



**KANDUNGAN ASAM LEMAK TIDAK JENUH PADA TEMPE
KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.)**

SKRIPSI

Oleh

**NOER IMAMAH
NIM 121810401021**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER**

2016



**KANDUNGAN ASAM LEMAK TIDAK JENUH PADA TEMPE
KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

Noer Imamah
NIM 121810401021

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER

2016

PERSEMBAHAN

Dengan ucap syukur kehadiran Allah SWT. buah perjuangan ini penulis persembahkan untuk:

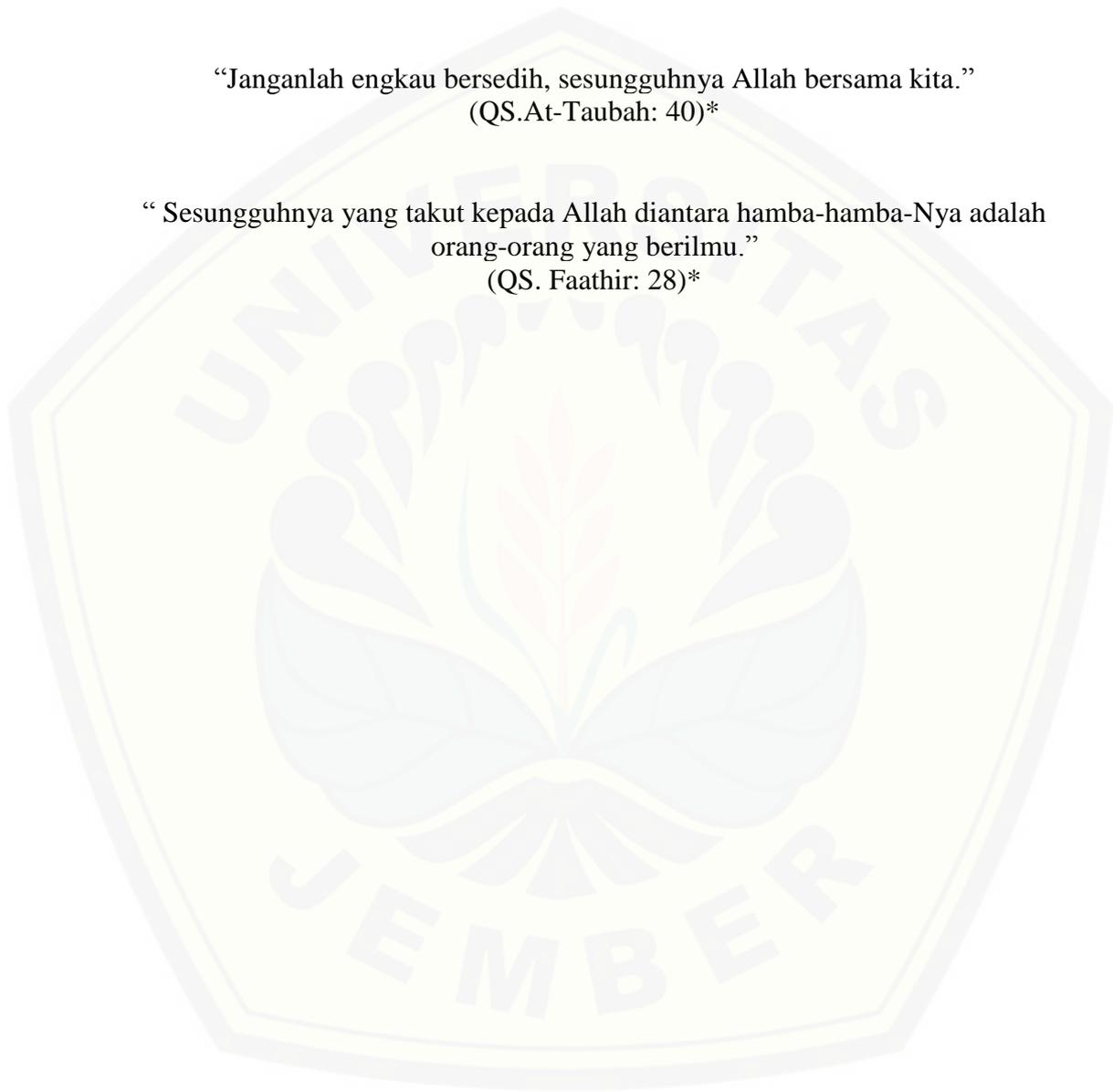
1. Pak dan Mak tersayang atas segala cinta kasih dan perjuangannya.
2. Saudaraku, Kak Maulana yang tak pernah lelah memberi motivasi dan perhatiannya serta ponakan tersayang Akfi yang selalu mendo'akan kesuksesanku dengan do'a ciliknya.
3. Maz boy, Asbullah yang selalu ada dalam keluh kesah dan selalu mendukung segala keputusanku.
4. Seluruh My causins dan segenap keluarga besar yang selalu memberikan dukungan baik dalam berbagai cara.
5. Guru-guruku sejak Sekolah Dasar hingga Perguruan Tinggi;
6. Almamater Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
7. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (Ditjen Dikti) Kementrian Pendidikan Nasional Beasiswa Bidik Misi.
8. Sahabat terkasih adinda Dita latifah dan Atikah Aly yang selalu ada dengan segenap cinta dan perhatiannya.
9. Sahabat plend-plend ku tercinta shohibul Masjid (Suvia, Nenny, Ela, Ika, Kiky, Lisa dan Lim) yang selalu ada dalam canda tawa dan air mata yang kita lalui bersama dengan saling memotivasi satu sama lain.
10. Sahabat shohibul BIOZVA, IAA Jember dan Seluruh sahabat Annuqayah
11. Sahabat beb dina, rinda dan ara serta segenap penghuni kos Arden yang setia menemani hari-hariku.
12. Anak didikku di Ananda Bimbel yang telah membangun semangat ku untuk selalu belajar lagi dan lagi apa yang telah kupelajari, adik Icha anak bimbingan OSN dengan semangat juang 45-nya dan adik Rachman adik didik ku yang membuat ku untuk selalu bersabar.

MOTTO

“I Have Allah.”

“Janganlah engkau bersedih, sesungguhnya Allah bersama kita.”
(QS.At-Taubah: 40)*

“ Sesungguhnya yang takut kepada Allah diantara hamba-hamba-Nya adalah orang-orang yang berilmu.”
(QS. Faathir: 28)*



*) Departemen Agama RI. 2004. Al Qur'an dan Terjemahannya: Al Jumanatul 'Ali (Seuntai Mutiara Yang Maha Luhur). Bandung: CV Penerbit J-ART

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Noer Imamah

NIM : 121810401021

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Kandungan Asam Lemak Tidak Jenuh Pada Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 17 November 2016

Yang menyatakan

Noer Imamah

NIM 121810401021

SKRIPSI

**KANDUNGAN ASAM LEMAK TIDAK JENUH PADA TEMPE
KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris L.*)**

Oleh

Noer Imamah

NIM 121810401021

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Drs. Siswanto, M.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Fuad Bahrul Ulum S.Si, M.Sc.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Kandungan Asam Lemak Tidak Jenuh Pada Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*)” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Jember

Tim penguji:

Ketua,

Sekretaris,

Drs. Siswanto, M.Si.
NIP 196012161993021001

Fuad Bahrul Ulum S.Si, M.Sc.
NIP 198409262008121000

Anggota I,

Anggota II,

Dr. rer. nat. Kartika Senjarini,
S.Si., M.Si
NIP 197509132000032001

Prof. Dr. Bambang sugiharto,
M.AgrSc.
NIP 195510221982121001

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D.
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

Kandungan Asam Lemak Tidak jenuh Pada Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*); Noer Imamah, 121810401021; 2016: 52 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Fermentasi tempe secara umum menggunakan kedelai, selain kedelai yang dapat diolah menjadi tempe diantaranya, yaitu; kacang koro, kacang hijau dan kacang merah. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi jenis dan kandungan asam lemak tidak jenuh sebelum fermentasi dan sesudah fermentasi kacang merah (*Phaseolus vulgaris L.*) dengan ragi RAPRIMA pada rentangan waktu fermentasi 24 dan 48 jam.

Metode penelitian meliputi fermentasi kacang merah dengan rentangan waktu 24 dan 48 jam dengan inokulum campuran dari ragi tempe merk RAPRIMA. Tempe yang sudah jadi kemudian dikeringkan dan dihaluskan sehingga terbentuk tepung tempe. Tepung tempe kemudian disaring menggunakan ayakan halus sehingga diperoleh tepung halus tempe. Tepung halus tempe sebesar 1 gram kemudian dilakukan ekstraksi asam lemak dengan tujuan memisahkan asam lemak dari sisa lemak dan gliserol. Asam lemak yang diperoleh dari hasil ekstraksi sebesar 0,03 gram selanjutnya dilakukan *transmethylestrifikasi* asam lemak dengan tujuan sampel yang bersifat non volatil menjadi volatil untuk dianalisis menggunakan (*Gas Chromatography Mass Spectrometry*) (GCMS).

