,99 mg/g apabila dibandingkan dengan koro benguk dan koro glinding. Pada koro benguk, kadar asam fitat mengalami penurunan dari 10,87 mg/g menjadi 8,94 mg/g, sedangkan pada koro glinding, kadar asam fitat menurun dari 11,78 mg/g menjadi 8,75 mg/g.

Perendaman selama tiga hari menyebabkan kulit koro pedang mengalami pengelupasan, sedangkan kulit koro benguk dan koro glinding tetap utuh. Hal inilah yang menyebabkan asam fitat pada koro pedang mengalami penurunan yang tajam setelah perendaman, karena dalam biji kacang-kacangan, asam fitat banyak terdapat pada kulit biji (Pangestuti dan Triwibowo 1996). Erdman (1979) menyatakan bahwa besarnya kadar asam fitat dan sebarannya di dalam biji tergantung pada jenis biji-bijian tersebut. Misalnya pada biji padi, sebaran asam fitat sebagian besar terdapat dalam lapisan aleuron dan perikarp, sedikit sekali yang terdapat pada lembaga dan endosperm. Berbeda dengan jenis serealia yang lain, di dalam biji jagung hampir 99% asam fitat yang dikandungnya terdapat di dalam lembaga. Di dalam biji-bijian yang berlemak, asam fitat terdapat di dalam aleuron.

Pemanasan (pengukusan, perebusan, dan perebusan dengan *pressure cooker*) yang dilakukan pada semua jenis koro yang digunakan menyebabkan kadar asam fitat menurun. Pemanasan akan lebih efektif apabila telah dilakukan perendaman sebelumnya. Pangestuti dan Triwibowo (1996) menyatakan bahwa pada perendaman biji kedelai yang diikuti dengan pemanasan cukup efektif untuk mengurangi asam fitat yaitu sebesar 13%.

Berdasarkan data kadar asam fitat yang diperoleh, dapat diketahui persentase penurunan kadar asam fitat dari biji

mentah ke perlakuan perendaman selama tiga hari, pengukusan, perebusan, dan presto. Persentase penurunan kadar asam fitat dengan berbagai perlakuan pada koro benguk, koro glinding, dan koro pedang disajikan pada Tabel 3.

Dari hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa pengukusan menyebabkan penurunan kadar asam fitat. Pangestuti dan Triwibowo (1996) menyatakan pada tahap pengukusan biji kedelai terjadi penurunan kadar asam fitat sebesar 18,4%. Hal ini berarti bahwa pengukusan, perebusan, dan pengupasan kulit kacang-kacangan mampu menurunkan kadar asam fitat. Khotimah (2002) menyatakan bahwa pada pengukusan tradisional, partikel-partikel pada bagian tepi pengukusan mengalami pemanasan lebih banyak apabila dibandingkan dengan pada bagian tengah. Pengukusan dengan air panas sangat berpengaruh terhadap zat gizi. Pangestuti dan Triwibowo (1996) menjelaskan bahwa asam fitat bersifat sangat larut dalam air serta banyak terkandung dalam kulit kacang-kacangan. Proses pengukusan mengakibatkan terjadinya absorpsi air dalam bentuk uap panas, sehingga terjadi hidrasi air, akan tetapi tidak sebanyak pada perlakuan perebusan dan presto karena air tidak mudah mengalami difusi ke dalam biji koro. Hal inilah yang menyebabkan penurunan kadar asam fitat pada proses pengukusan tidak begitu besar apabila dibandingkan dengan proses perebusan ataupun perebusan dengan *pressure cooker* (presto).

