



**KANDUNGAN OMEGA-3 PADA TEMPE KEDELAI DENGAN
SUBSTITUSI KROKOT (*Portulaca oleracea*)**

SKRIPSI

Oleh :

**Antin Dwi Musdalifah
NIM 121810401072**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**KANDUNGAN OMEGA-3 PADA TEMPE KEDELAI DENGAN
SUBSTITUSI KROKOT (*Portulaca oleracea*)**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Antin Dwi Musdalifah
NIM 121810401072**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Bapak Mustafa, S.Pd dan Ibu Mutini tercinta atas untaian do'a, kasih sayang, kesabaran dan nasehatnya yang tiada henti dan tak pernah terganti, semoga saya dapat memuliakanmu sampai akhir hayat;
2. Kakak Oka Prasetyo, Suryani Adha dan adik Andika Andrea Winata atas do'a, motivasi, canda tawa dan suasana persaudaraan yang begitu indah, juga keponakan tersayang Agam Abdillah Pratama Putra;
3. keluarga di Jember dan Probolinggo;
4. guru-guruku sejak Sekolah Dasar hingga Perguruan Tinggi;
5. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTTO

“Seandainya lautan menjadi tinta untuk (menulis) kalimat-kalimat Tuhanku, maka pasti habislah lautan itu sebelum selesai (penulisan) kalimat-kalimat Tuhanku, meski Kami datangkan tambahan sebanyak itu (pula)”

(QS. Al-Kahfi:109) *

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(QS. Alam Nasyrah: 5-6).*

* Departemen Agama Republik Indonesia. 2009. *Al-Qur'anul Karim : Tajwid dan Terjemah*. Surakarta : Ziyad Books

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Antin Dwi Musdalifah

NIM : 121810401072

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Kandungan Omega-3 pada Tempe Kedelai dengan Substitusi Krokot (*Portulaca Oleracea*)” adalah benar-benar hasil karya ilmiah sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan oleh institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 27 Desember 2016
Yang menyatakan

Antin Dwi Musdalifah
NIM 121810401072

SKRIPSI

**KANDUNGAN OMEGA-3 PADA TEMPE KEDELAI DENGAN
SUBSTITUSI KROKOT (*Portulaca oleracea*)**

Oleh :

Antin Dwi Musdalifah

NIM 121810401072

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Drs. Siswanto, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Rudju Winarsa, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Kandungan Omega-3 pada Tempe Kedelai dengan Substitusi Krokot (*Portulaca Oleracea*)” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas
Jember

Tim Penguji

Ketua

(Dosen Pembimbing Utama)

Sekretaris

(Dosen Pembimbing Anggota)

Drs. Siswanto, M.Si
NIP. 196012161993021001

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes
NIP. 196008161989021001

Dosen Penguji 1,

Dosen Penguji II,

Dr. Kahar Muzakhar, S.Si
NIP. 196805031994011001

Dra. Dwi Setyati, M.Si
NIP. 196404171991032001

Mengesahkan
Dekan,

Drs. Sujito, Ph.D
NIP 196102041987111001

RINGKASAN

Kandungan Omega-3 pada Tempe Kedelai dengan Substitusi Krokot (*Portulaca Oleracea*); Antin Dwi Musdalifah, 121810401072; 2016; 26 halaman; Jurusan Biologi; Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Asam lemak *essential* merupakan asam lemak yang sangat dibutuhkan dan tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia. Asam lemak omega-3 termasuk dalam salah satu asam lemak *essential* yang memiliki struktur molekul ikatan rangkap pertama pada urutan atom karbon ke-3 dari gugus metil. Asam lemak omega-3 diperlukan dalam jumlah yang cukup sehingga perlu sumber asam lemak omega-3 yang mudah dijangkau oleh masyarakat. Krokot (*Portulaca oleracea*) memiliki banyak kandungan senyawa kimia yang dibutuhkan tubuh salah satunya asam lemak omega-3. Krokot di Indonesia mudah didapatkan tetapi kurang disukai oleh masyarakat. Salah satu cara mengenalkan krokot agar lazim dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia yaitu dengan mensubstitusikan pada tempe. Tempe dipilih menjadi bahan yang disubstitusikan dengan krokot karena tempe telah dikenal dan menjadi makanan yang disukai oleh masyarakat Indonesia.

Penelitian ini menggunakan rancangan dasar penelitian deskriptif yang dilakukan pada tempe substitusi krokot dengan perbandingan (kedelai : krokot) 5:1. Perlakuan dilakukan pada lama fermentasi 48 jam dan 0 jam sebagai kontrol dengan 4 kali ulangan. Sampel tempe substitusi krokot diekstraksi kemudian ditransmetylesterifikasi dan dianalisis menggunakan GC-MS.

Perbedaan tempe substitusi krokot dengan tempe kedelai terletak pada fisik tempe. Tempe substitusi krokot terlihat berwarna putih dengan bintik-bintik hitam yang berasal dari potongan krokot sedangkan tempe kedelai berwarna putih. Tekstur yang lembut, rasa dan aroma pada tempe substitusi krokot dan tempe kedelai memiliki kesamaan yaitu khas fermentasi dari kapang. Daun krokot memiliki rasa yang agak asam tetapi ketika disubstitusi pada tempe hasilnya tidak mempengaruhi rasa karena kuantitas krokot yang rendah. Masa simpan pada

tempe substitusi krokot sama dengan tempe kedelai yaitu dapat bertahan hingga 3 hari.

Hasil ekstraksi sebelum dianalisis menggunakan GC-MS diperoleh kadar asam lemak bebas pada tempe substitusi krokot jam ke-0 adalah 14,5% dan jam ke-48 adalah 9,75%. Hal ini menunjukkan bahwa fermentasi berpengaruh terhadap kadar asam lemak bebas tempe substitusi krokot. Kadar asam lemak bebas sebelum dan setelah fermentasi tempe substitusi krokot semakin menurun dan selisih kadar asam lemak bebas antara sebelum dan setelah fermentasi adalah 4,75 %.

Hasil ekstraksi dengan 1 g tempe substitusi krokot yang menunjukkan waktu retensi untuk senyawa mirip asam lemak omega-3 tidak terdeteksi oleh GC-MS. Senyawa dominan yang terdapat pada tempe substitusi krokot pada jam ke-48 adalah jenis asam lemak linoleat (omega-6) yang merupakan asam lemak *essential* dan asam lemak oleat (omega-9).

PRAKATA

Bismillah Alhamdulillah, Segala puji bagi Allah atas segala nikmat dan taufiq-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Kandungan Omega-3 pada Tempe Kedelai dengan Substitusi Krokot (*Portulaca Oleracea*)”. Shalawat dan salam selalu tercurah kepada Nabi Muhammad beserta keluarga, para sahabat dan pengikutnya hingga hari akhir.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Drs. Siswanto, M.Si selaku Dosen Pembimbing Utama dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan waktu, pengarahan dan bimbingan selama penelitian hingga selesainya skripsi ini;
2. Dr. Kahar Muzakhar, S.Si selaku Dosen Penguji 1 dan Dra. Dwi Setyati, M.Si selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini;
3. Dr. Hidayat Teguh Wiyono, M.Pd selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan mengarahkan penulis selama menjadi mahasiswa aktif;
4. Ir. Endang Susetyaningsih selaku teknisi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Jember yang membantu dan melayani selama penelitian;
5. seluruh guru, dosen, bapak dan ibu pengasuh PPM Al-Husna serta ustadz-ustadzah yang telah memberikan ilmu yang tidak terkira kepada penulis;
6. kedua orang tua dan keluarga besar yang selalu memberikan motivasi, cinta, kepercayaan serta do'a kepada penulis selama menuntut ilmu;
7. seluruh rekan kerja Laboratorium Mikrobiologi terutama di ruang Jamur antara lain Noer Imamah, Kharisna Aulia, Eny Rukmawati, Putri Yulia, Rekanda, Reza Billa, mbak Tutus dan di ruang Enzim antara lain Lisa Hikmawati, Lailatul Ikhrimah, Nurul Mahmudah, Putri Sultan, Nenny

Aulia, dan mbak Hilmah yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini;

8. teman-teman BIOZVA 2012 atas motivasi, kebersamaan dan keceriaan selama menimba ilmu di Biologi FMIPA Universitas Jember;
9. sahabat seperjuangan Wilujeng Rahayu, Siti Khofifat Sholeha, Vivtha Lusiana, Jalia Agustina, dan Qonita Arifiana yang telah memberikan saran, motivasi dan kebersamaannya.
10. santri Pondok Pesantren Mahasiswi Al-Husna Jember, Ayu Farida Fitria, Handariatul Masruroh, Nur Wulan, Anggun Putri, Rifqa Ayudiah, Siti Umayyah serta adik-adik kamar H8 Nouron Nazilah dan Risa Syahbana atas motivasi dan kebersamaannya selama menimba ilmu di Pesantren;
11. semua pihak yang tak bisa disebutkan satu-persatu.

Skripsi ini telah penulis usahakan disusun dengan sebaik mungkin, namun tetaplah tidak terlepas dari berbagai kekurangan. Penulis mengharap kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Besar harapan penulis semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca pada umumnya.