Identifikasi jenis dan kandungan asam lemak tidak jenuh sebelum dan sesudah fermentasi kacang merah dianalisis dengan GCMS. Hasil analisis asam lemak tidak jenuh selama proses fermentasi kacang merah diperoleh 2 jenis asam lemak tidak jenuh yaitu; 9,12-Octadecadienoic acid (ω -6) pada fermentasi jam ke-48, dan 9-Octadecenoic acid (ω -9) pada fermentasi jam ke-24. Berdasarkan presentase area pada hasil kromatogram, optimalnya waktu fermentasi untuk kenaikan asam lemak tidak jenuh ialah pada fermentasi jam ke-48, hal tersebut terbukti dengan kadar asam lemak tidak jenuh essensial 9,12-Octadecadienoic acid mengalami kenaikan sebesar 72,53% pada fermentasi jam ke-48.

PRAKATA

BISMILLAHIRRAHMANIRRAHIM

Puji syukur kehadiran Allah azzawajallah yang telah memberikan nikmat, islam, dan iman sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Kandungan Asam Lemak Tidak Jenuh Pada Tempe Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris L.*)”. Shalawat serta salam semoga tetap tercurah limpahkan kepada baginda kita Nabi Muhammad SAW, dan sejenak keluarga, sahabat, yang telah membawa kebenaran di muka bumi ini.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Drs. Siswanto, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Fuad Bahrul Ulum S.si, M.sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan waktu, bimbingan serta arahan bagi penulis sehingga penulisan skripsi ini dapat tercapai;
2. Dr. Kahar Muzakhar, S.Si selaku dosen pembimbing analisis data dalam penelitian ini yang telah memberikan bimbingan dan nasehat-nasehat selama penulisan skripsi ini;
3. Prof. Bambang Sugiharto selaku Dosen Penguji I dan Rer. Nat. Kartika Senjarini selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini;
4. Prof. Sudarmadji selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan mengarahkan penulis selama menjadi mahasiswa aktif;
5. Ir. Endang Susetyaningsih, mas Imam dan pak Sutrisno selaku teknisi, staf Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Jember yang telah membantu dan melayani selama penelitian, bapak Sudomo selaku teknisi Laboratorium Universita Gadjah Mada dan ibu Novita teknisi laboratorium *Bioscience* POLITEKNIK Jember yang telah membimbing untuk analisis GCMS;

6. segenap jajaran dewan guru dan dosen yang selama ini membimbing dan mendidik kami dengan ikhlas;
7. seluruh keluarga yang selalu memberikan motivasinya
8. saudara-saudaraku di Shohibul Masjid, Mikro bebeh, Shohibul Biozva, Kos Arden yang menjadi tempat bertukar pikiran dan berbagi suka dukanya;
9. saudara-saudara Organisasi, HIMAKI, PAMADIKSI UNEJ, dan IKAHIMBI terima kasih atas semangat, perhatian, motivasi, dan kenangan yang tak kan terlupakan;
10. semua pihak terkait yang telah membantu atas rampungnya laporan hasil penelitian ini;
11. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Jazakumullah Khairuljaza'

Penulisan skripsi ini disusun sebaik mungkin, namun penulis tetap mengharap kritik dan saran konstruktif dari semua pihak demi kesempurnaan naskah ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 17 November 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan.....	2
1.4 Batasan Masalah.....	2
1.5 Manfaat.....	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Kacang Merah.....	3
2.2 Kandungan Nutrisi Kacang Merah	4
2.3 Asam Lemak	5
2.3.1 Asam Lemak Tidak Jenuh.....	5
2.4 Biosintesis Asam Lemak	7
2.5 Fermentasi.....	8
2.6 Ragi	9
2.7 Tempe Kacang Merah.....	10
2.8 Gas Chromatography and Mass Spectrometry (GC-MS)	11

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.2.1 Alat.....	13
3.2.2. Bahan	13
3.3 Rancangan Penelitian.....	13
3.4 Tahap Penelitian	14
3.4.1 Pembuatan Tempe Kacang Merah.....	14
3.5 Identifikasi Jenis dan Kandungan Asam Lemak Tidak Jenuh	14
3.6 Analisis Data	16
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Fermentasi Tempe Kacang Merah	17
4.2 Jenis dan Kandungan Asam Lemak Tidak Jenuh Pada Tempe Kacang Merah.....	18
BAB 5. PENUTUP.....	23
5.1 Kesimpulan.....	23
5.2 Saran.....	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	28

DAFTAR TABEL

Tabel 2.2 Analisis kandungan nutrisi biji kacang merah per 100 gram.....4
Tabel 4.1 Analisis GC-MS Fermentasi Tempe Kacang Merah.....19
Tabel 4.2 Asam Lemak Tidak Jenuh Pada Tempe Kacang Merah 20



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 A) Morfologi kacang merah, B) Anatomi biji kacang merah (<i>P. vulgaris</i> L.) (Sumber: Plantlist; Rania, 2010).....	3
Gambar 2.2 Struktur Kimia <i>Monounsaturated Fatty Acid</i> (MUFA).....	6
Gambar 2.3 Struktur Kimia <i>Polyunsaturated Fatty Acids</i> (PUFAs).....	6
Gambar 4.1 Hasil fermentasi tempe kacang merah jam ke 24 dan 48.....	17
Gambar 4.2 Hasil kromatogram masing-masing perlakuan fermentasi	21
Gambar 4.4 Struktur Kimia 9,12-Octadecadienoic acid.....	22
Gambar 4.4 Struktur Kimia 9-Octadecenoic acid	22

DAFTAR LAMPIRAN

A.	Komposisi Buffer.....	28
B.	Komposisi Buffer Na-Phospat (100 ml) PH 7,2.....	28
C.	Kromatogram Hasil 0 Jam Kacang Merah Sebelum Fermentasi	29
D.	Hasil MS Untuk 0 Jam Kacang Merah Sebelum Fermentasi (Peak 2)..	30
E.	Hasil MS Untuk 0 Jam Kacang Merah Sebelum Fermentasi (Peak 3)..	30
F.	Kromatogram Hasil 24 Jam Fermentasi Kacang Merah.....	31
G.	Hasil MS Untuk 24 Jam Fermentasi Kacang Merah (Peak 2)	32
H.	Kromatogram Hasil 48 Jam Fermentasi Kacang Merah.....	33
I.	Hasil MS Untuk 48 Jam Fermentasi Kacang Merah (Peak 2)	34

DAFTAR SINGKATAN



ACP	: Acyl Carrier Protein
ATP	: Adenosin Three Phosphat
FFA	: Free Fatty Acid
FID	: Flame Ionizations Detector
GC	: Gas Chromatography
GCMS	: Gas Chromatography Mass Spectrometry
GLA	: Gammma linolenic acid
MS	: Mass Spectrometry
MUFA	: Monounsaturated Fatty Acid
N ₂	: Gas Nitrogen
PID	: Photoionisation Detector
PUFAs	: Polyunsaturated Fatty Acids
RT	: Retention Time
SFA	: Saturated Fatty Acid
SNI	: Standart Nasional Indonesia
TCD	: Conductivity Detector

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tempe merupakan makanan tradisional Indonesia yang dibuat melalui fermentasi kedelai menggunakan kapang *Rhizopus* sp. (Rusmin dan Ko, 2010). Menurut catatan sejarah, tempe berasal dari Jawa Timur, Indonesia (Aoyogi dan Shurtleff, 2007). Proses fermentasi tempe menyebabkan perubahan fisik, biokimia, dan mikrobiologi yang menguntungkan terhadap kandungan nutrisinya (Astawan, 2004).

Tempe secara umum di Indonesia terdapat diberbagai macam olahan makanan fermentasi yang berbahan dasar kacang-kacangan dengan menggunakan *Rhizopus* sp. dan yang paling populer adalah tempe kedelai (Aoyogi dan Shurtleff, 2007). Selain itu bahan lain yang dapat diolah menjadi tempe yakni: kacang bogor, biji koro, kacang hijau, kacang tanah dan kacang merah (Kharisma, 2016; Radiati, 2016). Pada saat ini tempe kacang merah mulai dikembangkan sebagai salah satu alternatif pangan fungsional. Berdasarkan hasil penelitian Radiati (2016), diketahui kandungan nutrisi per 100 gram tempe biji kacang merah, yaitu: energi 336 (kal), karbohidrat 59,5 (g), protein 23,1 (g), dan lemak 1,7 (g). Menurut Camara, et.al. (2013), biji kering dari kacang merah (*P. vulgaris* L.) memiliki kandungan nutrisi kelas lipid penting seperti asam lemak linoleat (omega 6) dan asam lemak alfa linoleat (omega 3).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan asam lemak tidak jenuh yang terkandung dalam kacang merah yakni kandungan asam lemak tidak jenuh famili omega 3, asam lemak tidak jenuh famili omega 6 dan kemungkinan terbentuknya asam lemak lain dari proses fermentasi, serta peningkatan pemanfaatannya sebagai bahan dasar tempe.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu :

- a) Kandungan asam lemak tidak jenuh apa sajakah yang terdapat pada tempe kacang merah (*P. vulgaris* L.) ?
- b) Berapakah lama fermentasi kacang merah (*P. vulgaris* L.) yang dibutuhkan untuk menghasilkan asam lemak tidak jenuh yang optimal ?

1.3 Tujuan

Adapun tujuan dalam penelitian ini yaitu :

- a) Untuk mengetahui kandungan jenis asam lemak tidak jenuh pada tempe kacang merah.
- b) Untuk mengetahui lama fermentasi kacang merah (*P. vulgaris* L.) yang dibutuhkan untuk menghasilkan asam lemak tidak jenuh.

