



Daya Terima dan Kadar Asam Thiobarbiturat (TBA) Tempe yang Difortifikasi Zat Besi dan Vitamin A

Acceptability and Level of Thiobarbituric Acid (TBA) in Tempe Fortified with Iron and Vitamin A

Rahayu Astuti¹, Siti Aminah², Agustin Syamsianah³

¹Prodi Kesehatan Masyarakat FKM Universitas Muhammadiyah Semarang,

²Prodi Teknologi Pangan FIKKES Universitas Muhammadiyah Semarang

³Prodi Gizi FIKKES Universitas Muhammadiyah Semarang

¹ra.astuti@unimus.ac.id, ²aminahunimus@gmail.com, ³agsyams@gmail.com

Abstract

Tempe is one of Indonesian food which commonly consumed by community and possible as an alternative food that can be fortified with iron and vitamin A. This fortification is an efforts to overcome nutritional anemia. On the other hands, iron addition raises concerns that fortification of iron in fortified tempe can cause oxidative effects. The purpose of this study is to determine the acceptability and levels of thiobarbituric acid (TBA) in iron- fortified tempe and tempe with additional iron+vitamin A. This study use a Completely Randomized Design with 5 experimental groups and 3 replications. The control group was tempe without fortification, while experimental groups 1, 2, 3, 4 were given iron (FeSO₄) 90 mg, 110 mg, 130 mg and 150 mg/kg of wet soybean. Tempe A is tempe which was given iron fortification, and tempe B was tempe which was given iron+ vitamin A fortification. The results of this study, the acceptability of fortified tempe showed that both tempe A and tempe B, in raw tempe in terms of aroma and color, iron fortified tempe levels of 110 mg and 130 mg were still favored by panelists. Likewise in cooked tempe, the taste, aroma and color that are still preferred are iron levels of 110 mg and 130 mg. However, tempe with 150 mg of iron is not preferred by panelists. There were no significant differences about levels of thiobarbituric acid (TBA) in tempe without fortification compared to only iron-fortified tempe alone and iron+vitamin A-fortified tempe, with more increasing iron levels (90 mg, 110 mg, 130 mg and 150 mg) does not show an increase in TBA levels. The iron (FeSO₄) contain with 130 mg/kg of wet soybean is recommended to use in making tempe fortification as an effort to overcome iron-deficiency anemia.

Keywords: tempe fortification, iron and vitamin A, acceptability, TBA (thiobarbituric acid) level

PENDAHULUAN

Anemia masih merupakan masalah gizi utama di Indonesia, terutama pada bayi dan balita, anak usia sekolah, remaja putri dan wanita dewasa, serta ibu hamil dan ibu menyusui, pekerja berpenghasilan rendah serta orang lanjut usia. Temuan beberapa penelitian di Indonesia prevalensi anemia pada remaja tinggi (26,1% - 42,6%). Menurut WHO (2001) jika dalam suatu wilayah ditemukan prevalensi anemia >40% maka terdapat masalah kesehatan masyarakat.

Faktor gizi maupun non gizi berkontribusi terhadap kejadian anemia (McLean E. *et.al*, 2007), dan yang paling sering adalah faktor gizi atau umum disebut anemia gizi. Pada anemia gizi, defisiensi besi merupakan penyebab terbanyak (WHO, 2001). Selain karena asupan zat besi dalam makanan sehari-hari yang rendah, kehilangan darah karena menstruasi yang berat juga faktor yang penting pada anemia defisiensi besi pada remaja putri.

Salah satu alternatif dalam penanggulangan anemia defisiensi besi adalah fortifikasi makanan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat sasaran. Berdasarkan perhitungan yang dilakukan WHO (2006), fortifikasi merupakan program perbaikan gizi yang paling “*cost-effective*” diantara berbagai program kesehatan. Fortifikasi merupakan penambahan satu atau lebih mikronutrient pada pangan tertentu, untuk meningkatkan intake mikronutrient dalam rangka mencegah defisiensi dan meningkatkan kesehatan (Hurrell R, Egli I, 2007).

Fortifikasi pangan dengan mikronutrient merupakan teknologi yang baik untuk menurunkan kekurangan gizi mikro sebagai bagian dari “*food-based approach*” dan merupakan pendekatan



terintegrasi untuk mencegah defisiensi mikronutrient ganda, juga melengkapi pendekatan lain dalam meningkatkan status mikronutrient (Allen L *et.al*, 2006).

Tempe dipilih sebagai pangan yang difortifikasi karena pada daerah pedesaan kelompok ekonomi bawah konsumsi tempe lebih tinggi dibanding kelompok ekonomi menengah dan atas berdasarkan data Susenas. Selain itu karena tempe merupakan sumber protein. Protein dan zat besi diperlukan dalam pembentukan kadar hemoglobin. Menurut Astuti, M (1996), protein tempe tergolong mudah dicerna sehingga protein dapat dipergunakan untuk membentuk hemoglobin bersama dengan besi atau senyawa lain. Proses pembentukan hemoglobin dalam sumsum tulang belakang juga memerlukan vitamin B₁₂, asam folat, protein, zat besi, Cu dan Zn semuanya terdapat dalam tempe (Adnan, M. dan Sudarmadji, 1997). Tempe banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia terutama di pedesaan sebagai makanan sehari-hari untuk lauk (Hardinsyah dkk., 2008).