Perebusan merupakan salah satu teknik pemanasan yang lebih efektif apabila dibandingkan dengan pengukusan. Pada perebusan, terjadi hidrasi karena air mengalami difusi ke dalam biji kacang (Kanetro dan Hastuti 2006). Perebusan kacang-kacangan dapat menyebabkan beberapa perubahan kualitas, baik secara fisik, biokimia, maupun nilai gizi (Salunkhe dan Kadam 1990). Hal inilah yang menyebabkan kadar asam fitat pada koro dengan perlakuan perebusan lebih rendah dibandingkan koro dengan perlakuan pengukusan. Pangestuti dan Triwibowo (1996) menyatakan bahwa selama proses perebusan, enzim fitase yang mempunyai aktivitas optimum antara pH 5,0-5,2 dan suhu 50-52°C, mengalami inaktivasi, sehingga penurunan kadar asam fitat yang terjadi pada proses pemanasan disebabkan oleh terlarutnya asam fitat dalam air rebusan kedelai. Proses terlarutnya asam fitat dalam air rebusan disebabkan oleh adanya reaksi yang terjadi antara Na-fitat yang terkandung dalam biji dengan Ca atau Mg pektat yang tidak larut yang terdapat dalam dinding sel, khususnya di dalam kulit biji membentuk Na-pektat yang larut. Proses tersebut akan menaikkan permeabilitas biji terhadap air panas (Bhatty dan Cherdkiagumchai 1990), sehingga memudahkan fitat larut dalam air rebusan. Seperti yang diketahui bahwa asam fitat merupakan senyawa yang mudah larut dalam air (O'Dell et al. 1972).

Presto adalah pemanasan pada bahan pangan dengan menggunakan uap air bersuhu lebih tinggi dari 100°C dan dapat dilakukan dengan autoklaf, *retort*, dan lain-lain. Uap air bertekanan tinggi di atas 1 atmosfer dapat mencapai suhu 109°C. Pada tekanan 10 psi, suhu yang dihasilkan sebesar 115,5°C, sedangkan pada tekanan 15 psi, suhu yang dihasilkan sebesar 121,5°C (Fuad 1986 dalam Khotimah

2002). Pengolahan menggunakan autoklaf yang dikenal dengan istilah presto, menurut Harris dan Karnas (1989) memiliki dampak terhadap penurunan nutrisi yang tinggi apalagi untuk produk yang berbentuk cair (*liquid*). Penurunan nutrisi akibat proses pengolahan dengan autoklaf pada vitamin B1 sebesar 10%, sedangkan untuk vitamin B2 dan B6 relatif tidak terpengaruh. Pada penelitian ini, perlakuan presto merupakan perlakuan yang paling berpengaruh terhadap penurunan kadar asam fitat pada semua jenis koro yang digunakan. Hal ini sesuai dengan pendapat Kanetro dan Hastuti (2006) bahwa pemanasan kedelai menggunakan autoklaf (*pressure cooker*) pada suhu 115°C dapat menghilangkan sebagian besar asam fitat, akan tetapi menurunkan nilai gizi yang menyebabkan timbulnya rasa atau aroma (*flavor*) yang tidak diinginkan karena terjadi kerusakan asam amino akibat pemanasan yang berlebihan.

Aktivitas antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Sementara itu dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar dan Rossell 1990). Berbagai sumber nutrisi yang mengandung antioksidan diantaranya semua biji-bijian, kacang-kacangan, buah-buahan, sayuran, hati, tiram, unggas, kerang, ikan, susu, dan daging. Pengukuran aktivitas antioksidan sangat diperlukan untuk mengetahui kualitas antioksidan dan ketahanan produk selama proses pengolahan dan penyimpanan, serta implikasinya terhadap jaringan tubuh (Gordon 2001).

Pada penelitian ini, penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode *DPPH Radical Scavenging Ability (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl hydrate)*, sebagai kontrol digunakan 5 ml metanol yang ditambahkan dengan 1 ml DPPH 0,1 mm. Metode DPPH dipilih karena relatif sederhana dan efektif untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam (Blois 1958; Fagliano 1999). Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan senyawa radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang dapat diukur pada panjang gelombang 517 nm (Blois 1958). Semakin pudar warna yang dihasilkan (kuning) maka aktivitas antioksidannya semakin tinggi, begitu juga sebaliknya.

Pengaruh teknik pemanasan terhadap aktivitas antioksidan pada koro benguk, koro pedang, dan koro glinding disajikan dalam Tabel 5, Gambar 3, dan Gambar 4.