1.4 Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada tahap uji kandungan asam lemak tidak jenuh pada tempe kacang merah (*P. vulgaris* L.) dengan rentangan waktu fermentasi 24 jam dan 48 jam serta penggunaan ragi tempe merk RAPRIMA.

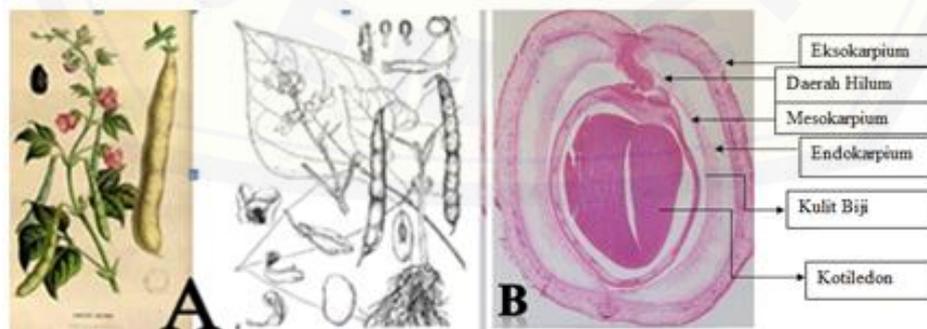
1.5 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa informasi ilmiah mengenai kandungan jenis asam lemak tidak jenuh dan pengaruh lama fermentasi tempe biji kacang merah (*P. vulgaris* L.) terhadap kandungan asam lemak tidak jenuh.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kacang Merah

Kacang merah (*P. Vulgaris* L.) merupakan tanaman yang tergolong dalam famili fabaceae sebagai tanaman berkayu, dan jarang berduri. Akar terdapat nodul yang berfungsi untuk mengikat nitrogen dengan bantuan bakteri, buah tergolong pada buah kotak, yaitu buah kering sejati tunggal yang mengandung banyak biji, terdiri atas beberapa daun buah dengan karakter buah polong, artinya jika sudah masak pecah, dengan ada beberapa sekat yang menyebabkan ruang buah polong terbagi menjadi beberapa bilik masing-masing dengan satu biji, semua biji duduk pada tangkai yang keluar dari tembuni (*placenta*). Tangkai pendukung biji tersebut disebut tali pusar (*funiculus*), bagian biji perlekatan tali pusar disebut pusar biji (*hilus*) (Cronquist, 1981; Tjitrosoepomo, 2007). Biji kacang merah adalah biji pecah sederhana yang berkembang dari carpel tunggal, silinder, mengerut antara biji, membelah sepanjang suturnya. Biji kacang merah memiliki sifat yang dapat memecah biji menjadi dua (*dehiscence*), pertama melalui persatuan margin carpel dan kedua sepanjang bundel vaskular median. Pericarpium, dinding ovarium matang, terdiri dari tiga lapisan yang berbeda; yaitu, eksokarpium, mesokarpium dan endokarpium (Rania, 2010).



Gambar 2.1 A) Morfologi kacang merah, B) Anatomi biji kacang merah (*P. vulgaris* L.)
(Sumber: Plantlist; Rania, 2010).

Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Division	: Spermatophyta
Class	: Equisetopsida
Subclass	: Magnoliidae
Superorder	: Rosanae
Order	: Fabales
Family	: Fabaceae
Genus	: Phaseolus
Species	: <i>P. vulgaris</i> L.

2.2 Kandungan Nutrisi Kacang Merah

Kacang merah memiliki kandungan nutrisi yang lengkap diantaranya adalah protein, karbohidrat, vitamin, serat kasar, dan mineral. Bila dilihat kandungan nutrisinya, kacang merah cukup berpotensi sebagai bahan makanan yang sehat dan murah. Kelayakan kacang merah sebagai bahan pangan pada masa kini dan masa mendatang ditunjukkan oleh potensi kandungan nutrisinya (Persagi, 2009).

Kacang merah memiliki kandungan lemak yang relatif rendah, yaitu 1,5 g per 100 gram, yang terdiri dari asam lemak jenuh 19% dan asam lemak tidak jenuh 63,3%. Sebagian besar asam lemak jenuh berbentuk asam palmitat sedangkan asam lemak tidak jenuh berbentuk asam oleat, asam linoleat, dan asam linolenat (Astawan, 2009).

Tabel 2.2 Analisis kandungan nutrisi biji kacang merah per 100 gram

Nutrisi	Kadar per 100 g
Asam lemak jenuh	0,07g
Asam lemak tidak jenuh tunggal	0,04g
Asa lemak tidak jenuh ganda	0,28g
Omega-3	0,17g
Omega-6	0,11g

Sumber: Arnarson. Atli (2016).

2.3 Asam Lemak

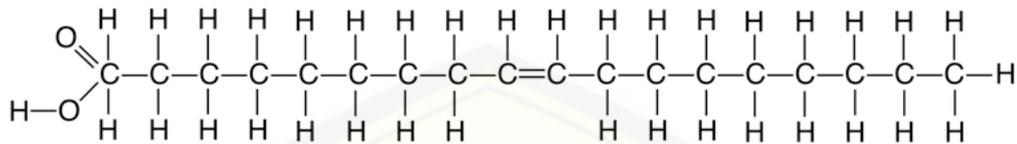
Lemak merupakan molekul besar yang tersusun dari sejumlah molekul yang lebih kecil melalui reaksi dehidrasi (Campbell, 2008). Sifat umum lemak, yaitu relatif tidak dapat larut dalam air dan larut didalam pelarut non polar (Murray, 2009). Lemak memiliki peran penting dalam menghasilkan energi, lemak dalam menghasilkan energi dua kali lebih banyak dibandingkan dengan protein dan karbohidrat. Hasil hidrolisis lemak akan membentuk dua komponen dasar lemak yaitu, asam lemak dan gliserol, minyak maupun senyawa lipid lainnya (Sartika, 2008).

Asam lemak merupakan senyawa hidrokarbon yang berantai panjang dengan gugus karboksilat (-COOH) pada ujungnya (Rusdiana, 2004). Asam lemak pada umumnya berikatan dengan molekul lain, seperti fosfolipida dan trigliserida. Asam lemak yang tidak berikatan dengan molekul lain disebut asam lemak bebas (*Free Fatty Acid/FFA*) (Erna, 2008). Asam lemak berdasarkan rantai ikatan gandanya dibagi menjadi dua yaitu, **jenuh** (*saturated fatty acid/SFA*) (tidak mengandung ikatan rangkap) dan **tidak jenuh** (*unsaturated fatty acid*) (mengandung satu atau lebih ikatan rangkap) (Murray, 2009).

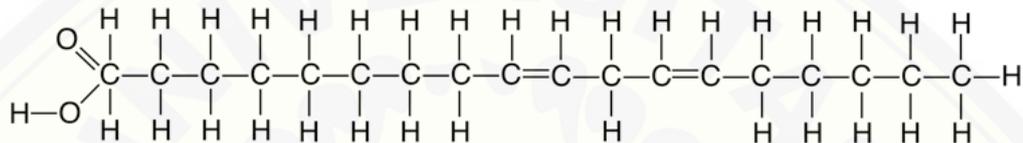
2.3.1 Asam Lemak Tidak Jenuh

Asam lemak tidak jenuh adalah asam lemak yang memiliki ikatan rangkap, dengan struktur berotasi kaku, hal tersebut dikarenakan adanya rantai ikatan rangkap. Asam linoleat merupakan salah satu contoh asam lemak tidak jenuh yang memiliki ikatan rangkap yang nonkonjugasi, artinya ikatan rangkap tidak terletak berdampingan tetapi terpisah oleh gugus metil namun ada juga asam lemak tidak jenuh yang ikatan rangkapnya berkonjugasi yaitu asam α -elaestearat yang merupakan isomer asam linolenat. Perbedaan ikatan rangkap nonkonjugasi dan konjugasi dalam reaktivitas kimianya ialah lebih reaktif dan mudah berpolimerasi dibandingkan asam lemak yang ikatan rangkapnya nonkonjugasi (Girindra, 1990; Sartika, 2008). Asam lemak tidak jenuh dapat dibagi lagi menjadi asam lemak tidak jenuh tunggal/ *Monounsaturated Fatty Acid* (MUFA) (gambar 2.3.1)

dan asam lemak tidak jenuh ganda/ *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFAs) (gambar 2.3.1.a) (Murray, 2009).



Gambar 2.2 Struktur Kimia *Monounsaturated Fatty Acid* (MUFA)



Gambar 2.3 Struktur Kimia *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFAs)

Asam lemak **tidak-jenuh tunggal** adalah asam lemak yang mengandung satu ikatan rangkap. Asam lemak ini tergolong dalam asam lemak rantai panjang, yang kebanyakan ditemukan dalam minyak zaitun, minyak kedelai, minyak kacang tanah, minyak biji kapas, dan kanola. Minyak zaitun adalah salah satu contoh yang mengandung MUFA 77% (Fennema, 1996). *Mono Unsaturated Fatty Acid* (MUFA) yang sering diketahui ialah dari golongan omega -9: asam oleat (ω -9) (Murray, 2009).