Jember, Desember 2016

Penulis

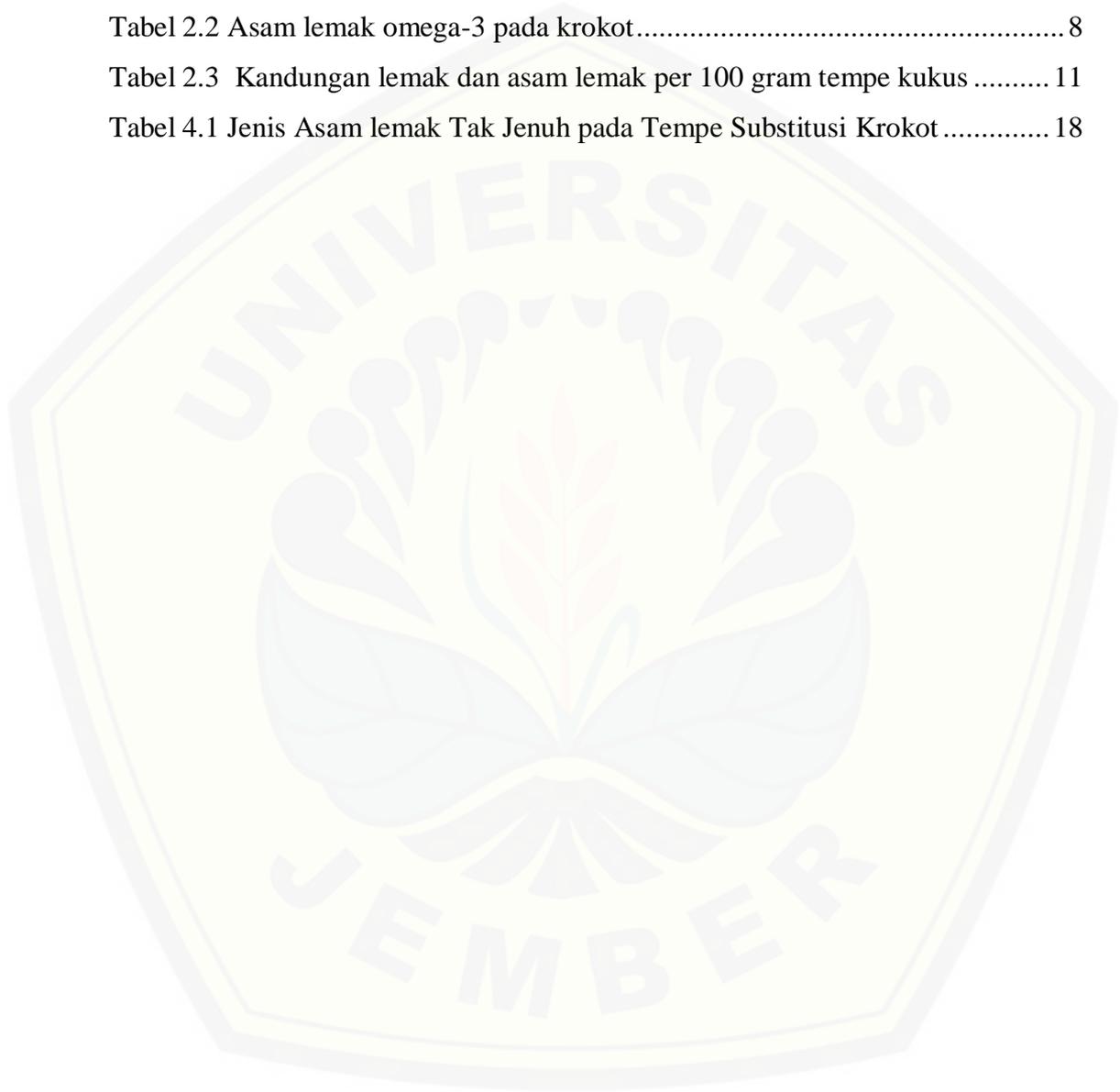
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Batasan Masalah.....	2
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Asam Lemak Omega-3	4
2.2 Krokot (<i>Portulaca oleracea</i>).....	6
2.3 Fermentasi Tempe Kedelai	8
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	12
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	12
3.2 Alat dan Bahan	12

3.3 Rancangan Penelitian.....	12
3.4 Prosedur Penelitian	13
3.5 Analisis Data	14
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
4.1 Hasil Fermentasi Tempe Substitusi Krokot	15
4.2 Kandungan Asam Lemak Tak Jenuh pada Tempe Substitusi Krokot .	16
4.3 Kandungan Omega-3 pada Tempe Substitusi Krokot	19
BAB 5. PENUTUP	21
5.1 Kesimpulan	21
5.2 Saran	21
DAFTAR PUSTAKA.....	22
LAMPIRAN	26

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Asam lemak pada daun krokot.....	8
Tabel 2.2 Asam lemak omega-3 pada krokot.....	8
Tabel 2.3 Kandungan lemak dan asam lemak per 100 gram tempe kukus	11
Tabel 4.1 Jenis Asam lemak Tak Jenuh pada Tempe Substitusi Krokot.....	18

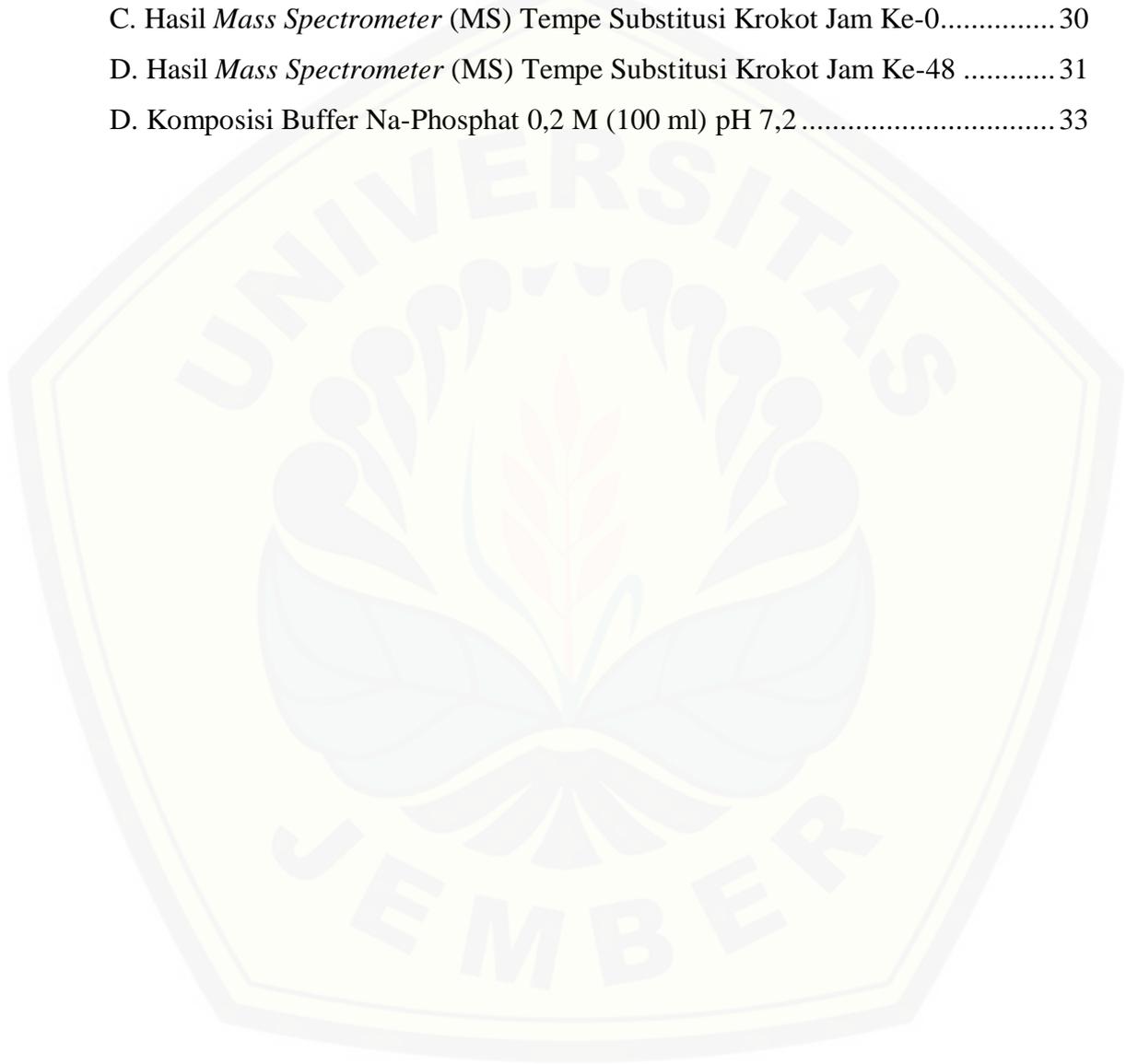


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Asam Lemak Tak Jenuh Jamak (PUFAs)	4
Gambar 2.2 Struktur molekul (a) ALA (b) EPA (c) DHA.....	5
Gambar 2.3 Bagian-bagian Krokot.....	7
Gambar 2.4 Tempe	9
Gambar 4.1 Perbedaan tempe.....	15
Gambar 4.2 Rendemen asam lemak tempe substitusi krokot.....	16
Gambar 4.25 Asam lemak tak jenuh pada tempe substitusi krokot.....	19

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Kromatogram Hasil Fermentasi Tempe Substitusi Krokot Jam Ke-0	26
B. Kromatogram Hasil Fermentasi Tempe Substitusi Krokot Jam Ke-48.....	28
C. Hasil <i>Mass Spectrometer</i> (MS) Tempe Substitusi Krokot Jam Ke-0.....	30
D. Hasil <i>Mass Spectrometer</i> (MS) Tempe Substitusi Krokot Jam Ke-48	31
D. Komposisi Buffer Na-Phosphat 0,2 M (100 ml) pH 7,2	33



BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asam lemak *essential* merupakan asam lemak yang sangat dibutuhkan dan tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia. Asam lemak omega-3 termasuk dalam salah satu asam lemak *essential* yang memiliki struktur molekul ikatan rangkap pertama pada urutan atom karbon ke-3 dari gugus metil. Asam lemak omega-3 digunakan untuk pertumbuhan dan fungsi normal semua jaringan dalam tubuh. Kekurangan asam lemak omega-3 menyebabkan gangguan saraf dan penglihatan (Almatsier, 2009). Fungsi asam lemak omega-3 dalam tubuh dapat mencegah penyakit jantung koroner, trombosis, dan artritis (Agil *et al.*, 2015). Asam lemak omega-3 harus terpenuhi dengan jumlah yang cukup dalam tubuh sehingga diperlukan sumber asam lemak omega-3 yang mudah dijangkau oleh masyarakat.