Hasil analisis aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada koro benguk dan koro glinding dengan perlakuan perendaman selama 3 hari mengalami kenaikan secara nyata. Proses perendaman berlangsung selama tiga hari, selama perendaman berlangsung perubahan warna kulit koro benguk dari abu-abu menjadi hitam pekat, sedangkan koro glinding berubah dari cokelat muda menjadi cokelat pekat. Futura et al. (2002) menyatakan bahwa kedelai berkulit hitam mengandung banyak antosianin. Apabila kadar antosianin tinggi maka

aktivitas antioksidannya besar. Purwanti (2004) menerangkan bahwa pigmen antosianin mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan tokoferol. Antosianin bersifat menyerap air dan dapat diklasifikasikan sebagai senyawa flavonoid dan fenol (Sullivan 2008). Cook dan Samman (1996) menyatakan bahwa flavonoid memperlihatkan beberapa efek biologis antara lain sebagai antibakteri. Flavonoid mampu menghalangi reaksi peroksidasi lemak dan aktivitas sistem enzim yang meliputi *cyclo-oxygenase* dan *lipooxygenase*. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan karena mampu menangkap radikal bebas dan mengikat kation divalen. Diduga pada koro benguk dan koro glinding juga mengandung antosianin yang merupakan salah satu senyawa flavonoid, sehingga menyebabkan aktivitas antioksidan pada perlakuan perendaman mengalami kenaikan.

Aktivitas antioksidan koro glinding pada perlakuan perendaman, pengukusan, perebusan, dan presto mengalami penurunan, akan tetapi penurunannya secara statistik tidak berbeda nyata. Hal ini dipengaruhi oleh karakteristik kacang-kacangan. Kacang-kacangan merupakan salah satu sumber vitamin E (tokoferol), dimana vitamin E merupakan salah satu sumber antioksidan alami (Raharjo 1999). Vitamin E merupakan vitamin yang tidak larut air serta memiliki sifat tahan terhadap pemanasan (Winarno 2002). Hal ini diduga menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan pada koro glinding yang tidak signifikan.

Aktivitas antioksidan pada koro benguk dengan perlakuan pengukusan tidak memberikan hasil yang berbeda nyata apabila dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pada koro benguk dengan perlakuan perendaman ataupun perebusan. Perlakuan presto pada koro benguk menurunkan aktivitas antioksidan secara nyata. Presto merupakan salah satu teknik pemanasan bahan pangan dengan menggunakan uap air yang bersuhu lebih dari 100°C dan dapat dilakukan dengan autoklaf, *retort*, dan lain-lain. Uap air bertekanan tinggi di atas 1 atmosfer dapat mencapai suhu 109°C. Pada tekanan 10 psi, suhu yang dihasilkan sebesar 115,5°C, sedangkan pada tekanan 15 psi, suhu yang dihasilkan sebesar 121,5°C (Fuad 1986 dalam Khotimah 2002). Pada proses presto, ketika air dipanaskan, akan terbentuk uap panas yang terperangkap dalam panci presto. Hal ini menyebabkan kandungan nutrisi banyak yang hilang, karena bahan dipanaskan dalam waktu singkat dengan air yang sedikit dan tekanan yang tinggi, sehingga mineral dan nutrisi yang lain ikut menguap selama pemanasan. Diduga pada koro benguk terdapat beberapa senyawa fenol yang tidak tahan terhadap pemanasan pada suhu tinggi, karena proses presto menggunakan suhu yang lebih tinggi dari proses pengukusan dan perebusan. Dewi (2006) menyatakan bahwa stabilitas terhadap panas dari komponen fenol yang berperan sebagai antioksidan berpengaruh terhadap aktivitas antioksidannya. Misalnya pada jus keruh *Aloe chinesis*, peningkatan suhu pemanasan menghasilkan penurunan kandungan fenol. Hal ini berkaitan dengan jenis senyawa fenol dalam *A. chinesis*, diduga beberapa senyawa diantaranya mengalami kerusakan pada suhu tinggi.