Asam lemak **tidak-jenuh ganda** adalah asam lemak yang mengandung dua atau lebih ikatan rangkap. Asam lemak tidak jenuh, *Polyunsaturated Fatty Acids* (PUFAs) mempunyai panjang karbon 18 atau lebih dan memiliki 2 atau lebih ikatan ganda dalam posisi cis, bentuk cis merupakan bentuk struktur yang kurang stabil jika dibandingkan dengan bentuk struktur trans. PUFAs dapat digolongkan menjadi 2 famili utama, yaitu famili omega 3 dan famili omega 6 (David S, 1997; Girindra, 1990). Omega 3 memiliki ikatan ganda yang pertama pada atom karbon nomor 3 dari gugus metil, sedangkan omega 6 memiliki ikatan ganda yang pertama pada atom karbon nomor 6 dari gugus metil (Erna, 2008). Asam lemak tidak jenuh ganda (PUFAs), yaitu: asam lemak arakhidonat, linoleat dan linolenat

antara lain berperan penting dalam menjaga bagian struktural dari membran sel, dan perkembangan otak (Imre & Sahgk, 1997). Famili omega 6 (*Gamma linolenic acid* (GLA)) sangatlah diperlukan bagi kesehatan manusia (Demaison, L. 2002). *Gamma linolenic acid* (GLA) digunakan untuk menanggulangi penyakit sidrome pre-menstruasi, hipertensi, inflamatori, beberapa penyakit kulit dan gangguan kardiovaskular (Gil, A. 2002). Menurut Diana (2013) asam linoleat (omega 6) berfungsi untuk kecerdasan balita, mencegah penyakit jantung, depresi, dan meningkatkan daya tahan tubuh.

2.4 Biosintesis Asam Lemak

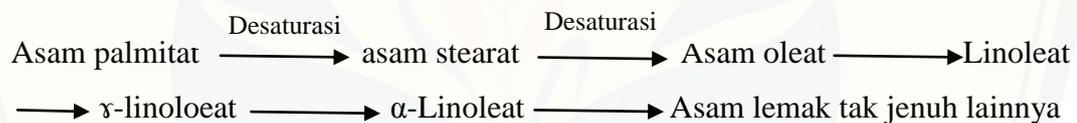
Hidrolisis lemak dengan asam akan menghasilkan asam lemak dan gliserol sedangkan hidrolisis lemak dengan enzim dapat dilakukan dengan enzim lipase akan menghasilkan asam lemak dan monogliserida. Pembentukan asam lemak di tingkat sel berlangsung dalam sitosol, sedangkan oksidasi asam lemak terjadi pada mitokondria. Enzim yang mengkatalisis biosintesis asam lemak melibatkan tujuh protein (enam protein memiliki fungsi katalitik) dan protein yang ketujuh memiliki fungsi sebagai mengkait dan membawa senyawa yang direaksikan sering dikenal sebagai *acyl carrier protein* (ACP) serta tahapan reaksi biosintesisnya melibatkan peran asetil Ko-A (Martoharsono, 2000).

Asetil KoA dalam mitokondria berasal dari tiga sumber yaitu: 1. Dekarboksilasi asam piruvat 2. Degradasi asam amino dan 3. β - oksidasi asam lemak. Senyawa yang tidak dapat menembus mitokondria untuk menuju kesitosol dimana sintesis asam lemak berlangsung. Asetil KoA dapat keluar mitokondria ialah dengan jalan mengubah senyawa tersebut menjadi asam sitrat yang dapat diperoleh dari campuran asetil KoA dan asam oksaloasetat, setelah sitrat ditransfer dari mitokondria ke dalam sitosol, maka sitrat mengalami pembelahan yang dikatalisis oleh liase ATP-sitrat (Armstrong, 1995; Martoharsono, 2000). Reaksi untuk menghasilkan asetil KoA yaitu:



Langkah awal pembentukan asam lemak dimulai dengan pengubahan asetil KoA menjadi *malonil KoA* (Karboksilasi), yang dikatalis oleh enzim asetil KoA

karboksilase, proses karboksilasi ini tergantung keberadaan ATP dan kofaktor (Mn^{2+} dan biotin), kemudian *malonil KoA* berikatan dengan ACP (mengandung gugus 4'-fosfopantetein yang pada ujung terminalnya terdapat gugus sulfhidril) menjadi *malonil sulfhidril acyl carrier protein* (Malonil-S-ACP), selanjutnya malonil-S-ACP berikatan dengan asetil yang dikatalisis oleh enzim β -Ketoasil-ACP sintase menghasilkan *asetoasetil S-ACP* yang kemudian direduksi dengan enzim β -ketoasil-reduktase menghasilkan *D- β -OH-butiril-S-ACP*, proses selanjutnya ialah dehidrasi dan reaksi reduksi kedua menghasilkan *butiril-S-ACP* kemudian senyawa tersebut direaksikan dengan sintase menghasilkan *butiril-S-sintase*, siklus sintesis yang telah dijelaskan diatas dilalui sebanyak 7 kali untuk menghasilkan asam palmitat (prekursor asam stearat dan asam lemak jenuh). Asam palmitat (C_{16}) mengalami desaturasi sehingga menjadi palmitoleat dan mengalami penambahan 2 atom karbon sehingga terbentuk asam stearat (C_{18}) (Armstrong, 1995; Lehninger,1993; Martoharsono, 2000). Reaksi jalur pembentukan asam palmitat menjadi asam lemak tak jenuh, yaitu:



2.5 Fermentasi

Fermentasi merupakan proses pemecahan karbohidrat dan asam amino menjadi senyawa lain tergantung dari jenis fermentasinya, baik fermentasi secara aerob ataupun anaerob menghasilkan produk-produk yang berbeda dan masing-masing spesifik terjadi pada kelompok bakteri tertentu (Fardiaz, 1992). Fermentasi terdiri atas glikolisis plus reaksi-reaksi yang meregenerasi NAD^+ dengan cara menstansfer elektron dari $NADH$ ke piruvat atau turunan piruvat. NAD^+ kemudian dapat digunakan ulang untuk mengoksidasi gula melalui glikolisis, dengan hasil netto 2 molekul ATP melalui fosforilasi tingkat substrat. Ada banyak tipe fermentasi yang berbeda dalam hal produk akhir yang terbentuk dari piruvat. Dua bentuk tipe fermentasi yang umum adalah fermentasi alkohol dan fermentasi asam laktat (Campbell et al. 2008)

Proses fermentasi menggunakan bakteri asam laktat dapat menyebabkan terjadinya lipolisis dan hidrogenasi khususnya asam lemak tidak jenuh ganda (PUFAs) yaitu asam linoleat dan asam lemak linolenat. Hidrogenasi terjadi karena aktifitas bakteri yang dimulai dengan isomerisasi dan reduktase. Asam linolenat (C18:3 n-3) umumnya mengalami hidrogenasi sempurna menjadi asam stearat (C18:0), sedangkan hidrogenasi asam linoleat berlangsung tidak sempurna sehingga menghasilkan asam stearat dan asam trans-vaksenat (C18:1 n7). Proses fermentasi nampaknya juga mengaktifkan kerja enzim 9 desaturase sehingga terjadi peningkatan asam arakidonat dan CLA dari asam trans vaksenat (Jiang, 1998).

2.6 Ragi

Ragi umumnya digunakan dalam industri makanan untuk membuat makanan dan minuman hasil fermentasi seperti tempe, roti, tape dan bir. Ragi mengandung mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk fermentasi dan media biakan bagi mikroorganisme tersebut. Media biakan ini dapat berbentuk butiran-butiran kecil atau cairan nutrisi. Mikroorganisme yang digunakan di dalam ragi terdiri atas *kapang* golongan Rhizopus (Feng, 2006). Mikroorganisme yang paling berperan dalam pembentukan tempe secara umum adalah genus *Saccharomyces* dan *Rhizopus* (Suharyanto, 2006).

Kapang merupakan fungi multiseluler yang berfilamen, pada makanan memiliki penampakan berserabut seperti kapas dengan sifat morfologi tersusun atas filamen-filamen yang bercabang (*misellium*) (Fardiaz, 1992). Kapang memiliki keunggulan dibandingkan dengan mikrob yang lainnya dalam sifat fisiologisnya yaitu, tetap dapat tumbuh dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Waluyo, 2012). Sifat fisiologi kapang berdasarkan kebutuhan oksigen ialah bersifat aerobik yaitu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya, PH 2-8.5 dan berdasarkan suhu pertumbuhannya kapang dapat bersifat mesofilik, psikrotrofik dan termofilik. Kapang secara umum memproduksi enzim hidrolitik, misalnya amilase, pektinase, proteinase dan lipase (Fardiaz, 1992).

Kapang yang memiliki aktivitas lipolitik adalah kapang yang memiliki kemampuan memecah lemak menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana melalui lipase. Lipase merupakan enzim yang menghidrolisis lemak mono-, di-, dan trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Mikroorganisme hidrokarbonoklastik merupakan mikrob yang menghasilkan suatu senyawa berupa enzim lipase. Aktivitas mikroba dalam mendegradasi hidrokarbon menggunakan lipase disebut aktivitas lipolitik. (Falony et al., 2006). Aktivitas lipase meningkat selama proses fermentasi oleh *Rhizopus spp.* akan mengakibatkan pembentukan asam oleat (omega 9). Asam oleat merupakan prekursor untuk produksi asam linoleat (omega 6), dan asam lemak golongan omega 9 digunakan sebagai substrat oleh jamur lipolitik untuk menghasilkan asam linoleat (Almatsier, 2006). asam oleat akan dikonversi menjadi asam linoleat dengan bantuan enzim desaturase (Chatra et.al, 2012).