Pada penelitian ini fortifikasi yang dilakukan adalah penambahan zat besi dan vitamin A karena berbagai penelitian menunjukkan bahwa pada anemia defisiensi besi, juga ditemukan defisiensi vitamin A. Hasil penelitian Dijkhuizen MA dkk., 2001 di Jawa Timur, bayi dan ibunya dengan serum retinol < 0,7 µmol/L mempunyai risiko 2,4 kali menjadi anemia defisiensi besi. Defisiensi vitamin A (plasma retinol < 0.70 µmol/L) ditemukan 54% pada bayi dan 18% pada ibunya dan lebih dari 50% ibu dan bayinya adalah anemia. Defisiensi vitamin A pada bayi menyebabkan meningkatnya risiko anemia dengan rasio odds 2,5.

Faktor yang dapat menjelaskan peranan vitamin A dikaitkan dengan anemia adalah : 1) mobilisasi simpanan besi ke sumsum tulang; 2) menurunnya resistensi terhadap infeksi pada defisiensi vitamin A, sehingga meningkatkan anemia karena infeksi; 3) efek terhadap absorpsi besi dan atau metabolisme; 4) memodulasi atau menstimulasi secara langsung eritropoiesis (Semba, RD. dan Bloem, MW., 2002 dan Zimmermann, MB., 2007). Hasil penelitian Zimmermann, MB dkk., 2006, yaitu anak yang defisiensi vitamin A dan zat besi, adanya suplementasi vitamin A memobilisasi besi dari cadangan besi untuk meningkatkan eritropoiesis, dan efek tersebut diperantarai oleh meningkatnya sirkulasi EPO (*erythropoietin*).

Fortifikasi dengan zat besi dan vitamin A pada tempe mempunyai keuntungan karena dapat meningkatkan asupan zat besi dan vitamin A. Namun zat besi dalam penggunaannya sebagai fortifikan, mempunyai beberapa sifat kimia zat besi yang harus diperhatikan antara lain: (1) mudah teroksidasi dari bentuk ferro menjadi ferri sehingga menyebabkan perubahan warna menjadi kuning, hijau atau kehitaman; (2) mudah bereaksi dengan senyawa fenol, seperti tanin dan propil galat sehingga menyebabkan warna kehitam-hitaman; (3) dapat bereaksi dengan belerang membentuk warna hitam; (4) dapat meningkatkan aktivitas enzim oksidatif sehingga menyebabkan perubahan warna, aroma dan rasa; serta (5) dapat mengkatalisis reaksi oksidatif pada umumnya (Palupi, 2010).

Ada kekhawatiran bahwa fortifikan zat besi dalam produk makanan hasil fortifikasi dapat menimbulkan efek oksidatif, baik dalam sistem pangan maupun biologis. Apabila zat besi tubuh berlebihan dan kronis maka senyawa radikal dapat berlebihan dan menyebabkan kerusakan oksidatif, dan terjadi karsinogenesis, degradasi protein dan DNA serta peroksidasi lemak. (Lund EK *et al*, 2001; Fischer JG, et al, 2002).

Dengan demikian perlu diteliti tentang daya terima tempe yang difortifikasi dengan zat besi dan vitamin A melalui uji sensori pada tempe mentah maupun matang dan juga kadar asam Thiobarbiturat (TBA) nya.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam pembuatan tempe adalah kedele varietas lokal (Grobogan). Inokulum yang digunakan adalah inokulum untuk tempe yang mengandung jamur *Rhizopus sp* merk Raprima diproduksi di Bandung, Jenis besi untuk fortifikasi adalah ferrous sulfat exsiccatus/ ferrous sulfat dry (FeSO₄) diperoleh dari PT Kimia Farma Plant Watukadon Mojokerto, dengan kadar 86,19%. Vitamin A (Axerophthali acetat/ Retinil acetat dry) diperoleh dari PT Kimia Farma Plant Jakarta, dengan kadar vitamin A 534021,88 IU/gram.

Alat yang digunakan adalah alat pembuatan tempe, formulir pengujian organoleptik, unit analisis kadar asam thiobarbiturat (TBA), *Spectrophotometer* UV-mini merk Shimadzu seri 1240 Japan. Pembuatan tempe fortifikasi dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan Universitas



Muhammadiyah Semarang, sedangkan analisis kadar TBA dilakukan di laboratorium Ilmu Pangan Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Unika Soegijapranata Semarang.

Prosedur Penelitian

Tempe dibuat dengan mengacu pada prosedur pembuatan tempe yang dilakukan oleh Tawali (2000), yaitu kedelai dicuci bersih lalu direbus selama 30 menit. Kedelai dan air rebusannya didiamkan selama 22 jam kemudian dikupas kulitnya dan dicuci sampai bersih. Kedelai tanpa kulit dikukus kembali selama 40 menit, ditiriskan dan didinginkan di atas tampah. Ragi ditambahkan sebanyak 2 g/kg berat basah, diaduk merata. Setelah peragian ditambahkan fortifikan zat besi dan vitamin A, sesuai dengan perlakuan kemudian diaduk hingga rata. Sedangkan untuk kontrol, tidak ditambahkan fortifikan. Kedelai yang telah diinokulasi dibungkus dengan plastik dan diinkubasi selama 30-34 jam pada suhu kamar.

Analisis daya terima dilakukan pada tempe mentah dan matang. Tempe matang dipersiapkan dengan mengolah menjadi tempe bacem, Pembuatan bacem dengan cara yaitu tempe sebanyak 750 gram direbus dengan air 500 ml selama 1 jam (sampai airnya habis) dan penambahan bumbu yang sudah dihaluskan (bawang merah 40 gram, bawang putih 40 gram, garam 20 gram, ketumbar 1 sendok teh), gula merah 100 gram dan daun salam 4 lembar.