Rahardjo (2007) mengungkapkan bahwa tumbuhan yang mudah ditemukan seperti krokot (*Portulaca oleracea*) memiliki banyak kandungan senyawa kimia yang dibutuhkan tubuh. Komponen senyawa kimia dalam krokot salah satunya adalah asam lemak omega-3 (Gonnella *et al.*, 2010). Kandungan asam lemak omega-3 pada krokot berkisar antara 523,14 mg/100 g sampel daun; 148,87 mg/100 g sampel batang; 216,17 mg/100 g sampel bunga (Siriamornpun and Suttajit, 2010). Krokot dikonsumsi oleh banyak negara antara lain China, India, Timur Tengah, Asia Timur Selatan, Belanda, Mexico dan USA (Ohio dan Kentucky) sedangkan krokot di Indonesia menjadi sayuran yang mudah didapatkan tetapi kurang disukai oleh masyarakat (Irawan *et al.*, 2003). Salah satu cara mengenalkan krokot agar menjadi lazim dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia yaitu dengan mensubstitusikan pada tempe.

Tempe dipilih menjadi bahan yang disubsitusikan dengan krokot karena tempe telah dikenal dan menjadi makanan yang disukai oleh masyarakat Indonesia. Tempe adalah makanan yang terbuat dari bahan utama kedelai yang difermentasi oleh *Rhizopus sp.* Tempe memiliki rasa yang enak untuk lidah

masyarakat Indonesia, selain itu juga mudah didapatkan dengan harga yang ekonomis. Konsumsi tempe rata-rata per orang di Indonesia saat ini mencapai kurang lebih sekitar 6,45 kg per tahun (BSN, 2012). Produsen tempe terbesar di dunia dan menjadi pasar kedelai terbesar di Asia adalah Negara Indonesia (BSN, 2012). Melalui proses fermentasi, nilai gizi tempe meningkat disebabkan adanya enzim yang merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana (Depkes, 1995). Komposisi asam lemak pada tempe berubah karena keberadaan dan aktivitas ragi tempe yang menghidrolisis lemak ketika fermentasi. Kandungan asam lemak omega-3 pada tempe sebesar 9,32 mg per 100 g tempe kukus (Utari, 2010).

Berdasarkan uraian, perlu dilakukan penelitian kandungan asam lemak tak jenuh khususnya asam lemak omega-3 pada tempe dengan substitusi krokot. Tempe substitusi krokot dapat menjadi inovasi pangan tanpa mengubah rasa dan aroma tempe kedelai. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan produk pangan yang sehat dan bergizi bagi masyarakat dan menghasilkan tempe yang mengandung asam lemak *essential* dengan harga ekonomis.

1.2 Rumusan Masalah

Krokot mengandung beberapa komponen senyawa kimia. Salah satu komponen senyawa kimia pada krokot adalah asam lemak omega-3. Substitusi krokot pada tempe dapat meningkatkan nilai kandungan asam lemak omega-3 pada tempe. Tempe dipilih sebagai bahan utama karena makanan yang banyak disukai masyarakat dan dapat dijangkau dengan mudah oleh semua kalangan masyarakat di Indonesia. Apakah substitusi krokot pada tempe dapat menghasilkan jenis kandungan asam lemak tak jenuh khususnya asam lemak omega-3?

1.3 Batasan Masalah

Penelitian tempe substitusi krokot dengan perbandingan kedelai dan krokot yaitu 5:1 dibatasi pada lama fermentasi 0 dan 48 jam dan jenis kandungan asam lemak tak jenuh khususnya asam lemak omega-3 pada tempe substitusi krokot.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan asam lemak tak jenuh khususnya asam lemak omega-3 pada tempe substitusi krokot.

1.5 Manfaat Penelitian

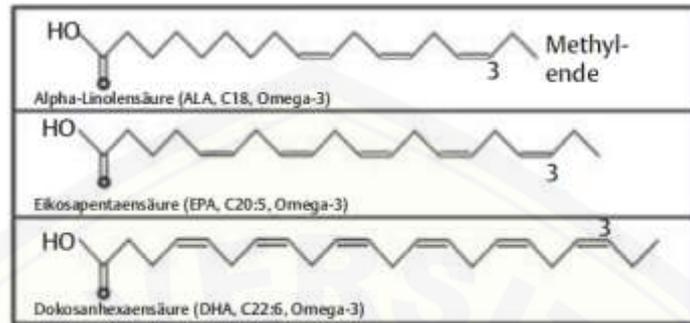
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pemanfaatan krokot sebagai bahan pangan dan sebagai bahan substitusi tempe. Mengetahui jenis kandungan asam lemak tak jenuh khususnya asam lemak omega-3 pada tempe substitusi krokot.

1.6 Hipotesis

H₀ : Tempe substitusi krokot menghasilkan kandungan asam lemak omega-3

H₁ : Tempe substitusi krokot menghasilkan kandungan asam lemak selain asam lemak omega-3.

otak dalam jumlah cukup (Diana, 2012). Bentuk turunan asam lemak omega-3, DHA merupakan komponen utama pada membran sel neuron dan berpengaruh pada sistem syaraf (Nichols *et al.*, 2014).



Gambar 2.2 Struktur molekul (a) ALA (b) EPA (c) DHA (Sumber : Schmiedel, 2016)

Asam lemak omega-3 mempunyai nilai lebih dibanding asam lemak yang lain karena ikatan rangkap asam lemak omega-3 terletak dekat dengan ujung yang menyebabkan sifatnya mudah bereaksi (EFSA, 2010). Asam lemak omega-3 memiliki banyak fungsi bagi tubuh manusia diantaranya mencegah dari penyakit kronis dan kardiovaskular (jantung dan pembuluh darah) (Simopoulos, 2008), mencegah penurunan diabetes pada janin selama kehamilan (Yessoufou *et al.*, 2015), dan menurunkan obesitas (Simopoulos, 2016). Fungsi lain yakni mencegah dan mengobati asma, artritis, migrain, dan beberapa jenis kanker (Agil *et al.*, 2015).

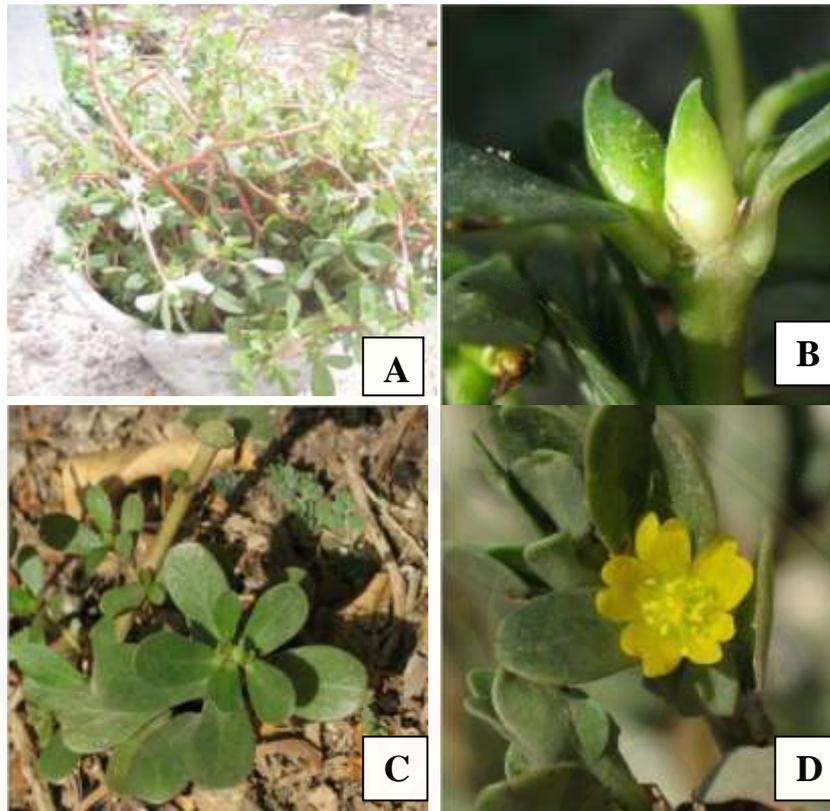
Asam lemak omega-3 biasanya ditemukan pada minyak ikan (Lichtenstein *et al.*, 2009), hasil fermentasi oleh mikroorganisme (Dawyndt *et al.*, 2006), dan krokot (*Portulaca oleracea*) (Uddin *et al.*, 2014). Beberapa peneliti berusaha mencari tumbuhan liar yang mengandung asam lemak omega-3 untuk mencegah kekurangan jumlah asam lemak omega-3 yang *essential* di dalam tubuh manusia (Simopoulos, 2004).

2.2 Krokot (*Portulaca oleracea*)

Krokot merupakan tumbuhan yang memiliki daun berukuran kecil dan berdaging, bunga berwarna kuning dan mekar dipagi hari, mampu tumbuh pada ketinggian 1000 mdpl (Wiyanto, 1983). Gulma ini biasanya tumbuh di daerah lembab dan ditempat terbuka maupun di sela-sela tanaman. Memiliki nama daerah di Indonesia yaitu *gelang* (Sunda), *krokot* (Jawa), *resereyan* (Madura), dan *jalu-jalu kiki* (Maluku). Klasifikasi krokot sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Caryophyllales
Family	: Portulacaceae
Genus	: Portulaca
Species	: <i>Portulaca oleracea</i> L. (Sumber : Tropicos.org).