2.7 Tempe Kacang Merah

Prinsip dasar pembuatan tempe kacang merah adalah pembersihan, pencucian, perebusan, perendaman, pencucian, penambahan ragi, pengemasan dan fermentasi (Radiati, 2016). Tiga fase dalam Proses fermentasi tempe yaitu: (a) Fase pertumbuhan cepat (0-30 jam fermentasi), (b) fase transisi (30-50 jam fermentasi), (c) fase pusbukan atau fermentasi lanjut (50-90 jam fermentasi), (Kasmidjo dalam Widoyo,2010). Pada tempe terdapat enzim-enzim yang dihasilkan oleh kapang tempe selama proses fermentasi, sehingga protein, lemak dan karbohidrat menjadi lebih mudah di absorpsi (Suparmo dan Markakis, 1987).

Rhizopus oligosporus mampu menghasilkan enzim-enzim protease. Senyawa kompleks protein dirombak menjadi senyawa-senyawa lebih sederhana, hal ini penting dalam fermentasi tempe, dan merupakan salah satu faktor utama penentu kualitas tempe, yaitu sebagai sumber protein nabati yang memiliki nilai cerna amat tinggi. Kandungan protein yang dinyatakan sebagai kadar total nitrogen memang tidak berubah selama fermentasi. Perubahan terjadi atas kadar protein terlarut dan kadar asam amino bebas. Enzim berfungsi sebagai aktivator dalam reaksi biokimia dan bersifat spesifik terhadap substrat, sehingga

mempermudah proses pemutusan suatu rantai kompleks tertentu (Syamsudin, dkk, 2008). Adanya enzim proteolitik menyebabkan degradasi protein kacang merah, menjadi asam amino, sehingga nitrogen terlarut meningkat dari 0,5 menjadi 2,5%. Aktivitas protease terdeteksi setelah fermentasi 12 jam ketika pertumbuhan hifa kapang masih relatif sedikit, hanya 5% dari hidrolisis protein yang digunakan sebagai sumber karbon dan energi. Sisanya terakumulasi dalam bentuk peptida dan asam amino. Asam amino mengalami perubahan dari 1,02 menjadi 50,95 setelah fermentasi 48 jam (Nurhidayat dkk., 2006).

Berdasarkan hasil penelitian Radiati (2016) mengenai tempe kacang merah memiliki karakter organoleptik (rasa, penampakan, aroma dan warna) dapat diterima oleh panelis, tempe kacang merah yang dihasilkan berwarna putih, warna putih disebabkan adanya miselia jamur yang tumbuh pada substrat, memiliki aroma yang khas, ditunjukkan dengan adanya bau seperti tape atau alkohol dan rasanya hampir menyerupai tempe kedelai dengan tekstur yang lebih lembut dan gurih. Analisis statistik kadar protein rerata kadar protein tempe kacang merah berdasarkan hasil penelitian Kharisma (Tanpa Tahun) adalah 17,85%. Jika disesuaikan dengan syarat mutu SNI maka tempe kacang merah kadar proteinnya sudah memenuhi standar minimal 16, dengan demikian kacang merah memenuhi syarat dijadikan bahan dasar tempe yang disesuaikan dengan syarat mutu SNI baik dari sifat organoleptik dan analisis nutrisinya.

2.8 Gas Chromatography and Mass Spectrometry (GC-MS)

Prinsip GC-MS ialah 2 teknik analisis yang berbeda. Instrumen GC-MS terdiri dari dua komponen utama yaitu:

1. Gas Chromatography (GC) merupakan jenis kromatografi yang terdiri dari dua fase, yaitu fase gerak dan fase diam. Fase gerak terdiri dari inert gas seperti helium, argon, hidrogen atau nitrogen, membawabeberapa senyawa yang akan dianalisis melalui kolom sedangkan fase stasioner adalah lapisan mikroskopis cairan atau polimer diatas padatan kaku dalam kaca atau logam tabung yang disebut kolom. Prinsip dari GC adalah sampel menyapu palung kolom dengan aliran gas helium yang

lain .Komponen dalam sampel terpisah satu sama lain karena perbedaan lama waktu untuk melewati kolom yang lain.

2. Mass Spectrometry (MS) adalah detektor untuk sampel GC. Detektor untuk GC tersedia dengan jumlah besar, diantaranya yaitu PID Photoionisation detector, thermal conductivity detector TCD, dan flame ionizations detector (FID) yang sering digunakan dalam bentuk kromatogram. MS dapat memberikan informasi identifikasi struktural rinci dari senyawa yang diperoleh dari GC. Prinsip MS adalah sebagai keluaran sampel akhir dari kolom GC yang terfragmentasi oleh ionisasi, dan fragmen diurutkan berdasarkan massa untuk membentuk pola fragmentasi. Waktu retensi (RT) merupakan contoh pola fragmentasi untuk salah satu komponen sampel unik, oleh karena itu analisis tersebut merupakan identifikasi karakteristik dari suatu komponen. Hal ini sangat spesifik yang sering disebut sebagai sidik jari molekul (Hussain,2014; Kaspar, 2009).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2016 sampai November. Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gadjah Mada.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Gas Chromatograph and Mass Spectrometer* (GCMS), *centrifuge*, *shaker*, neraca analitik, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri, autoklaf, beaker glass, ose, bunsen, vortex, pipet ukur, oven blander dan hot plate.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari biji kacang merah yang sudah dikeringkan, ragi tempe merk RAPRIMA, kloroform, methanol, NaCl pekat dalam aquades, hexana, buffer fosfat, *trace element*, BF₃ Methanol 20%, spiritus, buffer natrium fosfat Ph 7,2, gas nitrogen, alkohol, methanol-kloroform dan akuades.

3.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan dalam penelitian adalah menggunakan metode deskriptif. Dengan pembagian kelompok uji dari penelitian ini :

Kelompok 1 : Kelompok kontrol (tanpa fermentasi) kacang merah selama 0 jam, dianalisis identifikasi jenis dan kandungan asam lemak tidak jenuh.

Kelompok 2 : Kelompok perlakuan fermentasi Kacang merah selama 24 Jam, dianalisis identifikasi jenis dan kandungan asam lemak tidak jenuh.

Kelompok 3 : Kelompok perlakuan fermentasi Kacang merah selama 48 Jam, dianalisis identifikasi jenis dan kandungan asam lemak tidak jenuh.

3.4 Tahap Penelitian

3.4.1 Pembuatan Tempe Kacang Merah

Cara Pembuatan tempe dari biji Kacang Merah

- 1) Kacang merah sebanyak 500 gram direbus selama 10 menit, setelah matang kacang merah dibuang kulitnya, dipotong kecil-kecil dan direndam selama 24 jam.
- 2) Kacang merah dicuci bersih dan direbus kembali selama 5 menit dan didinginkan.
- 3) Tahap berikutnya adalah peragian, dengan cara mencampurkan bubuk ragi sebanya 5 gram pada kacang merah sebanyak 500 gram. Peragian dilakukan secara aseptik agar terjaga kesterilisasiannya dan dapat menghasilkan asam lemak tidak jenuh.
- 4) Kacang merah yang telah diberi ragi dibungkus dengan plastik yang telah dilubangi untuk pertukaran gas oleh mikroba selama proses fermentasi berlangsung, dengan lama waktu fermentasi 16 jam, 24 jam dan 48 jam, diperoleh tempe.

3.5 Identifikasi Jenis dan Kandungan Asam Lemak Tidak Jenuh

a. Ekstraksi Asam Lemak

Tempe yang akan diekstrak asam lemaknya dipotong kecil-kecil dan dikeringkan lebih dulu pada temperatur 40 - 45°C selama 2 x 24 jam. Tempe yang sudah kering dihancurkan sampai menjadi tepung. Satu gram sampel halus tempe kacang merah kering dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian diberi 3 ml larutan metanol-chloroform (1:1) dan digoyang dengan tangan selama 5 menit.

Selanjutnya ditambahkan 2 ml buffer Na Phosphat dan 1 ml kloroform, goyang kembali selama 5 menit. Sampel disentrifuge dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Setelah disentrifuge sampel akan menghasilkan 2 fase, buang bagian atas, kemudian tambahkan kembali 1 ml kloroform dan goyang kembali selama 5 menit. Selanjutnya sampel disentrifuge kembali dengan kecepatan 2000 rpm selama 2 menit. Pindahkan sampel yang telah disentrifuge kedalam tabung reaksi. Kemudian sampel diuapkan menggunakan gas nitrogen (N₂), hingga tersisa asam lemak yang tersisa didasar tabung reaksi.

b. Transmethylesterifikasi Sampel

Transmethylesterifikasi dilakukan dengan cara mencampurkan 1 ml BF₃ Methanol 20% dengan hasil ekstraksi asam lemak yang diperoleh dan diinkubasi pada *Hot Plate* dengan suhu 60°C selama 30 menit. Methyl ester yang didapatkan kemudian ditambah dengan 1 ml heksana dan dikocok perlahan. Fase heksana kemudian diambil dan diuapkan dengan gas nitrogen (N₂), untuk menghilangkan sisa air. Selanjutnya pada tiap-tiap sampel ditambahkan heksana dengan volume yang sama dan dianalisis menggunakan *Gas Chromatograph and Mass Spectrometer* (GCMS) (Siswanto & Muzakhar, 2009).