Pengukuran daya terima produk menggunakan *sensory analysis*.

Pengujian sensorik menggunakan “Uji Perbedaan dari Kontrol” atau “*Difference-from-Control Test*” (Meilgaard M, Civille GV, Carr BT, 1999). Bahan yang diuji adalah tempe mentah dan tempe matang. Alat yang digunakan untuk mengukur daya terima produk adalah “formulir pengujian organoleptik” (Rahayu PW, 1998).

Pengukuran kadar TBA (Thiobarbituric acid)

Pengukuran kadar TBA menggunakan metode Tarladgis (Apriyantono dkk, 1989). Sampel sebanyak 10 gram ditambahkan aquades 50 ml lalu diblender. Lalu dipindah secara kuantitatif ke dalam labu destilasi sambil dicuci dengan 47,5 ml aquades. Ditambahkan $\pm 2,5$ ml HCl 4 M sampai PH menjadi 1,5. Batu didih dan anti foaming agent secukupnya dimasukkan dalam labu destilasi dan labu destilasi dipasang. Destilasi dijalankan dengan pemanasan tinggi sehingga diperoleh 50 ml destilat selama 10 menit pemanasan. Destilat diaduk rata, dipipet 5 ml ke dalam tabung reaksi bertutup. Ditambahkan 5 ml pereaksi TBA, ditutup, dicampur rata lalu dipanaskan selama 35 menit dalam air mendidih.

Blanko dibuat dengan menggunakan 5 ml aquades dan 5 ml pereaksi, dilakukan seperti penetapan sampel. Tabung reaksi didinginkan dengan air pendingin selama ± 10 menit kemudian diukur absorbansinya (D) pada panjang gelombang 528 nm dengan larutan blanko sebagai titik nol. Bilangan TBA dihitung dan dinyatakan dalam mg malonaldehid per kg sampel. Bilangan TBA = 7,8 D.

$$TBA = \frac{3}{\text{Bobot sampel (g)}} \times A_{528} \times 7,8$$

Rancangan Penelitian dan Analisis Statistik

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Satu Faktor dengan tiga kali ulangan. Pemberian dosis zat besi didasarkan penelitian Tawali (2000) yang merekomendasikan dosis optimal fortifikan adalah 10 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 100 gram ragi tempe. Jumlah ragi yang ditambahkan pada kedelai siap fermentasi adalah 2 gram/ kg kedelai basah, jadi $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yang dibutuhkan 200 mg/ kg kedelai basah. Jumlah tersebut akan setara dengan FeSO_4 sebanyak 110 mg/kg kedelai basah. Atas dasar tersebut maka perlakuan pada penelitian ini yaitu penambahan zat besi (FeSO_4) dan vitamin A berdasarkan konsentasi fortifikasi yaitu:



Tempe A (fortifikasi zat besi)

1) Kontrol; 2) FeSO₄ 90 mg/kg berat basah (bb); 3) FeSO₄ 110 mg/kg bb; 4) FeSO₄ 130 mg/kg bb; 5) FeSO₄ 150 mg/kg bb.

Tempe B (fortifikasi zat besi dan vitamin A)

1) Kontrol; 2) FeSO₄ 90 mg/kg berat basah (bb) + vitamin A 12 mg/kg bb; 3) FeSO₄ 110 mg/kg bb + vitamin A 12 mg/kg bb; 4) FeSO₄ 130 mg/kg bb + vitamin A 12 mg; 5) FeSO₄ 150 mg + vitamin A 12 mg/kg bb.

Kadar vitamin A didasarkan bahwa Angka kecukupan gizi (AKG) yang dianjurkan berdasarkan Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi VII tahun 2004 dan SK Menkes Nomor : 1593/Menkes/SK/XI/2005, bahwa pada wanita usia 13-15 tahun kecukupan vitamin A 600 RE. WHO (2004) menetapkan fortifikasi vitamin A antara 15% -30% dari kebutuhan vitamin A harian pada kelompok target. Pada perhitungan 30% dari kecukupan vitamin A menurut AKG diperoleh 200 RE (setara dengan 660 IU). Dalam label tertera 1 gram *axerophthali acetat* kadar vitamin A adalah 534021,88 IU. Maka kadar vitamin A sebanyak 660 IU setara dengan 1,2 mg *axerophthali acetat*. Asumsi tempe yang dimakan 100 gram per hari maka pemberian vitamin A (*axerophthali acetat*) sebanyak 12 mg / kg kedelai basah (siap fermentasi).

Analisis statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah One Way Anova dan Kruskal Wallis. Uji lanjut digunakan uji Mann Whitney. Pengujian kenormalan data dengan uji Kolmogorov Smirnov.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji organoleptik tempe fortifikasi zat besi (tempe A)

Daya terima tempe menggunakan "*sensory evaluation*" atau uji sensorik atau uji cita rasa (uji organoleptik). Pengujian sensorik menggunakan "Uji Perbedaan dari Kontrol" atau "*Difference-from-Control Test*". Penggunaan uji ini adalah untuk menguji secara obyektif pada dua keadaan yaitu : 1) apakah ada perbedaan antara sampel satu atau lebih dengan kontrol dan 2) untuk memperkirakan besar dari perbedaan tersebut. Skor yang digunakan adalah Sangat lebih 1, Lebih 2, Agak lebih 3, Sama 4, Agak kurang 5, Kurang 6, Sangat kurang 7. Tempe kontrol mempunyai skor 4. Makin kecil dari skor 4 (kearah skor 1) makin lebih disukai dan makin besar skornya makin kurang disukai.