Deskripsi tumbuhan krokot memiliki batang berbentuk bulat (*teres*) berwarna coklat keunguan, batang basah (*herbaceus*), permukaan batang licin (*laevis*), arah tumbuh batang berbaring di permukaan tanah (*humifusus*); berdaun tunggal (*folium simplex*), berdaging (*carnosus*), bentuk daun bulat telur sungsang (*obovatus*), ujung bulat melekuk ke dalam (*rotundatus*), pangkal daun membaji (*acuminatus*), tepi daun rata (*integer*), permukaannya tanpa gerigi (*laevis*), duduk daun tersebar atau berhadapan, mempunyai tangkai pendek, warna permukaan atas daun hijau tua, sedangkan permukaan bawahnya berwarna merah tua; bunga terletak di ujung percabangan, daun mahkota berjumlah lima, berukuran kecil berwarna kuning, mulai mekar di waktu pagi hari antara pukul 08.00 - 11.00, bunga mulai layu menjelang sore hari; buahnya tergolong buah kotak, mempunyai biji yang berjumlah banyak warnanya hitam coklat mengkilap, cara perbanyakannya melalui biji (Gambar 2.3) (Rahardjo, 2007).



(a) Tumbuhan Krokot (b) kapsul circumscissile (c) daun (d) bunga

Gambar 2.3 Bagian-bagian Krokot (Sumber : Mifsud, 2002)

Krokot banyak digunakan sebagai alternatif tumbuhan obat antara lain untuk mengobati radang akut usus buntu (Darwis, 2012), bisul (Supriati *et al.*, 2013), koreng gatal (Due *et al.*, 2013), dan penyakit kulit serta gatal (Karlina *et al.*, 2005). Hal ini karena krokot memiliki aktivitas farmakologi diantaranya *anti-microbial; antioxidant; anti-atherogenic, renoprotective* dan *immune modulatory; anti-hyperlipidemic; pengaruh anti-haemoerhoidal; anti-arthritic; anti-diabetic; hepatoprotective; nephroprotective, neuronal; anti-nociceptive* dan *anti-inflammatory* (Azuka *et al.*, 2014).

Kandungan nutrisi krokot sangat kompleks dan fungsional. Jumlah nutrisi dalam 100 g krokot terdapat 2,2% karbohidrat, 1,7% protein, 0,5% lemak, 1,2% mineral, 1,1% serat terlarut dan 3,5% serat tak terlarut (Irawan *et al.*, 2003). Kandungan asam lemak antara budidaya dan tumbuh liar krokot berbeda dapat

dilihat pada Tabel 2.1. Masing-masing dari organ tumbuhan krokot memiliki kandungan asam lemak omega-3 yang berbeda-beda dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.1 Asam lemak pada daun krokot

Asam Lemak	Krokot budidaya		Krokot liar	
	Berat Kering (%)	Berat basah (mg/g)	Berat Kering (%)	Berat basah (mg/g)
Oleat (18.1 Ω9)	4,99	0,016	2,13	0,10
Linoleat (18.2 Ω6)	16,99	0,968	13,45	0,70
Linolenat (18.3 Ω3)	59,87	3,41	63,78	3,22

Sumber : (Simopoulos *et al.*, 1992)

Tabel 2.2 Asam lemak omega-3 pada krokot

Asam Lemak	Omara-Alwala <i>et al.</i> , 1991			Simopoulos <i>et al.</i> , 1986
	Daun (mg/g)	Batang (mg/g)	Semua Organ (mg/g)	Semua Organ (mg/g)
ALA 18.3 Ω3	41,4-66,4	2,4-5,9	28,4-42,5	47,6
EPA 20.5 Ω3	0,8-12,6	18,6-35,5	6,4-21,5	0,1
DHA 22.6 Ω3	0,3-6,4	Trace	0,6-5,6	-

Sumber : (Uddin *et al.*, 2014)

Beberapa daerah di Indonesia, mayoritas masyarakatnya masih belum banyak mengetahui kandungan asam lemak omega-3 pada krokot. Ditinjau dari kandungannya, krokot sangat berpotensi menjadi makanan yang bergizi tinggi.

2.3 Fermentasi Tempe Kedelai

Biji kedelai memiliki potensi besar sebagai sumber asam amino *essential* yang tidak mahal dan mudah didapatkan bagi penduduk Indonesia. Kedelai telah lama dikenal masyarakat dan menjadi produk pangan, seperti tempe, tahu, kecap, oncom, tauco, dan susu. Klasifikasi kedelai sebagai berikut :

- Divisio : Spermatophyta
- Class : Dicotyledoneae
- Order : Rosales

Family : Fabaceae
Genus : Glycine
Species : *Glycine max* (Sumber : Tropicos.org)

Makanan tradisional khas Indonesia berbasis kedelai salah satunya adalah tempe. Sejak berabad-abad silam makanan tradisional tempe sudah dikenal oleh masyarakat Jawa, khususnya di Yogyakarta dan Surakarta. Manuskrip “*Serat Centhini*” ditemukan bahwa masyarakat Jawa pada abad ke-16 telah mengenal “tempe”. Kata tempe disebutkan sebagai hidangan bernama *jae santen* tempe (sejenis masakan tempe dengan santan) dan *kadhele tempe srundengan*. Kata “tempe” diduga berasal dari bahasa Jawa Kuno. Pada masyarakat Jawa Kuno terdapat makanan berwarna putih terbuat dari tepung sago yang disebut tumpi. Makanan bernama tumpi tersebut terlihat memiliki kesamaan dengan tempe segar yang juga berwarna putih lihat Gambar 2.4 (Shurtleff *et al.*, 2011).

Tempe saat ini telah dikenal dan disukai oleh semua kalangan masyarakat. Tempe merupakan makanan yang terbuat dari kedelai yang difermentasi secara terkontrol menggunakan ragi tempe (starter tempe) (Shurtleff *et al.*, 2007).



Gambar 2.4 Tempe (Sumber : Tempeh.info)

Pembuatan tempe tergantung pada proses fermentasi, kondisi bersih harus benar-benar diperhatikan. Organisme lain selain kapang tempe dapat ikut campur dalam proses fermentasi tetapi tidak menunjukkan aktivitas nyata. Fermentasi kapang berlangsung selama 24 jam, setelah itu terbentuk spora-spora kapang yang berwarna putih kehitaman.

Proses fermentasi tempe dapat dibedakan atas tiga fase antara lain:

- Fase pertumbuhan cepat (0-30 jam fermentasi), terjadi kenaikan jumlah asam lemak bebas, kenaikan suhu, pertumbuhan kapang cepat dan menghasilkan miselia pada permukaan biji kedelai semakin lama semakin lebat, sehingga membentuk massa yang lebih kompak;
- Fase transisi (30-50 jam fermentasi), masa optimal fermentasi tempe dan siap dikonsumsi. Fase ini terjadi penurunan suhu, jumlah asam lemak yang dibebaskan dan pertumbuhan kapang hampir tetap atau bertambah dalam jumlah kecil, aroma dan rasa spesifik tempe optimal, serta tekstur lebih kompak;
- Fase pembersihan atau fermentasi lanjut (50-90 jam fermentasi), terjadi kenaikan jumlah bakteri dan jumlah asam lemak bebas, pertumbuhan kapang mulai menurun dan pada kadar air tertentu pertumbuhan kapang terhenti serta terjadi perubahan aroma dan rasa karena degradasi protein lanjut sehingga terbentuk amonia (Widoyo, 2010).

Selama proses fermentasi, terdapat enzim yang dihasilkan kapang tempe antara lain proteolitik, lipolitik, dan amilolitik dapat mengubah kandungan kedelai setelah menjadi tempe lebih mudah dicerna oleh tubuh. Kapang tempe mampu menghasilkan enzim-enzim untuk menguraikan senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana (Suparmo & Markakis, 1987). Kandungan asam lemak pada tempe dapat dilihat pada Tabel 2.4.

Tempe memiliki banyak manfaat untuk kesehatan antara lain dapat mencegah resiko penyakit jantung dan stroke, osteoporosis, kanker dan gangguan pencernaan, menurunkan berat badan yang berlebih dan mengurangi beberapa gejala menopause (Babu *et al.*, 2009).

Tabel 2.3 Kandungan lemak dan asam lemak per 100 gram tempe kukus

Parameter	Struktur Kimia	Hasil (g)
Lemak		2,89
Asam Lemak		
- Palmitic acid	C16:0	7,21
- Stearic acid	C18:0	3,05
- Oleic acid	C18:1 Ω 9	14,74
- Linoleic acid	C18:2 Ω 6	50,12
- Arachidic acid	C20:0	0,21
- Linolenic acid	C18:3 Ω 3	9,32
- Behenic acid	C22:0	0,22

(Sumber : Utari, 2010)

2.4 Gas Chromatograph and Mass Spectrometer (GC-MS)

GCMS merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan dua metode analisis senyawa yaitu kromatografi gas untuk menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan spektrometri massa untuk menganalisis struktur molekul senyawa analit. Prinsip kromatografi gas yaitu pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi komponen-komponen penyusunnya. Kromatografi gas terdiri atas fase gerak dan fase diam. Instrumental kromatografi gas diantaranya gas pembawa, injeksi dan kolom. Hasil dari kromatografi gas adalah dalam bentuk kromatogram yang selanjutnya akan diidentifikasi oleh spektrometri massa (Flowis, 1995).

Spektrometri massa adalah metode untuk mendapatkan berat molekul dengan cara mencari perbandingan mencari perbandingan massa terhadap muatan dari ion. Instrumental spektrometri massa diantaranya sumber ion, filter, detektor. Detektor spektrometri massa terdiri atas aspek kualitatif yaitu terdapat lebih dari 275.000 spektra massa dari senyawa yang tidak diketahui dapat teridentifikasi oleh library komputerisasi dan aspek kuantitatif dengan membandingkan kurva standar dari senyawa yang diketahui (Hussain and Maqbool, 2014).

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2016 di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember dan Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada.

3.2 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tabung *centrifuge*, rak tabung reaksi, gelas beaker, gelas ukur, pipet tetes, mikro pipet, tip biru, kertas label, kertas tisu, spidol penanda, ayakan, blender, oven, *hot plate*, neraca analitik, *centrifuge*, *Gas Chromatograph and Mass Spectrometer* (GC-MS).