c. Analisis Asam Lemak Tidak Jenuh

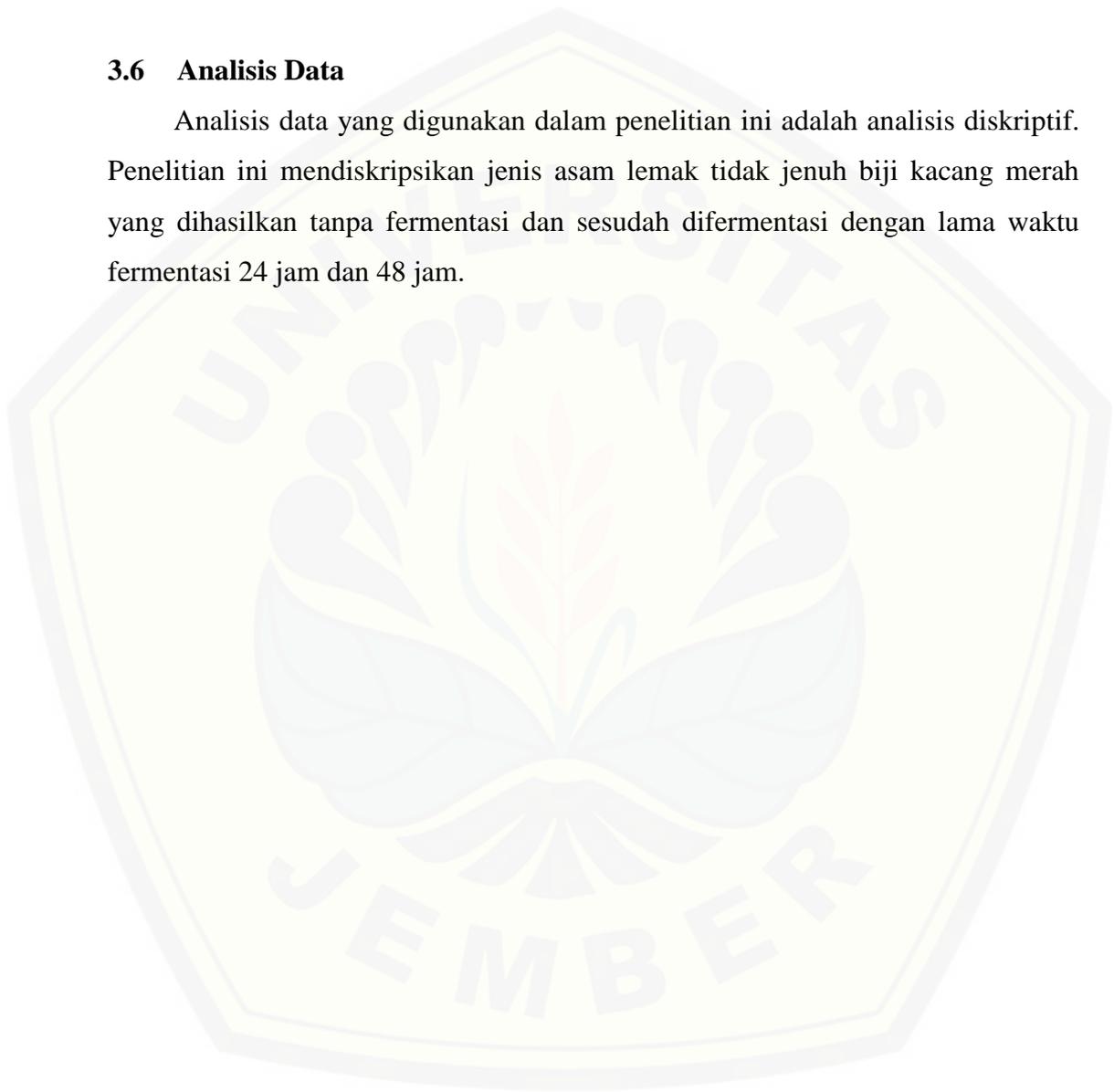
Sampel yang diperoleh dari proses transmethylesterifikasi bersifat volatil (mudah menguap) karena asam lemak telah berikatan dengan metil alkohol, sehingga harus langsung dianalisis menggunakan *Gas Chromatograph and Mass Spectrometer* (GCMS).

Cara GCMS membaca sampel yang diinginkan ialah sampel yang telah bersifat volatil diinjeksikan kedalam kolom dengan cara injector, injector tersebut suhunya telah dioptimasi dengan suhu 300.00°C kemudian sampel ditransfer pada kolom suhu 70.0°C, sehingga sampel tersebut memisah berdasarkan fase gerak pada kolom dengan waktu yang dibutuhkan (RT) oleh masing-masing molekul ion berbeda. Metode ionisasi yang digunakan adalah dampak electron (EI) yang menyebabkan molekul ions memecah menjadi framen-framen yang lebih kecil.

Fragmen diurutkan berdasarkan massa untuk membentuk pola fragmentasi yang memberikan informasi penting mengenai struktur molekul sampel yang terionisasi. Berdasarkan puncak kromatogram dari masing-masing spectrum akan dianalisis oleh database librari di MS.

3.6 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis diskriptif. Penelitian ini mendeskripsikan jenis asam lemak tidak jenuh biji kacang merah yang dihasilkan tanpa fermentasi dan sesudah difermentasi dengan lama waktu fermentasi 24 jam dan 48 jam.



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa selama proses fermentasi kacang merah diperoleh 2 jenis asam lemak tidak jenuh yang tergolong omega 6 dan 9 yaitu; 9,12-Octadecadienoic acid pada fermentasi jam ke-48, dan 9-Octadecenoic acid pada fermentasi jam ke-24. Berdasarkan presentase area optimalnya waktu fermentasi untuk kenaikan asam lemak tidak jenuh ialah pada fermentasi jam ke-48, hal tersebut terbukti dengan kadar asam lemak tidak jenuh essensial 9,12-Octadecadienoic acid mengalami kenaikan sebesar 72,53% pada fermentasi jam ke-48.

5.2 Saran

Adapun saran untuk penelitian selanjutnya agar dapat dikaji lebih lanjut yaitu sebagai berikut:

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut menggunakan beberapa isolat murni dalam pembuatan tempe kacang merah.
2. Perlu dilakukan uji lanjutan pengamatan setiap 6 jam fermentasi terhadap kinetika pertumbuhan mikrob.
3. Perlu dilakukan uji lanjutan mengenai asam lemak tidak jenuh 9-Oktadecenoic acid dan 9,12-Octadecadienoic acid untuk dianalisis dengan GCMS menggunakan standart.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. 2006. *Prinsip-Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Aoyogi, akiko and Shurtleff. 2007. *History of Tempeh*. California: Soyinfo Center.
- Armstrong, F. B. 1995. *Buku Ajar Biokimia*. Jakarta: EGC.
- Arnarson. A. 2016. *Kidney Beans 101: Nutrition Facts And Health Benefits*. <https://authoritynutrition.com/foods/kidney-beans/.htm>. Diakses pada tanggal 03 April 2016.
- Astawan, M. 2004. *Tetap Sehat dengan Produk Makanan Olahan*. Jakarta: Tiga Serangkai.
- Astawan, M. 2009. *Sehat dengan Hidangan Kacang-kacangan dan Biji-bijian*. Jakarta : Panebar Swadaya.
- Camara. C, et.al. 2013. Pinto Beans (*P. vulgaris* L.) as a Functional Food: Implications on Human Health. *J. Agriculture*. 22: 4-5.
- Campbell, J. B. 2008. *Biologi. Edisi kedelapan. Jilid 1*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Chatra, S.K.R. et.al. 2012. Fatty acid composition of cooked and fermented beans of the wild legumes (*Canavalia*) of coastal sand dunes. *International Food Research Journal* 19(4): 1401-1407.
- Cronquist, Arthur. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- David S. And Nichols, P. D. 1997. Polyunsaturated fatty acids in the psychrophilic bacterium *Shewanella gelidimarina* ACAM456T : molecular species analysis of major phospholipids and biosynthesis of eicosapentaenoic acid, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism. Science Direct*, 1347: 164-176.

- Deliani. 2008. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein, Lemak dan Asam Fitat Pada Pembuatan Tempe. PhD Thesis. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Demaison, L. M. 2002. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease-related mortality: a possible mechanism of action. *Cell Mol. Life Sci*, 59: 463–477.
- Departemen Agama RI. 2004. Al Qur'an dan Terjemahannya: Al Jumanatul 'Ali (Seuntai Mutiara Yang Maha Luhur). Bandung: CV Penerbit J-ART
- Diana, Melva, dan Fevi. 2013. Omega 6. *J kesehatan Masyarakat*, Vol. 7, No.1. *Studi Literatur* 6: 4-5.
- Erna. 2008. Polyunsaturated Fatty Acids (PUFAs). Brussel: Information Fact Sheets.
- Falony, A. A. 2006. Production of Extracellular Lipase From *Aspergillus niger* by Slid-State Fermentation. *Food Techno.Biotechnol.* 44 (2): 235-240.
- Feng, X. M., T.O Larsen, and J. Schnurer. 2006. Production of Volatile Compounds by *Rhizopus oligosporus* During Soybean and Barley Tempeh fermentation. *International Journal of Food Microbiology.* (113): 133-141.
- Fennema, O. 1996. *Food Chemistry.3 ed.* USA: Marcell Dekker.
- Gil, A. 2002. Polyunsaturated fatty acids and in.ammatory diseases. *Biomed. Pharmacother.* 56: 388–396..
- Girindra, A. 1986. *Bikimia 1.* Jakarta: Gramedia.
- Herman & Karmini, M., 1999. The Development of Tempe Technology. In J. Agranoff, ed. *The Complete Handbook of Tempe.* Singapura: The American Soybean Association, pp. 80–92.
- Hussain, Z. 2014. GC-MS: Principle, Technique and its application in Food Science. *J. CURR Science* (13) : 116-126.
- Imre, S & Saghk. S. 1997. Fatty Acid Composition of mussel and shrimp consumed in Turket *J. Marine Sciences* 3, (3):179-189.
- Jiang J, B. L. 1998. Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. *J. of Applied Microbiol*, 85: 95-102.
- Kaspar, H. 2009. Amino acid analysis in biological fluids by GC-MS. Dissertation. Germany: Universität Regensburg.