Pada Tabel 1, pada tempe mentah, pada aroma tempe perlakuan yang diberi zat besi 110 mg mempunyai rata-rata skor 4,0 yaitu sama dengan skor pada tempe kontrol. Begitu juga pada warna, pada tempe perlakuan yang diberi zat besi 110 mg mempunyai rata-rata skor adalah 4,16 yang mempunyai jarak terdekat dengan skor tempe kontrol yaitu 4. Hal ini berarti pada tempe perlakuan yang diberi zat besi 110 mg mempunyai aroma dan warna yang tidak jauh berbeda dengan kontrol. Sedangkan pada perlakuan lainnya rata-rata skor aroma dan warna berbeda jauh dengan skor tempe kontrol. Aroma dan warna tempe perlakuan yang diberi zat besi 150 mg mempunyai rata-rata skor yang paling besar dari skor kontrol (skor 4) artinya paling tidak disukai.

Hasil uji Kruskal Wallis pada tempe mentah rata-rata skor aroma dan skor warna tempe mentah pada berbagai perlakuan menunjukkan ada perbedaan yang sangat bermakna. Pada aroma dengan uji lanjut Mann Whitney diperoleh hasil antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 90 mg, 110 mg dan 130 mg masing-masing tidak ada perbedaan ($p=0,426$, $p=0,415$, dan $p=0,163$); tetapi antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi 150 mg ada perbedaan yang bermakna ($p=0,000$). Pada warna dengan uji lanjut diperoleh hasil antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 110 mg tidak ada perbedaan ($p=0,271$); sedangkan antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi 90 mg, 130 mg, dan 150 ada perbedaan yang bermakna (masing-masing $p=0,000$), dimana kadar zat besi 150 mg paling tidak disukai.



Tabel 1:
Hasil uji organoleptik tempe fortifikasi besi (mentah dan matang) dengan berbagai kadar fortifikan (Tempe A)

| Tempe mentah (n=15) | | | |
|----------------------------|----------------|---------|---------|
| Perlakuan | Rata-rata skor | | |
| | Aroma | Warna | |
| Tanpa fortifikasi | 4,00 | 4,00 | |
| Besi 90 mg | 4,20 | 4,88 | |
| Besi 110 mg | 4,00 | 4,16 | |
| Besi 30 mg | 4,32 | 4,76 | |
| Besi 150 mg | 5,64 | 6,20 | |
| Total | 4,43 | 4,80 | |
| Nilai p antar perlakuan | 0,000** | 0,000** | |
| Tempe matang (n=15) | | | |
| Perlakuan | Rata-rata skor | | |
| | Rasa | Aroma | Warna |
| Tanpa fortifikasi | 4,00 | 4,00 | 4,00 |
| Besi 90 mg | 4,44 | 4,36 | 5,12 |
| Besi 110 mg | 3,96 | 3,44 | 4,96 |
| Besi 130 mg | 3,48 | 3,52 | 4,56 |
| Besi 150 mg | 4,72 | 4,44 | 5,72 |
| Total | 4,12 | 3,95 | 4,87 |
| Nilai p antar perlakuan | 0,012* | 0,026* | 0,000** |

Hasil pengamatan pada tempe mentah, aroma yang agak kurang harum pada tempe fortifikasi zat besi dibanding tempe tanpa fortifikasi. Begitu juga warna menunjukkan warna yang agak gelap dengan makin meningkatnya kadar fortifikan (zat besi) dibanding tempe tanpa fortifikasi.

Pada tempe matang, rasa pada tempe fortifikasi besi dengan perlakuan diberi zat besi 110 mg dan 130 mg masih disukai panelis, sedangkan perlakuan pemberian zat besi 150 mg paling tidak disukai, karena rata-rata skornya paling jauh dari rata-rata skor tempe kontrol ke arah kurang disukai. Pada aroma tempe dengan perlakuan diberi zat besi 110 mg lebih disukai panelis disusul perlakuan zat besi 130 mg. Pada warna tempe matang yaitu makin besar zat besi yang ditambahkan rata-rata skor makin meningkat ke arah tidak disukai. Hasil uji rata-rata skor rasa, aroma dan skor warna tempe matang pada berbagai perlakuan menunjukkan ada perbedaan yang sangat bermakna.

Pada uji lanjut Mann Whitney diperoleh hasil pada rasa, antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 90 mg dan 110 mg tidak ada perbedaan ($p=0,174$ dan $p=0,786$), namun dengan fortifikasi 130 mg dan 150 mg ada perbedaan yang bermakna masing-masing $p=0,035$, dan $p=0,004$, dimana pada kadar zat besi 130 mg lebih disukai tetapi kadar zat besi 150 mg kurang disukai. Pada aroma tempe matang antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 90 mg, 110 mg, 130 mg dan 150 mg tidak ada perbedaan ($p=0,164$, $p=0,063$, $p=0,108$ dan $p=0,058$), artinya masih disukai yaitu sama dengan kontrol. Pada warna dengan uji lanjut diperoleh hasil antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 90 mg, 110 mg, 130 mg dan 150 mg ada perbedaan yang bermakna masing-masing $p=0,000$, $p=0,001$, $p=0,017$, $p=0,000$, dimana kadar zat besi 150 mg paling tidak disukai.