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain biji kedelai (*Glycine max*), ragi tempe merk RAPRIMA, krokot, aquades, metanol-chloroform (1:1), Bf_3 metanol, buffer natrium fosfat 0,2 M pH 7,2 (Lampiran D), gas nitrogen, metil ester, heksana.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan dasar penelitian deskriptif yang dilakukan pada tempe substitusi krokot dengan perbandingan (kedelai : krokot) 5:1 karena sebelumnya telah dilakukan uji pendahuluan dengan perbandingan (kedelai : krokot) 1:1, 5:1 dan krokot ditambah ragi. Hasil terbaik tempe substitusi krokot terdapat pada perbandingan (kedelai : krokot) 5:1 sedangkan hasil pada 1:1 terdapat permukaan tempe yang busuk dan hasil pada fermentasi krokot tidak terbentuk tempe. Perlakuan lama fermentasi 48 jam karena pada jam ke-48 merupakan hasil terbaik terbentuk tempe substitusi krokot. Kontrol dilakukan

pada jam ke-0 untuk pembanding sebelum dan setelah terjadi proses fermentasi pada tempe substitusi krokot. Pengulangan dilakukan 4 kali ulangan.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Tempe Substitusi Krokot

a. Menyiapkan Bahan

Bahan yang dibutuhkan dalam pembuatan tempe krokot ini antara lain biji kedelai (*Glycine max*) var. Baluran, ragi tempe merk RAPRIMA, krokot (*Portulaca oleracea*).

b. Proses Pembuatan

Pengolahan Krokot : krokot yang tumbuh berumpun dan rata-rata tinggi sama sebanyak 100 gram ditimbang kemudian dibersihkan dan dicuci dengan air bersih. Krokot dipilih daun, biji, batang muda lalu dipotong menjadi ukuran kecil (dicacah). Krokot yang telah dipotong, dijemur hingga kering dibawah matahari sekitar $\pm 1 - 2$ hari sesuai kondisi cuaca. Krokot yang telah dijemur juga direbus selama ± 10 menit menggunakan air rebusan kedelai setelah itu krokot ditiriskan.

Pengolahan Kedelai : sebanyak 500 gram kedelai dipilih yang berkualitas baik kemudian dibersihkan dan dicuci dengan air bersih. Kedelai direbus ± 30 menit. Kedelai direndam selama ± 24 jam dengan air bersih. Air rebusan kedelai juga disimpan selama ± 24 jam. Kedelai dibersihkan dengan cara membuang kulit ari kedelai. Kedelai direbus kembali sekitar ± 15 menit dengan air rebusan yang disimpan selama ± 24 jam. Kedelai ditiriskan.

Pencampuran kedelai dan krokot : kedelai dan krokot (5:1) yang telah ditiriskan, dicampur dan diaduk rata selanjutnya krokot dan kedelai ditambahkan ragi ± 1 gram dengan ditabur secara aseptis. Kedelai dan krokot yang telah ditaburi ragi selanjutny difermentasi pada suhu ruang dengan variasi lama fermentasi 0 dan 48 jam.

3.4.2 Ekstraksi Asam Lemak

Tempe dengan substitusi krokot dipotong menjadi ukuran kotak kecil-kecil. Setelah itu dikeringkan dengan temperatur 40°C - 45°C selama 2 x 24 jam. Tempe substitusi krokot dihaluskan hingga menjadi tepung atau bubuk. Satu gram tepung tempe dengan substitusi krokot dimasukkan dalam tabung centrifuge kemudian ditambah 3 ml larutan metanol-kloroform (1:1). Sampel digojog selama 5 menit setelah itu ditambah 2 ml buffer natrium fosfat dan 1 ml kloroform. Sampel digojog kembali selama 5 menit. Sampel disentrifuge dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit. Sampel terlihat menjadi 2 fase, fase bagian atas dibuang. Sampel ditambah kembali 1 ml kloroform dan digojog kembali selama 5 menit. Sampel disentrifuge kembali dengan kecepatan 2000 rpm selama 2 menit. Sampel dipindah ke dalam tabung sentrifuge kemudian diuapkan menggunakan gas nitrogen hingga tersisa asam lemak di dasar tabung reaksi.

3.4.3 Transmethylesterifikasi Sampel

Transmethylesterifikasi dilakukan dengan sampel dicampurkan 1 ml Bf_3 Metanol 20% 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 (N_2) untuk menghilangkan sisa air. Tiap sampel ditambahkan heksana dengan volume yang sama dan dianalisis menggunakan GCMS (Siswanto and Muzakhar, 2009).

3.5 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis deskriptif. Penelitian ini untuk mengetahui jenis-jenis asam lemak *essential* khususnya asam lemak omega-3 yang dihasilkan tempe substitusi krokot (*Portulaca oleracea*) dengan variasi lama fermentasi selama 0 dan 48 jam.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Fermentasi Tempe Substitusi Krokot

Prinsip metode pembuatan tempe terletak pada fermentasi oleh kapang *Rhizopus sp.* selain itu faktor yang mempengaruhi keberhasilan produksi dan kualitas tempe adalah pH, suhu dan kebersihan. Tempe substitusi krokot setelah 48 jam membentuk padatan kompak berwarna putih dengan bintik-bintik hitam yang berasal dari potongan krokot. Warna putih dan padatan kompak menandakan bahwa kapang tumbuh dengan baik pada permukaan kedelai dan krokot. Hasil pembuatan tempe substitusi krokot dan perbedaan dengan tempe kedelai lihat Gambar 4.1.



(a) Tempe Substitusi Krokot (Sumber : Koleksi pribadi) (b) Tempe Kedelai (Sumber : food.detik.com)

Gambar 4.1 Perbedaan tempe

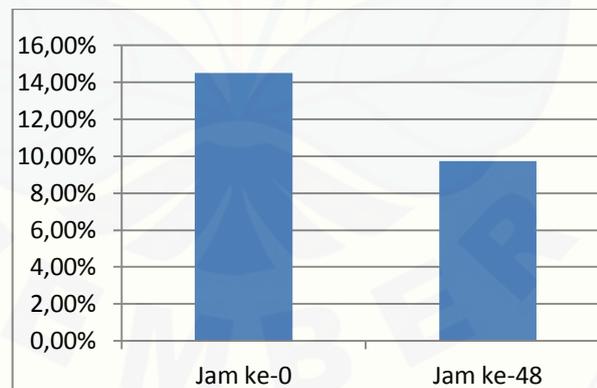
Ciri-ciri tempe yang baik yaitu berwarna putih, tekstur kompak, rasa dan aroma spesifik tempe. Miselia jamur yang tumbuh pada permukaan biji kedelai menyebabkan warna putih. Hubungan miselia-miselium jamur diantara biji-biji kedelai tersebut menyebabkan tekstur yang kompak. Terbentuk rasa dan aroma khas tempe setelah fermentasi (Kasmidjo, 1990).

Perbedaan tempe substitusi krokot dengan tempe kedelai terletak pada fisik tempe. Tempe substitusi krokot terlihat berwarna putih dengan bintik-bintik hitam

yang berasal dari potongan krokot sedangkan tempe kedelai berwarna putih. Tekstur yang lembut, rasa dan aroma pada tempe substitusi krokot dan tempe kedelai memiliki kesamaan yaitu khas fermentasi dari kapang. Meskipun daun krokot memiliki rasa yang agak asam tetapi ketika disubstitusi pada tempe hasilnya tidak mempengaruhi rasa karena kuantitas krokot yang rendah pada tempe substitusi krokot. Masa simpan pada tempe substitusi krokot sama dengan tempe kedelai yaitu dapat bertahan hingga 3 hari.

4.2 Kandungan Asam Lemak Tak Jenuh pada Tempe Substitusi Krokot

Hasil ekstraksi sebelum dianalisis menggunakan GC-MS diperoleh kadar asam lemak bebas pada tempe substitusi krokot jam ke-0 adalah 14,5% dan jam ke-48 adalah 9,75% (Gambar 4.2). Hal ini menunjukkan bahwa lama fermentasi berpengaruh terhadap kadar asam lemak tempe substitusi krokot. Kadar asam lemak bebas sebelum dan setelah fermentasi tempe substitusi krokot semakin menurun dan selisih kadar asam lemak bebas antara sebelum dan setelah fermentasi adalah 4,75 %.



Gambar 4.2 Rendemen asam lemak tempe substitusi krokot

Kadar lemak kedelai akan mengalami penurunan setelah fermentasi (Kasmidjo, 1990). Lebih dari 1/3 lemak netral (monogliserida, digliserida, trigliserida) dari kedelai dihidrolisis oleh *Rhizopus sp.* yang bersifat lipolitik pada

suhu 37° C selama 72 jam fermentasi. Sumber energi kapang salah satunya berasal dari lemak dalam substrat (Iljas *et al.*, 1973).

Enzim lipase menguraikan lemak dengan proses katabolisme menjadi asam lemak bebas dan gliserol, mengikuti jalur glikolisis, gliserol diubah menjadi gliseroldehid fosfat sehingga terbentuk piruvat dan asam lemak diuraikan menjadi molekul-molekul dengan 2 atom C dan diubah menjadi asetil koenzim A. (Iljas *et al.*, 1973).

Kandungan jenis asam lemak tak jenuh tempe substitusi krokot diketahui menggunakan GC-MS. Transmethylesterifikasi adalah tahap konversi asam lemak bebas menjadi ester yang memiliki titik didih lebih rendah. Asam lemak bebas dari tempe substitusi krokot yang diperoleh dari proses ekstraksi kemudian ditambahkan dengan Bf_3 -metanol sebagai katalis sehingga terbentuk senyawa metil ester yang bersifat *volatil*. Hal ini karena asam lemak dari hasil ekstraksi bersifat *nonvolatil* (tidak mudah menguap), sedangkan syarat senyawa yang diperlukan untuk analisis GC-MS harus bersifat *volatil* (mudah menguap) sehingga diperlukan adanya tahap konversi asam lemak bebas menjadi senyawa metil ester.