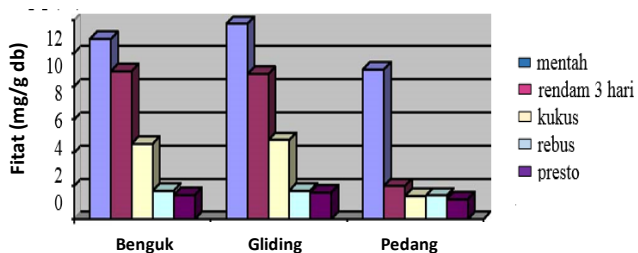
Koro pedang memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi pada kondisi biji mentah (14,64%) apabila dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Kacang-kacangan, terutama kedelai, mengandung senyawa flavonoid dan isoflavon yang memiliki aktivitas antioksidan yang diyakini memiliki sifat antikarsinogenik, antiosteoporositik, antioksidan, dan juga dapat memperbaiki sindrom menopause (Kumalaningsih 2007).

Perendaman selama tiga hari menyebabkan terjadinya pengelupasan kulit pada koro pedang, hal ini menyebabkan biji koro pedang sudah tidak terlindungi oleh kulit, sehingga sangat memungkinkan terjadinya *leaching* senyawa flavonoid. Selain pada biji koro pedang, terdapat kemungkinan pada kulit koro pedang juga terkandung senyawa flavonoid. Beberapa bahan makanan pada bagian kulitnya mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, misalnya apel yang mengandung senyawa fitokimia dan flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan pada kulit buahnya.

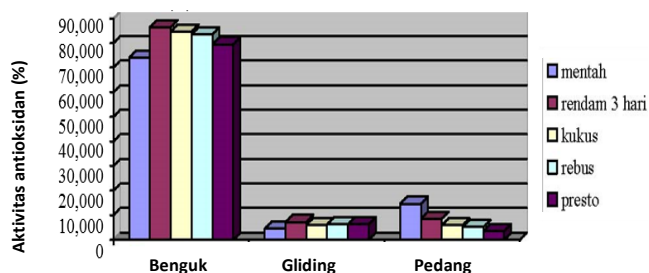
Aktivitas antioksidan pada koro pedang cenderung mengalami penurunan pada perlakuan pengukusan, perebusan, dan presto. Hal ini disebabkan karena proses pemanasan menyebabkan beberapa perubahan kualitas, baik secara fisik, biokimia, maupun komponen gizinya (Salunkhe dan Kadam 1990). Pemanasan meningkatkan laju oksidasi dan menyebabkan terjadinya degradasi beberapa senyawa. Perlakuan pemanasan dapat mempercepat oksidasi terhadap antioksidan yang terkandung dalam sistem bahan alam. Oksidasi bahan alam mengakibatkan penurunan aktivitas antioksidan dengan tingkat yang berbeda dan sangat dipengaruhi oleh jenis komponen yang berperan dalam proses antioksidasi dan kandungan dalam bahan tersebut (Dewi 2006). Proses pemanasan juga dapat menurunkan kandungan fenol. Diduga beberapa senyawa fenol yang terkandung dalam koro pedang mengalami kerusakan pada suhu tinggi. Hal ini sesuai dengan pendapat Gazzani et al. (1998) yang menjelaskan bahwa pemanasan dengan suhu tinggi dapat mengakibatkan kerusakan pada komponen yang tidak tahan panas, termasuk senyawa fenol, oleh karena itu total fenol yang dihasilkan menjadi lebih rendah.

Sampai saat ini, belum diketahui komposisi komponen antioksidan dalam koro benguk, koro glinding, dan koro pedang yang labil terhadap pemanasan, ataupun sebaliknya. Aktivitas antioksidan dan kadar asam fitat pada ketiga jenis koro yang digunakan dalam penelitian ini disajikan pada Tabel 6.

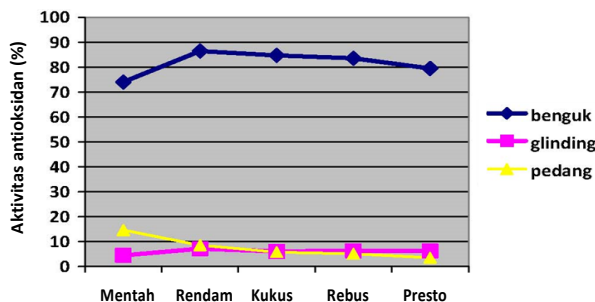
Pada Tabel 5 dapat dilihat aktivitas antioksidan dan kadar asam fitat. Asam fitat merupakan senyawa antinutrisi yang mampu membentuk ikatan dengan mineral bervalensi dua (Ca, Mg, Fe) atau protein menjadi senyawa yang sukar larut. Akan tetapi, peranan positif asam fitat terhadap kesehatan adalah sebagai antioksidan dimana antioksidan dapat berfungsi untuk menangkal radikal bebas maupun senyawa nonradikal yang dapat menimbulkan oksidasi pada biomolekuler seperti protein, karbohidrat, ataupun lipid.