Hasil pengamatan pada tempe matang, rasa memang tidak terasa berbeda antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe yang difortifikasi zat besi. Warna menunjukkan warna yang agak makin gelap dibanding tempe tanpa fortifikasi. Hal tersebut seperti yang dinyatakan oleh Palupi (2010) bahwa zat besi (ferro sulfat) dapat menghasilkan citarasa, serta perubahan bau dan warna yang tidak dikehendaki. Warna hitam yang muncul dimungkinkan zat besi teroksidasi dari bentuk fero menjadi feri. Selain itu zat besi dapat bereaksi dengan senyawa fenol, seperti tanin dan propil galat sehingga menyebabkan warna kehitam-hitaman. Faktor lain zat besi juga dapat meningkatkan aktivitas enzim oksidatif sehingga menyebabkan perubahan warna, aroma dan rasa.



Hasil uji organoleptik tempe fortifikasi zat besi dan vitamin A (tempe B)

Pada penelitian ini tempe fortifikasi yang dihasilkan dengan makin banyaknya zat besi yang ditambahkan maka tempe agak hitam, meskipun tidak terlalu kentara, setelah pemasakan juga tidak terlalu berbeda. Warna hitam pada tempe fortifikasi kadar zat besi 150 mg/kg kedelai basah yang paling gelap diantara perlakuan zat besi 90 mg, 110 mg dan 130 mg/kg kedele.

Tabel 2:
Hasil uji organoleptik tempe fortifikasi besi dan vitamin A (mentah dan matang) dengan berbagai kadar fortifikan (Tempe B)

| Tempe mentah (n=15) | | | |
|----------------------------|----------------|---------|-------|
| Perlakuan | Rata-rata skor | | |
| | Aroma | Warna | |
| Tanpa fortifikasi | 4,00 | 4,00 | |
| Besi 90 mg + VA | 3,24 | 4,08 | |
| Besi 110 mg + VA | 3,36 | 3,08 | |
| Besi 130 mg + VA | 5,08 | 3,48 | |
| Besi 150 mg + VA | 5,88 | 5,72 | |
| Total | 4,31 | 4,07 | |
| Nilai p antar perlakuan | 0,000** | 0,000** | |
| Tempe matang (n=15) | | | |
| Perlakuan | Rata-rata skor | | |
| | Rasa | Aroma | Warna |
| Tanpa fortifikasi | 4,00 | 4,00 | 4,00 |
| Besi 90 mg + VA | 2,56 | 2,52 | 3,68 |
| Besi 110 mg + VA | 2,88 | 2,76 | 4,20 |
| Besi 130 mg + VA | 3,08 | 3,24 | 3,64 |
| Besi 150 mg + VA | 4,36 | 3,44 | 4,48 |
| Total | 3,38 | 3,19 | 4,00 |
| Nilai p antar perlakuan | 0,000* | 0,000* | 0,187 |

Keterangan: VA = Vitamin A 12 ppm

Pada Tabel 2, pada tempe mentah, pada aroma tempe perlakuan yang diberi zat besi 110 mg + vitamin A mempunyai rata-rata skor 3,36 yaitu skor yang bedanya paling sedikit dengan skor pada tempe kontrol, dan berarti masih disukai oleh panelis, begitu juga tempe perlakuan yang diberi zat besi 90 mg + vitamin A rata-rata skor makin rendah kearah makin disukai. Pada warna, pada tempe perlakuan yang diberi zat besi 130 mg dan 110 mg + vitamin A mempunyai rata-rata skor 3,48 dan 3,08 dibawah 4 kearah lebih disuka. Sedangkan pada perlakuan zat besi 150 mg + vitamin A rata-rata skor aroma dan warna berbeda jauh dengan skor tempe kontrol ke arah tidak disuka.

Hasil uji rata-rata skor aroma dan skor warna tempe mentah pada berbagai perlakuan menunjukkan ada perbedaan yang sangat bermakna. Pada aroma dengan uji lanjut Mann Whitney diperoleh hasil antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 90 mg, 110 mg + vitamin A tidak ada perbedaan ($p=0,743$ dan $p=0,058$); dan dengan tempe fortifikasi zat besi 130 mg dan 150 mg + vitamin A ada perbedaan yang bermakna masing-masing $p=0,000$, $p=0,001$. Pada warna antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 90 mg tidak ada perbedaan ($p=1,000$); sedangkan antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 90 mg, 130 mg, dan 150 + vitamin A ada perbedaan yang bermakna (masing-masing $p=0,000$, $p=0,027$ dan $p=0,000$), dimana kadar zat besi 130 mg + vitamin kearah lebih disuka, tetapi kadar zat besi 150 mg + vitamin A kearah lebih tidak disuka.

Pada tempe matang, pada tempe fortifikasi besi dengan perlakuan diberi zat besi 130 mg + vitamin A dari segi rasa, aroma dan warna masih disukai panelis, pada perlakuan dengan kadar zat besi yang lebih rendah yaitu 110 mg dan 90 mg lebih disukai. Pada warna tempe matang, perlakuan yang diberi zat besi 130 mg + vitamin A lebih disuka disusul perlakuan zat besi 110 mg dan 90 mg.



Hasil uji rata-rata skor rasa dan aroma tempe matang pada berbagai perlakuan menunjukkan ada perbedaan yang sangat bermakna dan pada skor warna tidak ada perbedaan yang bermakna.

Pada uji lanjut Mann Whitney diperoleh hasil pada rasa, antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 90 mg, 110 mg, 130 mg dan 150 mg + vitamin A ada perbedaan yang bermakna (masing-masing $p < 0,05$), dimana kadar zat besi 90 mg, 110 mg, dan 130 mg + vitamin A ke arah makin disukai, tetapi kadar zat besi 150 mg + vitamin A ke arah tidak disukai. Pada aroma tempe matang antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 90 mg, 110 mg, 130 mg dan 150 mg + vitamin A ada perbedaan yang bermakna (masing-masing $p < 0,05$), semuanya makin ke arah disukai. Pada warna dengan uji lanjut diperoleh hasil antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe fortifikasi zat besi 90 mg, 110 mg, 130 mg dan 150 mg + vitamin A tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$).