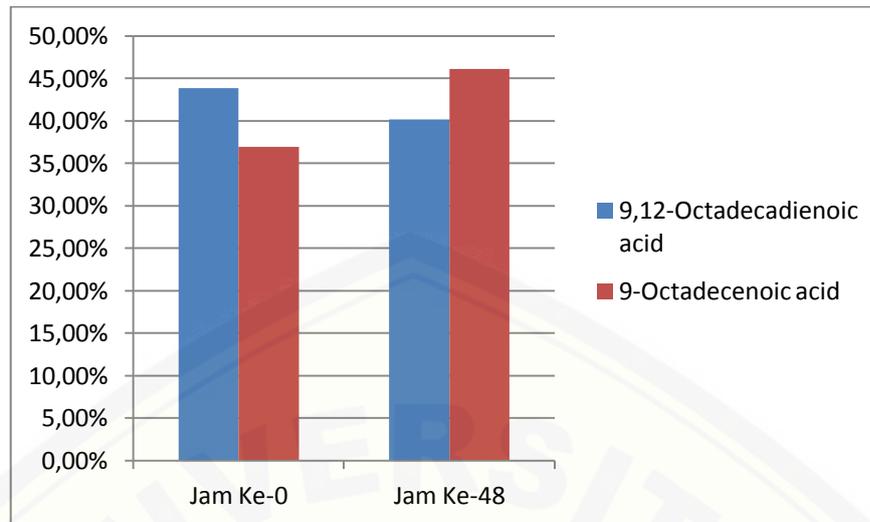
Tinggi puncak dari dasar grafik pada kromatogram hasil GC menunjukkan waktu retensi yang merupakan waktu yang diperlukan komponen sampel untuk memisah sejak diinjeksikan hingga keluar kolom (Sudaryatiningsih, 2010). Kadar asam lemak dinyatakan secara kuantitatif berdasarkan perhitungan normalisasi internal yaitu kadar tiap komponen dinyatakan dalam persen relatif luas puncak komponen terhadap total luas puncak seluruh komponen (IUPAC, 1981).

Hasil menggunakan GC-MS menunjukkan bahwa komposisi asam lemak tak jenuh pada tempe substitusi krokot sangat beragam. Senyawa-senyawa yang terkandung di dalam tempe substitusi krokot antara lain senyawa asam lemak tak jenuh tunggal yaitu omega-9 dan asam lemak tak jenuh jamak yaitu omega-6.

**Tabel 4.1 Jenis asam lemak tak jenuh pada tempe substitusi
krokot (*Portulaca oleracea*)**

Waktu Fermentasi	Peak	Senyawa	Waktu Retensi	Persen Area	Similarity Index (SI)
Jam ke-0					
Ulangan 1	Peak 2	9,12-Octadecadienoic acid	40,488	42,10%	96
Ulangan 2	Peak 2	9,12-Octadecadienoic acid	40,483	42,00%	96
Ulangan 3	Peak 2	9,12-Octadecadienoic acid	40,457	44,26%	96
Ulangan 4	Peak 3	9-Octadecenoic acid	40,617	37,73%	92
	Peak 2	9,12-Octadecadienoic acid	40,488	46,98%	96
	Peak 3	9-Octadecenoic acid	40,649	36,20%	93
Jam ke-48					
Ulangan 1	Peak 2	9,12-Octadecadienoic acid	40,624	45,86%	92
Ulangan 2	Peak 3	9-Octadecenoic acid	40,824	35,87%	93
	Peak 2	9,12-Octadecadienoic acid	40,472	35,83%	97
Ulangan 3	Peak 3	9-Octadecenoic acid	40,642	51,93%	94
	Peak 2	9,12-Octadecadienoic acid	40,503	29,66 %	96
Ulangan 4	Peak 3	9-Octadecenoic acid	40,651	61,27%	92
	Peak 2	9,12-Octadecadienoic acid	40,686	49,66%	95
	Peak 3	9-Octadecenoic acid	40,859	35,26%	93

Hasil pada tabel 4.1 dari *Gas Chromatograph and Mass Spectrometer* (GC-MS) terhadap asam lemak tempe substitusi krokot pada jam ke-0 terdapat senyawa 9,12-Octadecadienoic acid (omega-6) dengan indeks similarity tertinggi 96 dan senyawa 9-Octadecenoic acid (omega-9) pada ulangan 3 dan ulangan 4 dengan indeks similarity tertinggi 93 sedangkan pada jam ke-48 terdapat omega-6 dengan indeks similarity tertinggi 97 dan omega-9 dengan indeks similarity tertinggi 93. Kesimpulan yang dapat diambil bahwa senyawa yang terdapat pada tempe substitusi krokot pada jam ke-48 adalah asam lemak tak jenuh diantaranya omega-6 (asam lemak linoleat) dan omega-9 (asam lemak oleat).



Gambar 4.25 Asam lemak tak jenuh pada tempe substitusi krokot

Senyawa 9,12-Octadecadienoic acid pada jam ke-0 memiliki rata-rata persen area 43,835% sedangkan pada jam ke-48 memiliki rata-rata persen area 40,152%. Mengalami penurunan sekitar 3,683% karena tempe pada jam ke-48 telah memasuki fase transisi (30-50 jam fermentasi) yaitu masa optimal fermentasi tempe dan siap dikonsumsi. Fase ini terjadi penurunan jumlah asam lemak yang dibebaskan (Widoyo, 2010). Senyawa 9-Octadecenoic acid pada jam ke-0 lebih terdeteksi pada ulangan 3 dan 4 dengan rata-rata persen area berbeda pada jam ke-48 pada semua ulangan terdeteksi dengan rata-rata persen area 46,082%. Mengalami peningkatan sekitar 9,11% (Gambar 4.25). Kemungkinan pada jam ke-0 senyawa 9-Octadecenoic acid tidak terkonfirmasi pada ulangan 1 dan 2.

4.3 Kandungan Omega-3 pada Tempe Substitusi Krokot

Hasil identifikasi yang menunjukkan waktu retensi untuk senyawa mirip asam lemak omega-3 tidak terdeteksi pada metil ester tempe substitusi krokot oleh GC-MS. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu sampel tempe substitusi krokot digunakan untuk ekstraksi sebesar 1 g. Jumlah kandungan asam lemak omega-3 pada krokot adalah 149 mg per 100 g sampel (Siriamornpun and Suttajit, 2010). Sedangkan kandungan asam lemak omega-3 pada tempe

kedelai adalah 9,32 mg per 100 g tempe kukus (Utari, 2010). Pebandingan yang digunakan untuk kuantitas krokot dan kedelai adalah 1:5. Artinya 1 g sampel yang digunakan kemungkinan sedikit untuk bisa terdeteksi asam lemak omega-3.

Temuan sebelumnya oleh Simopoulos *et al.* (1992) bahwa pada daun dan biji krokot mengandung EPA dan DHA dengan deteksi menggunakan GC, lalu teori tersebut tidak diterima oleh Liu (2000) dalam penelitiannya setelah dikonfirmasi menggunakan MS. Puncak dengan waktu retensi EPA dan DHA dideteksi oleh GC tetapi tidak dikonfirmasi oleh MS sedangkan ALA terdeteksi sejumlah 60% dalam daun dan 40% dalam biji dari kandungan asam lemak total. Kandungan asam lemak totalnya berkisar antara 1,5-2,5 mg/g daun segar; 0,6-0,9 mg/g dalam batang; dan 80-170 mg/g dalam biji menggunakan GC-MS (Liu, 2000). Kemungkinan juga pada tempe substitusi krokot terdeteksi oleh GC tetapi tidak terkonfirmasi oleh MS.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian ini bahwa hasil ekstraksi 1 g tempe substitusi krokot yang menunjukkan waktu retensi untuk senyawa mirip asam lemak omega-3 kemungkinan tidak terdeteksi oleh GC-MS. Senyawa dominan yang terdapat pada tempe substitusi krokot pada jam ke-48 adalah jenis asam lemak linoleat (omega-6) yang merupakan asam lemak *essential* dan asam lemak oleat (omega-9).

5.2 Saran

Apabila dilakukan penelitian selanjutnya, perlu adanya variasi waktu fermentasi pada dan jumlah sampel ketika ekstraksi pada tempe substitusi krokot agar kandungan asam lemak omega-3 dapat terdeteksi oleh GCMS.

DAFTAR PUSTAKA

- Agil, R., Gilbert, C., Tavakoli, H., & Hosseinian, F. 2015. Redefining Unusable Weeds to Beneficial Plants: Purslane as a Powerful Source of Omega-3 for the Future. *Journal of Food Research*, 4(6), 39.
- Almatsier, S. 2009. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Ambarsari, I., & Hermawan, A. 2009. Upaya Perbaikan Gizi Keluarga melalui Pemanfaatan Sayuran Indigenous Pekarangan. *Prosiding Seminar Nasional Optimalisasi Pekarangan*. 6 November 2012. *UNDIP Press*: 443–449.
- Azuka, O. I., B, A. M., & Abu, O. L. 2014. A review on *Portulaca Oleracea* (Purslane) Plant – Its Nature and Biomedical Benefits. *International Journal of Biomedical Research*, 9633.
- Babu, P. D., Bhakyaraj, R., & Vidhyalakshmi, R. 2009. A Low Cost Nutritious Food “ Tempeh ” - A Review. *Biotechnology*, 4(1), 22–27.
- Badan Standardisasi Nasional. 2012. *Tempe : Persembahan Indonesia untuk Dunia*. Badan Standardisasi Nasional: 1–16.
- Buckle, K.A., 1985. *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Darwis, W. 2012. Tanaman Obat yang Terdapat di Kota Bengkulu yang Berpotensi sebagai Obat Penyakit dan Gangguan pada Sistem Pencernaan Manusia. *Konservasi Hayati*, 08(01), 1–5.
- Dawyndt, P., Vancanneyt, M., Snauwaert, C., De Baets, B., De Meyer, H., & Swings, J. 2006. Mining Fatty Acid Databases for Detection of Novel Compounds in Aerobic Bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 66(3), 410–433.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Daftar Komposisi Zat Gizi Pangan Indonesia*. Jakarta : DEPKES RI.
- Diana, F. M. 2012. Omega 3. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 6(2), 113–117.
- Due, R., Symaswisna, & Marlina, R. 2013. Etnobotani Tumbuhan Obat Suku Dayak Pesaguan dan Implementasinya dalam Pembuatan Flash Card Biodiversitas. Tidak diterbitkan. *Artikel Penelitian*. Pontianak: Universitas Tanjung Pura.
- EFSA Panel on Dietetic Products Nutrition and Allergies (NDA). 2010. Scientific

Opinion on Dietary Reference Values for Fats, Including Saturated Fatty Acids, Polyunsaturated Fatty Acids, Monounsaturated Fatty Acids, Trans Fatty Acids, and Cholesterol. *EFSA Journal*, 8(3), 1461.