Gambar 2. Kadar asam fitat (mg/g berat kering) pada koro bengkung, koro glinding, dan koro pedang dengan berbagai perlakuan pemanasan



Gambar 3. Aktivitas antioksidan (%) pada koro bengkung, koro glinding, dan koro pedang dengan berbagai perlakuan pemanasan.



Gambar 4. Aktivitas antioksidan (%) pada koro bengkung, koro glinding, dan koro pedang dengan berbagai perlakuan pemanasan.

Tabel 3. Kadar asam fitat beberapa jenis koro dengan berbagai perlakuan pemanasan (mg/g berat kering)

Perlakuan	Kadar asam fitat (mg/g berat kering)		
	Koro Bengkung	Koro Glinding	Koro Pedang
Mentah	10,87 ^a	11,78 ^a	9,04 ^a
Direndam 3 hari	8,94 ^b	8,75 ^b	1,99 ^b
Dikukus	4,56 ^c	4,77 ^c	1,39 ^c
Direbus	1,72 ^d	1,73 ^d	1,42 ^c
Presto	1,46 ^e	1,61 ^e	1,21 ^d

Keterangan: Huruf di belakang angka pada kolom yang sama yang berbeda menunjukkan beda nyata antar perlakuan (p<0,05).

Tabel 4. Persentase penurunan asam fitat pada beberapa jenis koro dengan berbagai perlakuan pemanasan

Perlakuan	Persentase Penurunan Asam Fitat (%)		
	Koro Bengkung	Koro Glinding	Koro Pedang
Mentah	0	0	0
Direndam 3 hari	17,75	30,30	77,03
Dikukus *	58,05	70,10	84,62
Direbus *	84,17	85,31	84,29
Presto *	86,57	86,33	86,61

Keterangan: *Superscript menunjukkan beda nyata antar perlakuan (p<0,05).

Tabel 5. Aktivitas antioksidan (%) pada beberapa jenis koro dengan berbagai perlakuan pemanasan

Perlakuan	Aktivitas Antioksidan (%)		
	Koro Bengkung	Koro Glinding	Koro Pedang
Mentah	74,10 ^d	4,50 ^b	14,64 ^a
Direndam 3 hari	86,49 ^a	7,19 ^a	8,55 ^b
Dikukus	84,74 ^{ab}	6,07 ^a	5,84 ^c
Direbus	83,59 ^b	6,30 ^a	5,17 ^c
Presto	79,51 ^c	6,28 ^a	3,58 ^d

Tabel 6. Aktivitas antioksidan dan kadar asam fitat pada beberapa jenis koro dengan berbagai perlakuan pemanasan

Perlakuan	Aktivitas antioksidan (%)			Kadar asam fitat (mg/g db)		
	Koro Bengkung	Koro Glinding	Koro Pedang	Koro Bengkung	Koro Glinding	Koro Pedang
Mentah	74,10 ^d	4,50 ^b	14,64 ^a	10,87 ^a	11,78 ^a	9,04 ^a
Direndam 3 hari	86,49 ^a	7,19 ^a	8,55 ^b	8,94 ^b	8,75 ^b	1,99 ^b
Dikukus	84,76 ^{ab}	6,07 ^a	5,84 ^c	4,56 ^c	4,77 ^c	1,39 ^c
Direbus	83,59 ^b	6,30 ^a	5,18 ^c	1,72 ^d	1,73 ^d	1,42 ^c
Presto	79,51 ^c	6,28 ^a	3,58 ^d	1,46 ^e	1,61 ^e	1,21 ^d