Hasil pengamatan pada tempe matang, rasa memang tidak terasa berbeda antara tempe tanpa fortifikasi dengan tempe yang difortifikasi. Begitu juga warna menunjukkan warna yang agak gelap dibanding tempe tanpa fortifikasi meskipun tidak berbeda nyata.

Pada percobaan pendahuluan dimana tempe difortifikasi dengan vitamin A saja, ternyata tidak menunjukkan perubahan warna dan aroma. Dengan demikian perubahan warna dan aroma berarti berasal dari zat besi. Allen dkk., 2006 juga menyebutkan bahwa fortifikasi besi dapat menyebabkan perubahan organoleptik pada pangan yang difortifikasi. Ferrous sulfat (FeSO_4) telah banyak digunakan sebagai fortifikan yang larut air dan juga paling murah, dan telah digunakan secara luas pada tepung terigu atau cereal.

Hasil uji kadar TBA tempe fortifikasi zat besi (tempe A) dan tempe fortifikasi zat besi dan vitamin A (tempe B)

Oksidasi lemak pada fase lanjut (terminasi) menghasilkan senyawa-senyawa aldehyd seperti 2-enal dan 2-dienal. Senyawa aldehyd tersebut dapat bereaksi dengan asam thiobarbiturat (TBA) sehingga bisa dilakukan pengukuran terhadap TBA (Raharjo, 2004). Hasil reaksinya akan membentuk warna merah yang dapat diukur dengan spektrofotometer. Hasil analisis kadar TBA pada tempe fortifikasi disajikan pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3:
Hasil analisis rerata kadar TBA tempe yang difortifikasi zat besi (mentah dan matang) dengan berbagai kadar fortifikan (Tempe A)

| Perlakuan | Kadar TBA (mg malonaldehyde/kg) | | |
|-------------------------|-------------------------------------|--------------|---------|
| | Tempe mentah | Tempe matang | Nilai p |
| Tanpa fortifikasi | 0,246 | 0,182 | 0,683 |
| Besi 90 mg | 0,308 | 0,334 | 0,873 |
| Besi 110 mg | 0,253 | 0,293 | 0,626 |
| Besi 130 mg | 0,208 | 0,329 | 0,205 |
| Besi 150 mg | 0,219 | 0,364 | 0,278 |
| Total | 0,247 | 0,301 | 0,282 |
| Nilai p antar perlakuan | 0,925 | 0,258 | - |

Keterangan :

Uji antar perlakuan : Kruskal Wallis

Uji beda mentah matang : t independent



Tabel 4:
Hasil analisis rerata kadar TBA tempe yang difortifikasi zat besi dan vitamin A (mentah dan matang) dengan berbagai kadar fortifikan (Tempe B)

| Perlakuan | Kadar TBA (mg malonaldehyde/kg) | | |
|-------------------------|-------------------------------------|--------------|---------|
| | Tempe mentah | Tempe matang | Nilai p |
| Tanpa fortifikasi | 0,298 | 0,248 | 0,503 |
| Besi 90 mg + VA | 0,407 | 0,272 | 0,155 |
| Besi 110 mg + VA | 0,267 | 0,309 | 0,549 |
| Besi 130 mg + VA | 0,309 | 0,489 | 0,154 |
| Besi 150 mg + VA | 0,346 | 0,332 | 0,879 |
| Total | 0,326 | 0,330 | 0,915 |
| Nilai p antar perlakuan | 0,435 | 0,117 | - |

Keterangan :

VA = Vitamin A 12 ppm

Uji antar perlakuan : Anova one way

Uji beda mentah matang : t independent

Pada Tabel 3 dan 4, baik pada tempe A maupun tempe B, pada uji t independent rata-rata kadar TBA tempe mentah dan tempe matang menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada tiap perlakuan.

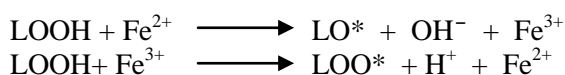
Pada Tabel 3 dan 4, juga menunjukkan baik pada tempe A (tempe yang difortifikasi zat besi saja) maupun tempe B (tempe yang difortifikasi zat besi + vitamin A menunjukkan pola yang sama. Makin tinggi konsentrasi zat besi yang ditambahkan, kadar TBA tidak menunjukkan peningkatan, baik pada tempe mentah maupun tempe matang. Hal tersebut berarti penambahan zat besi 90 mg, 110 mg, 130 mg dan 150 mg tidak menunjukkan peningkatan kadar TBA. Hasil uji menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna kadar TBA berdasarkan perlakuan.

Pada tempe yang difortifikasi zat besi saja, tempe mentah rata-rata kadar TBA tempe tanpa fortifikasi adalah 0,246 dan tempe fortifikasi zat besi 0,247. Pada tempe matang rata-rata kadar TBA tempe tanpa fortifikasi adalah 0,182 dan tempe fortifikasi zat besi 0,330.

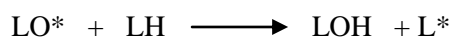
Pada tempe yang difortifikasi zat besi + vitamin A, tempe mentah rata-rata kadar TBA tempe tanpa fortifikasi adalah 0,298 dan tempe fortifikasi zat besi dan vitamin A 0,333. Pada tempe matang rata-rata kadar TBA tempe tanpa fortifikasi adalah 0,248 dan tempe fortifikasi zat besi dan vitamin A 0,350.