Ellulu, M. S., Khaza' ai, H., Abed, Y., Rahmat, A., Ismail, P., & Ranneh, Y. 2015. Role of Fish Oil in Human Health and Possible Mechanism to Reduce the Inflammation. *Inflammopharmacology*, 23(2–3), 79–89.

Food. Tanpa Tahun. [Online] [http://www. Food.detik.com](http://www.Food.detik.com). [Diakses tanggal 10 November 2016]

Flowlis, ian A. 1995. *Gas Chromatography Analytical Chemistry by Open Learning*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.

Gonnella, M., & Aldo, B. 2010. Purslane : A Review of its Potential for Health and Agricultural Aspects. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 4(1),131-136.

Hussain, S. Z., & Maqbool, K. 2014. GC-MS : Principle , Technique and its application in Food Science. *International Journal of Current Science*, 13, 116–126.

Ilgas, N., Peng, C., & Gould, W. A. 1973. Tempeh: An Indonesian Fermented Soybean Food. *Horticulture*, April.

Irawan, D., Hariyadi, P., & Wijaya, H. 2003. The Potency of Krokot (*Portulaca oleracea*) as Functional Food Ingredients. *Indonesian Food and Nutrition Progress*, 10(1).

IUPAC. 1981. *Standard Methods for The Analysis of Oils, Fats and Derivatives*. France: C. PAQUOT Groupe de Laboratoires du CNRS Thiais.

Kasmidjo R. B. 1990. *Tempe : Mikrobiologi dan Biokimia Pengolahan serta pemanfaatannya*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.

Karlina, C. Y., Ibrahim, M., & Trimulyono, G. 2005. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*, 2(1). 87-93

Lichtenstein, A. H., Appel, L. J., Brands, M., Carnethon, M., Daniels, S., Franch, H. A., Wylie-Rosett, J. 2009. Diet and Lifestyle Recommendations Revision 2006 A Scientific Statement From the American Heart Association Nutrition Committee. *The American Heart Association*, (202).

Liu, L. et al. (2000). Fatty Acids and Beta- Carotene in Australian Purslane (*P . oleracea*) Varieties. *Journal of Chromatography A*, 893. 207–213.

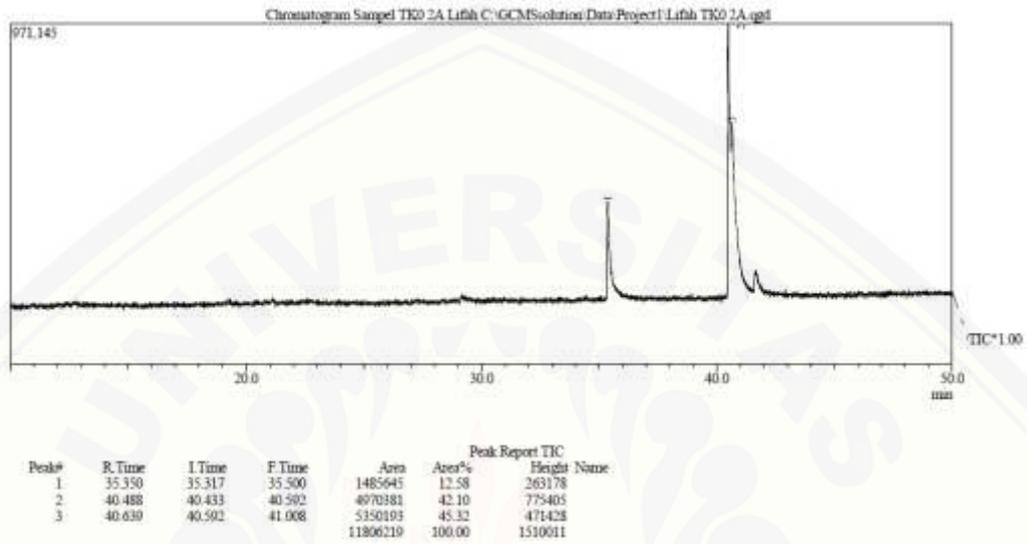
- Mifsud, Stephen. 2002. *Flora of Malta*. [Online] <http://www.maltawildplants.com/>. [Diakses tanggal 20 April 2016]
- Nichols, P. D., McManus, A., Krail, K., Sinclair, A. J., & Miller, M. 2014. Recent advances in omega-3: Health Benefits, Sources, Products and bioavailability. *Nutrients*, 6(9), 3727–3733.
- Rahardjo, M. 2007. Krokot (*Portulaca Oleracea*) Gulma Berkhasiat Obat Mengandung Omega 3. *Warta Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Industri*, 13(1), 1–34.
- Sartika, R. A. D. 2008. Pengaruh Asam Lemak Jenuh, Tidak Jenuh dan Asam Lemak Trans terhadap Kesehatan. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*, 2.
- Schmiedel, Dr. 2016. Diagnostik Von Und Therapie Mit Omega-3- Fettsäuren In Der Onkologie. [online] <http://www.dr-schmiedel.de>. [Diakses tanggal 20 Mei 2016]
- Shurtleff, W., & Aoyagi, A. 2007. *History of Tempeh*. USA: Soyinfo Center.
- Shurtleff, W., & Aoyagi, A. 2011. *History of Tempeh And Tempeh Products*. USA: Soyinfo Center.
- Simopoulos, A. 2016. An Increase in the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio Increases the Risk for Obesity. *Nutrients*, 8(3), 128.
- Simopoulos, A. P. 2004. Omega-3 Fatty Acids and Antioxidants in Edible Wild Plants. *Biological Research*, 37(2), 263–277.
- Simopoulos, A. P. 2008. The Importance of the Omega-6/Omega-3 Fatty Acid Ratio in Cardiovascular Disease and Other Chronic Diseases. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 233(6), 674–88.
- Simopoulos, A. P., Norman, H. A., Gillaspay, J. E., & Duke, J. A. 1992. Common Purslane: A Source of Omega-3 Fatty Acids and Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 11(4), 374–382.
- Simopoulos, A. P., Tan, D. X., Manchester, L. C., & Reiter, R. J. 2005. Purslane: A Plant Source of Omega-3 Fatty Acids and Melatonin. *Journal of Pineal Research*, 39(3), 331–332.
- Siriamornpun, S., & Suttajit, M. 2010. Microchemical components and antioxidant activity of different morphological parts of thai wild purslane (*Portulaca oleracea*). *Weed Science*, 58(3), 182–188.

- Siswanto dan Muzakhar, K. 2009. Perbaikan Gizi Tempe Gembos Melalui Seleksi dan Introduksi Mikroorganisme Penghasil Polyunsaturated Fatty Acid. Tidak Diterbitkan. *Laporan Penelitian*. Jember: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Jember.
- Sudaryatiningsih, C. 2010. Analisis kandungan asam linoleat dan linolenat tahu kedelai dengan *Rhizopus oryzae* dan *Rhizopus oligosporus* sebagai koagulan. *Nusantara Bioscience* 1: 110-116
- Suparmo, & Markakis, P. (1987). Tempeh Prepared from Germinated Soybean. *Journal of Food Science*, 52(6), 1736–1737.
- Supriati, R., Juniarti, T., & Astuti, R. R. S. 2013. Tumbuhan Obat Yang Dimanfaatkan oleh Masyarakat Desa Suka Rami Kecamatan Air Nipis Kabupaten Bengkulu Selatan. *Konservasi Hayati*, 09(02), 33–43.
- Tempeh. Tanpa Tahun. [Online] <http://www.tempeh.info>. [Diakses tanggal 30 Mei 2016]
- Tropicos. Tanpa Tahun. [Online] <http://tropicos.org/NameSearch.aspx>. [Diakses tanggal 20 Mei 2016]
- Uddin, M. K., Juraimi, A. S., Hossain, M. S., Nahar, M. A. U., Ali, M. E., & Rahman, M. M. 2014. Purslane Weed (*Portulaca oleracea*): A Prospective Plant Source of Nutrition, Omega-3 Fatty Acid, and Antioxidant Attributes. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Utari, D. M. 2010. Kandungan Asam Lemak, Zink, dan Copper Pada Tempe, Bagaimana Potensinya untuk Mencegah Penyakit Degeneratif. *Gizi Indonesia*, 33(2), 108–115.
- United States Departemen of Agriculture. Tanpa Tahun. [Online] <http://www.plants.usda.gov/>. [Diakses tanggal 20 April 2016]
- Widoyo, S. 2010. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Terhadap Kadar Serat Kasar Dan Aktivitas Antioksidan Tempe Beberapa Varietas Kedelai (*Glycine Sp.*). Tidak diterbitkan. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Wiyanto, I. K. 1983. *Tanaman Hias Ruangan*. Yogyakarta : Kanisius.
- Yessoufou, A., Nekoua, M. P., Gbankoto, A., Mashalla, Y., & Moutairou, K. 2015. Beneficial Effects of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Gestational Diabetes : Consequences in Macrosomia and Adulthood Obesity. *Hindawi Publishing Corporation*, 2015.