Apabila dilihat dari aktivitas antioksidan dan kadar asam fitat pada koro bengkung dan koro glinding, pada perlakuan perendaman menunjukkan aktivitas antioksidan dan kadar asam fitat yang cukup tinggi, sedangkan pada koro pedang, aktivitas antioksidan dan kadar asam fitat paling tinggi diperoleh pada biji mentah. Akan tetapi, koro yang masih mentah atau telah direndam selama tiga hari belum aman dikonsumsi karena mengandung HCN yang

bersifat beracun. Dari hasil penelitian Handajani (2001) dikatakan bahwa koro bengkung utuh yang direndam selama tiga hari masih mengandung HCN 0,31 mg/100 g bahan, sedangkan pada koro bengkung yang dikupas kulitnya juga masih mengandung HCN 0,265 mg/100 g bahan. Graham et al. (1980) menyatakan bahwa glikosida sianogenik dapat menyebabkan keracunan jika membebaskan HCN. Proses pengolahan, seperti perendaman, pengirisan, dan

penghancuran, menyebabkan terjadinya hidrolisis sehingga membebaskan senyawa HCN.

Pada Tabel 5, secara keseluruhan perebusan merupakan cara yang paling efektif untuk mengolah koro-koroan, karena aktivitas antioksidannya tidak berbeda nyata dengan aktivitas antioksidan pada proses pengukusan dan kadar asam fitatnya masih cukup tinggi apabila dibandingkan dengan kadar asam fitat pada perlakuan presto. Selain itu, dengan perebusan dapat mengeliminasi senyawa HCN yang terkandung pada koro-koroan karena suhu yang diberikan lebih tinggi dari titik didih HCN yaitu 100°C. Cheeke dan Shull (1985) menjelaskan bahwa HCN memiliki titik didih 26,5°C dan sangat larut dalam air. Proses perebusan selain dapat mengeliminasi senyawa HCN juga menyebabkan biji koro menjadi lebih lunak sehingga lebih aman dan mudah dikonsumsi.

Proses pengukusan juga mampu mempertahankan aktivitas antioksidan dan kadar asam fitat pada koro-koroan. Akan tetapi, biji koro yang dikukus masih keras. Kanetro dan Hastuti (2006) menyatakan bahwa pada proses pengukusan sulit terjadi hidrasi karena air tidak mudah mengalami difusi ke dalam biji kacang-kacangan. Hal ini menyebabkan biji koro-koroan yang dikukus masih keras.

Pada proses presto, biji koro-koroan menjadi lebih lunak apabila dibandingkan dengan biji koro pada perlakuan pengukusan dan perebusan. Akan tetapi, jika dilihat dari aktivitas antioksidan dan kadar asam fitatnya, proses presto merupakan perlakuan yang paling berpengaruh terhadap penurunan aktivitas antioksidan dan kadar asam fitat pada koro benguk, koro glinding, dan koro pedang. Pengolahan menggunakan autoklaf yang dikenal dengan istilah presto menurut Harris dan Karnas (1989), menimbulkan dampak penurunan nutrisi yang tinggi apalagi untuk produk yang berbentuk cair (*liquid*). Kanetro dan Hastuti (2006) menyatakan bahwa pemanasan kedelai menggunakan autoklaf (*pressure cooker*) pada suhu 115°C dapat menghilangkan sebagian besar fitat dan mengurangi nilai gizi yang menyebabkan timbulnya *flavor* yang tidak diinginkan karena kerusakan asam amino akibat pemanasan yang berlebihan. Hal ini menyebabkan biji koro-koroan kehilangan banyak nilai gizi sehingga kurang bagus untuk dikonsumsi.

KESIMPULAN

Variasi perlakuan (perendaman 3 hari, dilanjutkan dengan pengukusan, perebusan, dan presto) menurunkan kadar asam fitat pada koro benguk (*M. pruriens*), koro glinding (*P. lunatus*), dan koro pedang (*C. ensiformis*). Kadar asam fitat pada koro benguk dari biji mentah hingga perlakuan perendaman 3 hari, pengukusan, perebusan, dan presto berturut-turut adalah 10,87; 8,94; 4,56; 1,72; dan 1,46 mg/g berat kering. Pada koro glinding, kadar asam fitatnya berturut-turut adalah 11,78; 8,75; 4,77; 1,73; dan 1,61 mg/g berat kering untuk biji mentah hingga perlakuan perendaman 3 hari, pengukusan, perebusan, dan presto. Koro pedang memiliki kadar asam fitat berturut-turut sebesar 9,04; 1,99; 1,39; 1,42; dan 1,21 mg/g berat kering untuk biji mentah hingga perlakuan perendaman 3 hari,