- Kharisma, H. M. 2016. Pengembangan LKS pada Materi Bioteknologi Konvensional Melalui Eksperimen Pembuatan Tempe Menggunakan Berbagai Jenis Kacang. 10:5-9.
- Lehninger, A.L. 1993. Principles of Biochemistry. New York: Worth Publishers, Inc.
- Luo, J., King, S and Adam, M. C. 2010. *Effect of Probiotic Propionibacterium jensenii 702 Supplementation on Layer Chicken Performance. Beneficial Microbes*, 1 (1): 53-60.
- Martoharsono, S. 2000. *Biokimia Jilid 2*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Murray, R. D. 2009. *Biokimia Harper.edisi 27*. Jakarta: EGC.
- Nur Hidayat, M. C. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Andi.
- Nout, M. J. R., & Kiers, J. L. (2005). Tempe fermentation, innovation and functionality: Update into the third millennium. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 789–805.
- Persagi. 2009. *Tabel Komposisi Pangan Indonesia*. Jakarta: Elex Media Komputindo.
- Purwoko, T., Prawiroharsono, S. & Gandjar, I. 2001. Biotransformasi Isoflavon oleh *Rhizopus oryzae* UICC 524. *Bio SMART*, 3 (2): 7-12.
- Raachmaniah, O. 2005. *Study Transesterifikasi Berkatalis Asam Triglyceride dan Fatty Acid dari Minyak Mentah Dedak Padi Menjadi Biodisel*. Prosiding. Surabaya: Seminar Nasional XII – FTI-ITS.
- Rania. M. N. 2010. Anatomy Of Vegetative And Reproductive Organs. *Journal of American science*, (12): 11-15.
- Radiati, A. S. 2016. analisis sifat fisik , sifat organoliptik, dan kandungan nutrisi pada produk tempe dari Non-kedelai. *Jurnal aplikasi teknologi pangan*, 5 (1) : 4-7.
- Rusdiana. 2004. *Metabolism asam lemak*. Medan: Program Studi Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Rusmin, and Ko. 1974. Rice-Grown *Rhizopus Oligosporus* inoculum for tempeh fermentation. *Applied Microbiology*, 28 (3): 347-350.

- Sartika, R. 2008. Pengaruh Asam lemak Jenuh, Tidak Jenuh, dan Asam Lemak Trans terhadap Kesehatan. *Kesehatan Masyarakat Nasional*. Vol.2 (4) :154-160.
- Siswanto dan Muzakhar, K. 2009. Perbaikan Kualitas Nutrisi Tempe Gembos Melalui Seleksi dan Introduksi Mikroorganisme Penghasil Polyunsaturated Fatty Acids. *tidak diterbitkan. Laporan Penelitian*. Jember: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Suharyanto, tripanji, M. Irfani. A dan Khaswar. S. 2006. Biokonservasi dengan desaturase amobil sistem kontinyu pada skala semipilot untuk produksi minyak mengandung gla. *Jurnal menara perkebunan*.(2): 97-108
- Suparmo & P. Markakis, 1987. Tempeh Prepared from Germinated Soybeans. *Journal of Food and Science*, 52 (6): 1736–1737.
- Suwarto, A.T.C. 2011. *Kinetika perubahan asam fitat pada tempe selama proses pemanasan*. Bandung: Institut Pertanian Bogor.
- Syamsudin, S. P. 2008. Efektivitas Enzim dalam Sistem Lumpur Aktif pada pengolahan Air Limbah Pulp dan Kertas. *Berita Selulosa*. Vol. 43 (2), hal 83-92.
- Tjitrosoepomo, G. 2007. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Triwibowo, Rully. 2011 *Kajian perubahan Biokimiawi Stakhiosa dan Asam Lemak Essensial Pada Tempe Kedelai (Glycine max) Selama Proses Fermentasi*. Thesis. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Triwijayanti, N. E. 2011. *Identifikasi Asam Lemak Tak Jenuh Ganda Hasil Fermentasi Minyak Kedelai Menggunakan Jamur Lipolitik Tempe*. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Waluyo, L. 2012. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.

LAMPIRAN

A. Komposisi Buffer

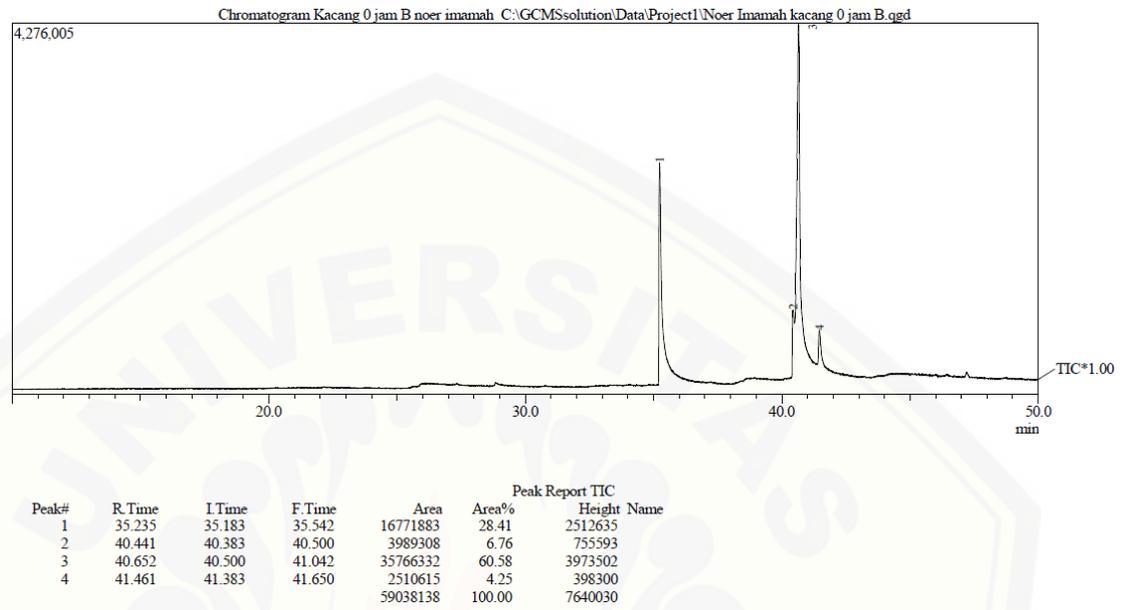
PH	0,2 M NaH_2PO_4	0,2 M Na_2HPO_4
7	39,0	61,0
7,2	28,0	72,0

B. Komposisi Buffer Na-Phospat (100 ml) PH 7,2

A: 0,2 M NaH_2PO_4 H_2O (137 gr/mol) 2,74 gr/ml

B : 0,2 M Na_2HPO_4 H_2O (358 gr/mol) 7,16 gr/ml

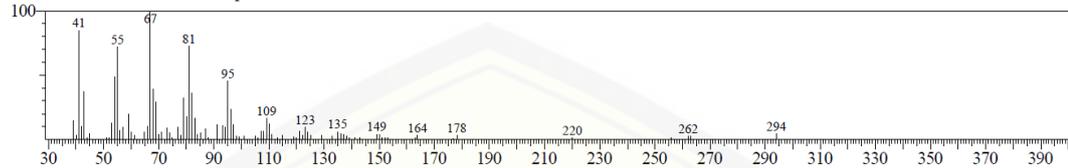
PH	A	B	Aquades
7,2	14	36	50 ml

C. Kromatogram Hasil 0 Jam Kacang Merah Sebelum Fermentasi

D. Hasil MS Untuk 0 Jam Kacang Merah Sebelum Fermentasi (Peak 2)

<< Target >>

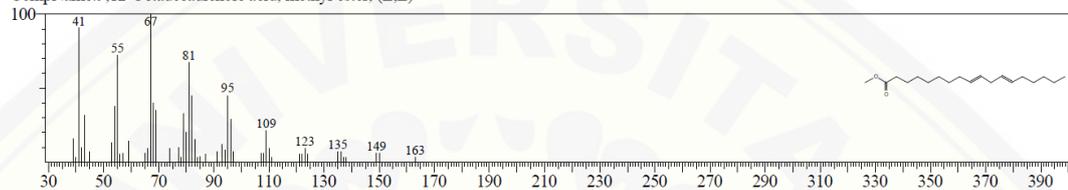
Line#:2 R.Time:40.442(Scan#:4434) MassPeaks:86
RawMode:Averaged 40.433-40.450(4433-4435) BasePeak:66.95(41335)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:10376 Library:NIST12.LIB