Hasil tersebut menandakan bahwa penambahan zat besi (FeSO_4) dengan kadar 90 mg, 110 mg, 130 mg dan 150 mg pada tempe tidak menimbulkan efek oksidatif pada tempe, karena tidak ada perbedaan yang bermakna kadar TBA nya dibandingkan dengan tempe tanpa fortifikasi.

Secara teoritis, menurut Raharjo (2004), zat besi telah diketahui mampu menginisiasi peroksida lipida dengan dua jalur yaitu (1) melalui katalisis proses pembentukan radikal hidroksil (*OH), atau (2) melalui reaksi langsung dengan oksigen membentuk kompleks besi-oksigen yang memiliki kemampuan mengoksidasi. Pada tahap propagasi reaksi oksidasi, besi bisa bereaksi dengan hidroperoksida lemak (LOOH) melalui reaksi Fenton menghasilkan radikal alkoksil (LO*). Hal ini juga dikemukakan oleh Gropper, Smith dan Groff (2009) bahwa LOOH, ketika kontak dengan besi bebas, dapat terbentuk radikal alkoksil (LO*) dan peroksil (LOO*), dengan reaksi sebagai berikut:



Radikal alkoksil (LO*) dapat menginisiasi reaksi dengan asam lemak tidak jenuh rantai panjang di dalam membran dengan reaksi sebagai berikut :





Radikal alkoksil mampu mengambil satu atom hidrogen dari rantai karbon asam lemak. Hal ini berarti menambah banyak produksi radikal bebas dan memperbanyak pembentukan peroksida lemak.

Sebagian besar produk hasil pemecahan rantai dari monohidroperoksida adalah molekul yang umumnya termasuk dalam dua kelompok yaitu: hidrokarbon sederhana dan aldehid rantai pendek. Oksidasi lemak pada fase lanjut (terminasi) menghasilkan senyawa malonaldehid (MDA) yang dapat berasal dari oksidasi asam linolenat. Pembentukan malonaldehid juga dapat berasal dari oksidasi lanjut 2-enal dan 2,4-dienal asam linoleat (Raharjo, 2004).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa tempe mengandung antioksidan seperti vitamin E, karotenoid, isoflavon yang dapat bereaksi dengan radikal bebas. Penelitian Astawan dkk (2013) menunjukkan bahwa dalam tempe kedelai dari berbagai varietas kedelai memiliki kapasitas antioksidan berkisar 186-191 mg AEAC/kg tempe. Antioksidan dalam tempe berupa isoflavon dalam bentuk aglikon dan glukosida. Senyawa aglikon antara lain genistein, daidzein dan glisitein (Nakajima, dkk., 2005).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna kadar TBA berdasarkan perlakuan pada tempe A (tempe yang difortifikasi zat besi) maupun tempe B (tempe yang difortifikasi zat besi + vitamin A) baik pada tempe mentah maupun matang. Artinya dengan meningkatnya kadar fortifikan (zat besi) yang ditambahkan, tidak menunjukkan peningkatan kadar TBA. Jadi baik pada tempe kontrol (tanpa fortifikasi) maupun tempe yang difortifikasi zat besi atau tempe yang difortifikasi zat besi + vitamin A tidak menunjukkan perbedaan kadar TBA nya, artinya kekhawatiran adanya efek oksidatif pada tempe fortifikasi zat besi dan vitamin A tidak terbukti.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini, daya terima tempe fortifikasi menunjukkan bahwa pada tempe yang difortifikasi zat besi maupun tempe yang difortifikasi zat besi + vitamin A, pada tempe mentah, tempe yang difortifikasi besi kadar 110 mg dan 130 mg dari segi aroma dan warna masih disukai panelis. Begitu juga pada tempe matang, dari rasa, aroma dan warna yang disukai adalah kadar zat besi 110 mg kemudian 130 mg. Kadar zat besi 150 mg sudah tidak disukai panelis.

Kadar asam thiobarbiturat (TBA) tempe tanpa fortifikasi dibandingkan tempe yang difortifikasi zat besi saja maupun tempe yang difortifikasi zat besi + vitamin A, tidak ada perbedaan yang bermakna, dimana dengan makin meningkatnya kadar zat besi (90 mg, 110 mg, 130 mg dan 150 mg) tidak menunjukkan peningkatan kadar TBA nya dibandingkan dengan tempe tanpa fortifikasi.

Saran

1. Dengan memperhatikan daya terima produk, fortifikasi zat besi pada tempe, kadar yang direkomendasikan adalah 110 mg dan 130 mg zat besi (Fe SO_4) /kg kedelai basah.
2. Penambahan zat besi pada tempe fortifikasi dengan kadar 90 mg, 110 mg dan 130 mg per kg kedelai basah tidak meningkatkan kadar TBA sehingga kadar 130 mg/ kg kedelai basah direkomendasikan untuk digunakan dalam pembuatan tempe fortifikasi sebagai upaya untuk menanggulangi anemia defisiensi besi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah memberikan dana pada penelitian ini yang merupakan bagian dari penelitian Hibah Bersaing Tahun 1

DAFTAR PUSTAKA

- Allen L., de Benoist, B., Dary, O., Hurrell R. (2006). *Guidelines on food fortification with micronutrients*. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations. Geneva, Switzerland.
http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241594012_eng.pdf.
- Adnan, M. dan Sudarmadji. (1997). *Contribution of Tempe for the Economy and Health of Indonesian in Reinventing the Hidden Miracle of Tempe*. Editors Sudarmadji S, Suparno dan Sri Raharjo.