pengukusan, perebusan, dan presto. Pada penelitian ini, asam fitat berfungsi sebagai antioksidan sehingga aman untuk dikonsumsi. Koro dengan perlakuan perebusan sudah aman dan mudah dikonsumsi karena bijinya sudah cukup lunak. Kadar asam fitat pada koro benguk dengan perlakuan perebusan sebesar 1,772 mg/g, pada koro glinding 1,73 mg/g, sedangkan pada koro pedang 1,42 mg/g. Aktivitas antioksidan pada koro benguk dan koro glinding mengalami kenaikan pada perlakuan perendaman, kemudian mengalami penurunan pada perlakuan pengukusan, perebusan, dan presto. Aktivitas antioksidan pada koro benguk dari biji mentah hingga perlakuan perendaman 3 hari, pengukusan, perebusan, dan presto masing-masing sebesar 74,10; 86,49; 84,76; 83,59; dan 79,51%, sedangkan pada koro glinding sebesar 4,50; 7,19; 6,07; 6,30; dan 6,28%. Aktivitas antioksidan pada koro pedang mengalami penurunan dari biji mentah hingga perlakuan perendaman tiga hari, pengukusan, perebusan, dan presto, aktivitas antioksidannya berturut-turut sebesar 14,64; 8,55; 5,84; 5,18; dan 3,58%. Proses perebusan menyebabkan biji koro-koroan menjadi cukup lunak untuk dikonsumsi. Pada perlakuan perebusan, koro benguk memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dibandingkan koro glinding dan koro pedang.

DAFTAR PUSTAKA

- Alsuhendra. 2005. Sudah banyak konsumsi sayur masih saja kurang darah. www.halalmui.or.id.
- Beal L, Mehta T. 1985. Zinc and phytate distribution in peas. Influence of heat treatment, germination, pH, substrate, and phosphorus on pea phytate and phytase. *J. Food Sci.*, 50:96-100.
- Bhatty RS, Cherdkiagumchai P. 1990. Compositional analysis of laboratory-prepared and commercial samples of linseed meal and of hull isolated from flax. *J Am Oil Chem Soc* 67: 79-84.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Cerny K. 1978. Comparative nutritional and clinical aspects of the winged bean. In: Cerny K (ed.) *The Winged Bean*. Philippine Council for Agriculture and Resources Research. Los Baños, Laguna, Philippines
- Cheeke PR, Shull LR. 1985. Natural toxicants in feeds and poisonous plants. AVI Publishing Company, Inc., Westport, Conn., USA.
- Cook NC, Samman S. 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *J Nutr Biochem* 7: 66-76.
- Davies NT, Reid H. 1979. An evaluation of the phytate, zinc, copper, iron and manganese contents of, and zn availability from, soya-based textured-vegetable-protein meat-substitutes or meat-extenders. *Br J Nutr* 41(3): 579-589.
- Dewi K. 2006. Identifikasi dan Karakterisasi Antioksidan dari Jus *Aloe chinensis* dan Evaluasi Potensi Aloe-Emodin sebagai Antifotooksidan dalam Sistem Asam Linoleat. [Disertasi]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Erdman JW. 1979. Oilseed phytates: nutritional implications. *J Am Oil Chem Soc* 56 736-741
- Fagliano V. 1999. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wine. *J Agric Food Chem* 4: 1035-1040.
- Futura M, Yano Y, Gabazza EC, Araki-Sasaki R. 2002. The Potential of Anthocyanin from Black Soybean Seed Coat. John Wiley & Sons, New York.
- Gazzani G, Papetti A, Mussolini G, Daglia M. 1998. Anti- and pro-oxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. *J Agric Food Chem* 46: 4118-4122.