SI:95 Formula:C19H34O2 CAS:2566-97-4 MolWeight:294 RetIndex:0

CompName:9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-



Hit#:2 Entry:141517 Library:WILEY229.LIB

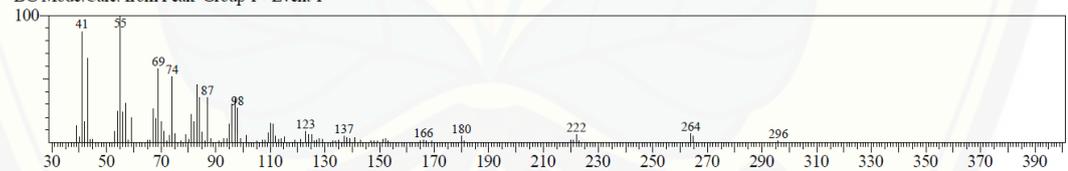
SI:95 Formula:C19H34O2 CAS:2566-97-4 MolWeight:294 RetIndex:0

CompName:9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)- (CAS) Methyl linolealdate \$\$ METHYL T9, T12 OCTADECADIENOATE \$\$ METHYL TR

E. Hasil MS Untuk 0 Jam Kacang Merah Sebelum Fermentasi (Peak 3)

<< Target >>

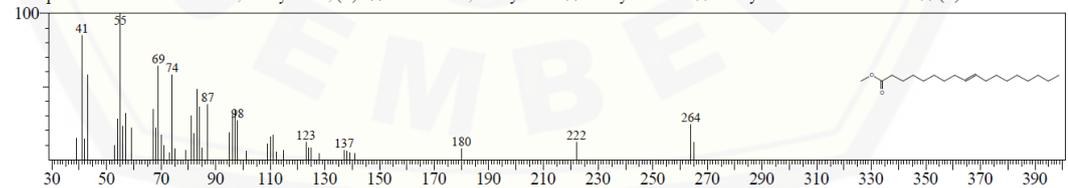
Line#:3 R.Time:40.650(Scan#:4459) MassPeaks:91
RawMode:Averaged 40.642-40.658(4458-4460) BasePeak:55.00(305847)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

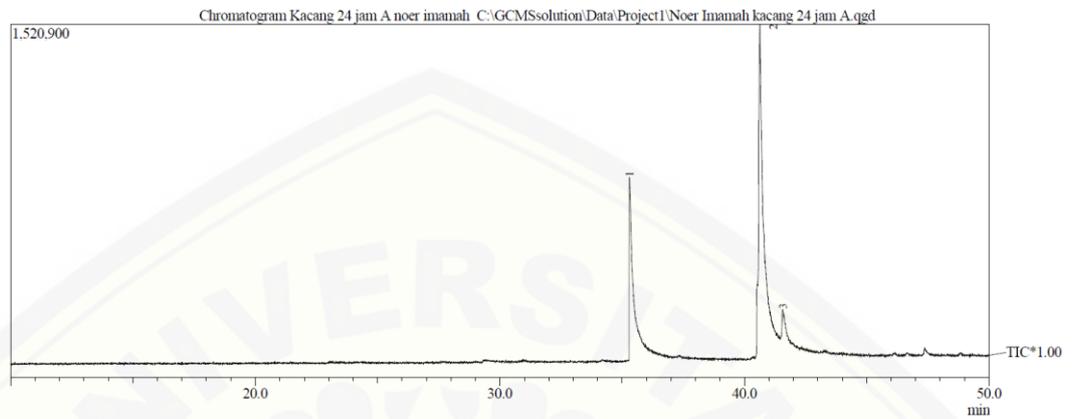


Hit#:1 Entry:42144 Library:NIST62.LIB

SI:96 Formula:C19H36O2 CAS:1937-62-8 MolWeight:296 RetIndex:0

CompName:9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- \$\$ Elaidic acid, methyl ester \$\$ Methyl elaidate \$\$ Methyl trans-9-octadecenoate \$\$ (E)-9-Octadeceni



F. Kromatogram Hasil 24 Jam Fermentasi Kacang Merah

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Name
1	35.303	35.267	36.475	9600730	29.09	788965	
2	40.632	40.425	41.475	21292847	64.52	1433838	
3	41.567	41.475	41.900	2109784	6.39	176074	
				33003361	100.00	2398877	

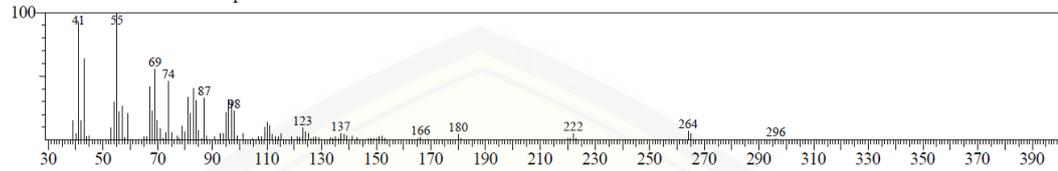
G. Hasil MS Untuk 24 Jam Fermentasi Kacang Merah (Peak 2)

<< Target >>

Line#: 2 R. Time: 40.633 (Scan#: 4457) MassPeaks: 94

RawMode: Averaged 40.625-40.642 (4456-4458) BasePeak: 55.00 (117825)

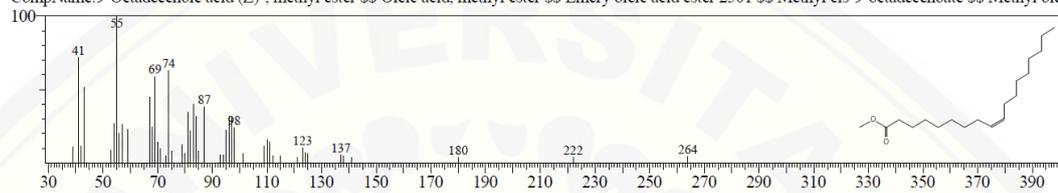
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



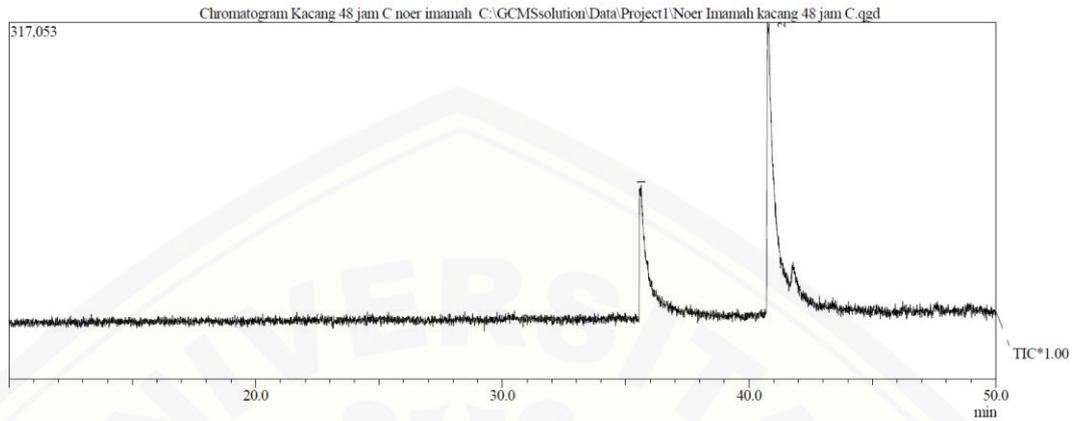
Hit#: 1 Entry: 42154 Library: NIST62.LIB

SI: 96 Formula: C₁₉H₃₆O₂ CAS: 112-62-9 MolWeight: 296 RefIndex: 0

CompName: 9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester \$\$ Oleic acid, methyl ester \$\$ Emery oleic acid ester 2301 \$\$ Methyl cis-9-octadecenoate \$\$ Methyl ole



H. Kromatogram Hasil 48 Jam Fermentasi Kacang Merah

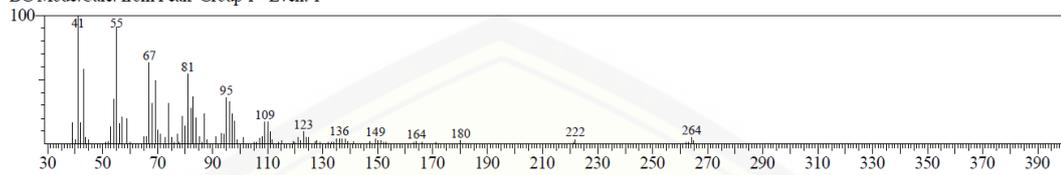


Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height	Name
1	35.626	35.525	35.725	836154	20.71	95292	
2	40.760	40.692	41.183	3202137	79.29	249839	
				4038291	100.00	345131	

I. Hasil MS Untuk 48 Jam Fermentasi Kacang Merah (Peak 2)

<< Target >>

Line#:2 R.Time:40.758(Scan#:4472) MassPeaks:94
RawMode:Averaged 40.750-40.767(4471-4473) BasePeak:41.00(19457)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:42460 Library:NIST62.LIB

SI:91 Formula:C18H31ClO CAS:7459-33-8 MolWeight:298 RetIndex:0

CompName:9,12-Octadecadienoyl chloride, (Z,Z)- \$\$ Linoleoyl chloride \$\$ Lineoleoyl chloride \$\$ Linoleic acid chloride