- Proceedings International Tempe Symposium, Bali, Indonesia. Published by Indonesian Tempe Foundation.
- Apriyantono, A., Fardiaz, D., Puspitasari, N., Sedarnawati, dan Budiyanto. (1989). *Petunjuk Laboratorium Analisis Pangan*. IPB Press, Bogor.
- Astawan, M., Wresdiyati T., Widowati S., Bintari SH., Ichsan N. (2013). Karakteristik Fisikokimia dan Sifat Fungsional Tempe yang Dihasilkan dari Berbagai Varietas Kedelai. *Pangan* 22(3):241-251.
- Astuti, M. (1996). Tempe dan ketersediaan besi untuk penanggulangan anemia besi. *Dalam: Sapan dan Soetrisno, N., (ed.). Bunga Rampai Tempe Indonesia*. Yayasan Tempe Indonesia, Jakarta.
- Dijkhuizen, M.A., Wieringa, FT., West, CE., Muherdiyantiningsih, dan Muhilal. (2001). Concurrent micronutrient deficiencies in lactating mothers and their infants in Indonesia. *American Journal Clinical Nutrition* 73: 786-91.
- Fischer JG, Glauert HP, Yin T, Sweeney-Reeves ML, Larmonier N and Black MC. (2002). Moderate Iron Overload Enhances Lipid Peroxidation in Livers of Rats, but Does Not Affect NF- κ B Activation Induced by the Peroxisome Proliferator, Wy-14,643. *Journal Nutrition*. 132: 2525–2531. <http://jn.nutrition.org>.
- Gropper SS, Smith JL, Groff JL. (2009). *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Fifth ed. Wadsworth, Cengage Learning. Belmont, USA.
- Hardinsyah, Marhamah, dan Amalia, L. (2008). *Konsumsi Tahu dan Tempe Kedele di Indonesia*. Prosidings Perkembangan Terkini tentang Tempe : Teknologi, Standardisasi dan Potensinya dalam Perbaikan Gizi serta Kesehatan. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Hurrell R, Egli I. (2007). Optimizing the bioavailability of iron compounds for food fortification. In Kraemer K, Zimmerman MB. (ed). *Sight and Life Press. Nutritional Anemia*. Basel, Switzerland. <http://www.sightandlife.org/pdf/NAbook.pdf>.
- Lund, EK, Fairweather-Tait SJ, Wharf SG, Johnson IT. (2001). Chronic exposure to high levels of dietary iron fortification increases lipid peroxidation in the mucosa of the rat large intestine. *Journal Nutrition*. 131:2928-2931; ProQuest. <http://e-resources.pnri.go.id>. Diakses 6 April 2012.
- McLean E, Egli I, de Benoist B, Wojdyla D, Cogswell M. (2007). Worldwide prevalence of anemia in preschool aged children, pregnant women and non-pregnant women of reproductive age. In: Kraemer K and Zimmermann MB. (ed). *Nutritional Anemia*. Sight and Life Press. Basel, Switzerland. <http://www.sightandlife.org/pdf/NAbook.pdf>.
- Meilgaard M, Civille GV, Carr BT. (1999). *Sensory evaluation techniques*. Third Edition. CRP Press.
- Nakajima, N., Nozaki, N., Ishihara, K., Ishikawa, A., Tsuji, H. (2005). Analysis of Isoflavone Content in Tempeh, a Fermentasi Soybean, and Preparation of a New Isoflavone-Enriched Tempeh, *Journal of Bioscience and Engineering* 100:685-689.
- Palupi, N.S. (2010). Fortifikasi zat besi. *Food Review* 5(9):49-52.
- Raharjo S. 2004. *Kerusakan Oksidatif pada Makanan*. Penerbit Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Rahayu PW. (1998). *Penuntun praktikum Penilaian organoleptik*. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi FTP IPB, Bogor.
- Semba, R.D. dan Bloem, M.W. (2002). The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis. *European Journal Clinical Nutrition* 56: 271-281.
- Tawali, A.B. (2000). Fortifikasi zat besi pada ragi tempe dan analisis ketersediaan (availability) zat besi pada tempe yang dihasilkan (Suatu kajian fortifikasi mikronutrient pada makanan tradisional). *Seminar Makanan Tradisional*. Malang: Pusat Kajian Makanan Tradisional (PKMT) Universitas Brawijaya.
- World Health Organization. (2001). *Iron deficiency Anaemia. Assessment, Prevention, and control. A guide for programme managers*. WHO/NHD/01.3. World Health Organization, Geneva. http://whqlibdoc.who.int/hq/2001/WHO_NHD_01.3.pdf. Diakses 9 Juli 2010.
- World Health Organizations. (2006). *Guidelines on food fortification with micronutrients*. World Health Organization and Agriculture Organization of the United Nations. Geneva,



- Switzerland. http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241594012_eng.pdf. [15 Oktober 2010].
- Zimmermann, M.B., Biebinger, R., Rohner, F., Dib, A., Zeder, C., dan Hurrel, RF. (2006). Vitamin A supplementation in children with poor vitamin A and iron status increases erythropoietin and hemoglobin concentrations without changing total body iron. *American Journal Clinical Nutrition*. 84:580-6.
- Zimmermann, M.B. (2007). Interactions between iron and vitamin A, riboflavin, copper, and zinc in the etiology anemia. In: Kraemer, K., Zimmerman, MB., (ed.). *Nutritional anemia*. Sigh and Life Press. Basel, Switzerland.