- Gordon MH. 2001. Measuring antioxidant activity. In: Pokorny J, Yanishlieva N, Gordon M (eds.). *Antioxidant in Food Practical Application*. Woodhead Publishing Ltd., London.
- Graham DJ, Laman D, Theodore J, Robin ED. 1977. Acute cyanide poisoning complicated by lactic acidosis and pulmonary edema. *Arch. Intern Med* 137: 1051.
- Handajani S. 2001. Indigenous mucuna tempe as functional food. *Asia Pac J Clin Nutr* 10(3): 222-225.
- Harris RS, Karnas E. 1989. *Evaluasi Gizi pada Pengolahan Bahan Pangan*. Penerbit ITB, Bandung.
- Jadhav SJ, Nimbalkar SS, Kulkarni AD et al. 1993. Lipid oxidation in biological and food system. Alberta Agriculture, Food Processing Development Center, Leduc, Alberta, Canada.
- Kanetro B, Hastuti S. 2006. *Ragam produk olahan kacang-kacangan*. Universitas Wangsa Manggala Press, Yogyakarta.
- Kay DE, 1979. Food legumes. *Crops and Product Digest No 3*. Tropical Products Institute, London, UK
- Khotimah K. 2002. Pengaruh ekstrak jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan metode pengolahan pada kualitas daging Broiler. www.digilib.itb.ac.id. [14 Februari 2008].
- Kocher SP, Rossell B. 1990. Detection Estimation and Evaluation of Antioxidants in Food System. In: Hudson BJB (ed.). *Food Antioxidants*. Elsevier. London
- Kumalaningsih S. 2007. Antioksidan, sumber, dan manfaatnya. www.antioxidantcentre.com. [17 Juli 2008].
- Mahendradatta M. 2002. Pangan aman dan sehat, prasyarat kebutuhan mutlak sehari-hari. Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Muchtadi D. 1989. Aspek biokimia dan gizi kimia dalam keamanan pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, IPB, Bogor.
- O'Dell BL, de Boland AR, Koirtyohann SR. 1972. Distribution of phytate and nutritionally important elements among the morphological components of cereal grains. *J Agric Food Chem* 20: 718-723.
- Pangestuti HP, Triwibowo S. 1996. Pengaruh lama perendaman, perebusan, dan pengukusan terhadap kandungan asam fitat dalam tempe kedelai. *Cermin Dunia Kedokteran* 107: 5. cerminduniakedokteran.com. [15 Februari 2008].
- Purwanti S. 2004. Kajian suhu ruang simpan terhadap kualitas benih kedelai hitam dan kedelai kuning. *Jurnal Ilmu Pertanian* 11 (1): 22-31.
- Raharjo S. 1999. *Antioksidan*. Handout Kimia Hasil Pertanian. Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Salunkhe DK, Kadam SS (eds). 1990. *Handbook of World Food Legumes: Nutritional Chemistry, Processing Technology and Utilization*. Vol 1. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.
- Samson RA, Van Kooij JA, De Boer E. 1987. Microbial quality of commercial tempe in the Netherlands. *J Food Protect* 50: 92-94.
- Setyono A. 1987. *Perilaku Asam Fitat Dalam Kedelai pada waktu Diolah*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Soesanto T, Saneto B. 1994. *Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian*. Bina Ilmu, Surabaya
- Sudarmadji S, Markakis P. 1978. Lipid and other changes occurring during the fermentation and frying of tempeh. *Food Chem* 3 (3): 165-70.
- Suhardi, Kamarijani. 1985. *Pengurangan Asam Fitat dalam Biji Kecapir Selama Perendaman*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
- Sullivan J. 2008. Anthocyanin. www.charlies.web.com. [15 Juli 2008].
- Supriyanti SA. 1997. *Perlakuan Perendaman, Pengukusan, Perebusan, serta Kombinasinya Terhadap Kandungan Asam Fitat dan Antikimotripsin pada Kacang Tolo dan Gude*. [Skripsi]. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Widianarko B, Pratiwi R, Soedarini et al. 2003. *Menuai polong, sebuah pengalaman advokasi keragaman hayati*. Gramedia Widiasarana, Jakarta.
- Winarno FG. 2002. *Kimia pangan dan gizi*. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.