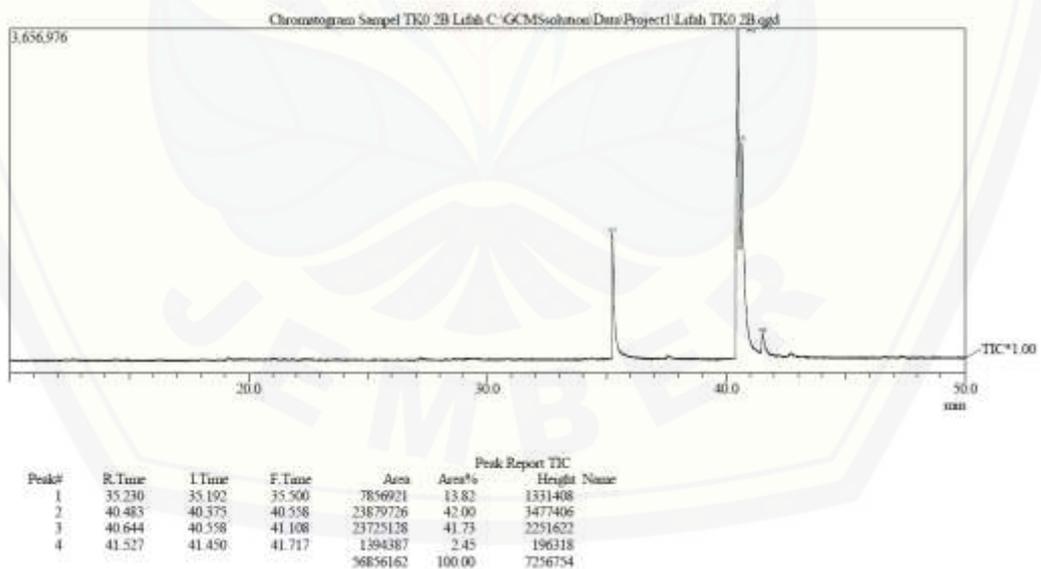
LAMPIRAN

A. Kromatogram Hasil Fermentasi Tempe Substitusi Krokot Jam Ke-0

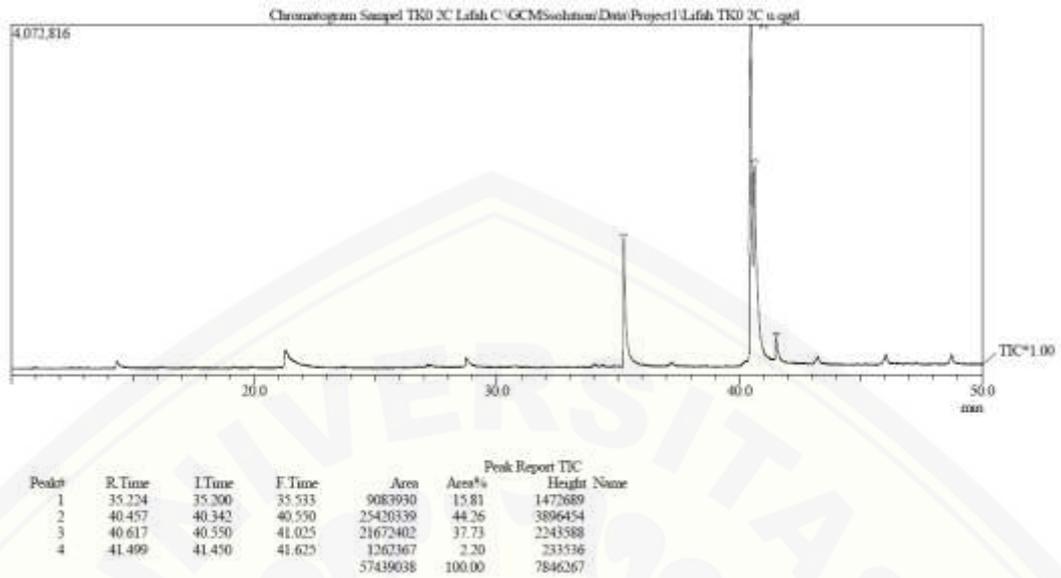
A.1 Ulangan pertama



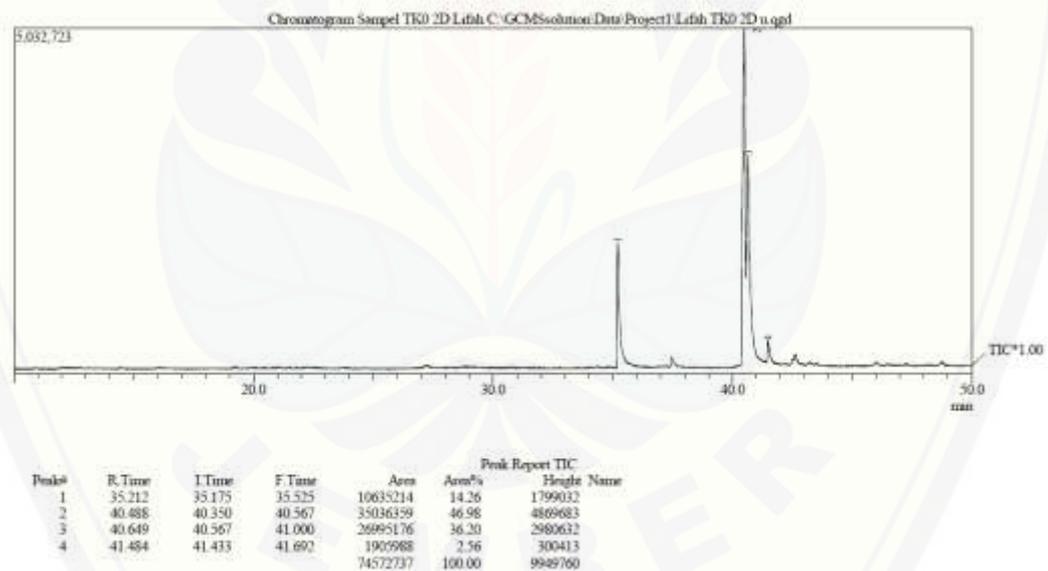
A.2 Ulangan kedua



A.3 Ulangan Ketiga

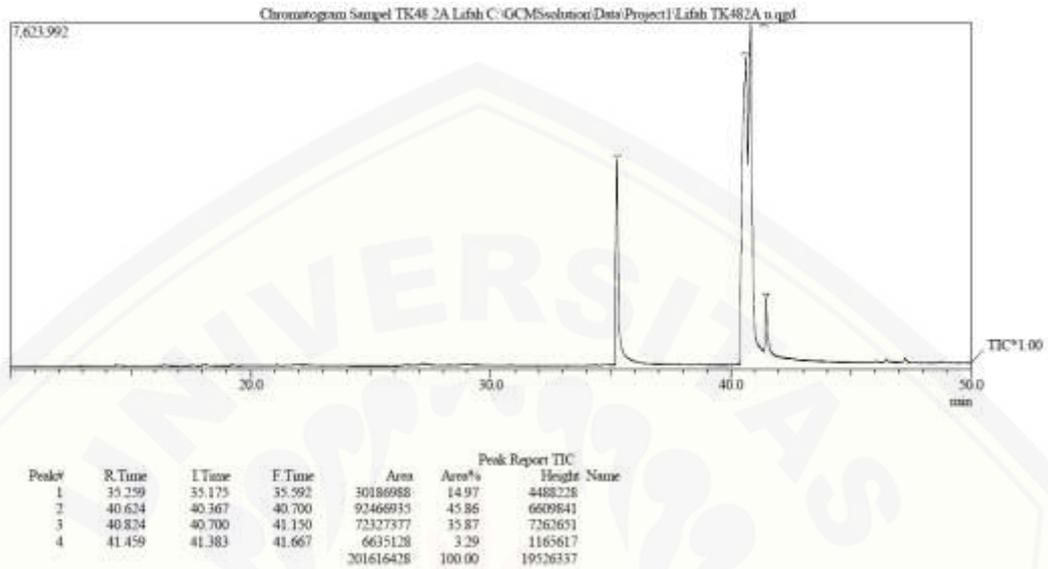


A.4 Ulangan keempat

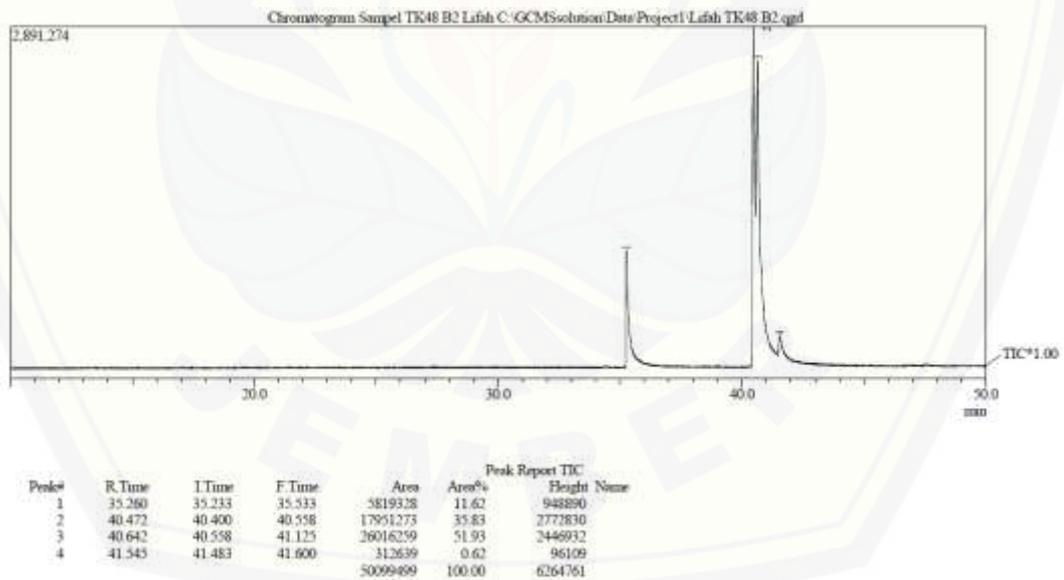


B. Kromatogram Hasil Fermentasi Tempe Substitusi Krokot Jam Ke-48

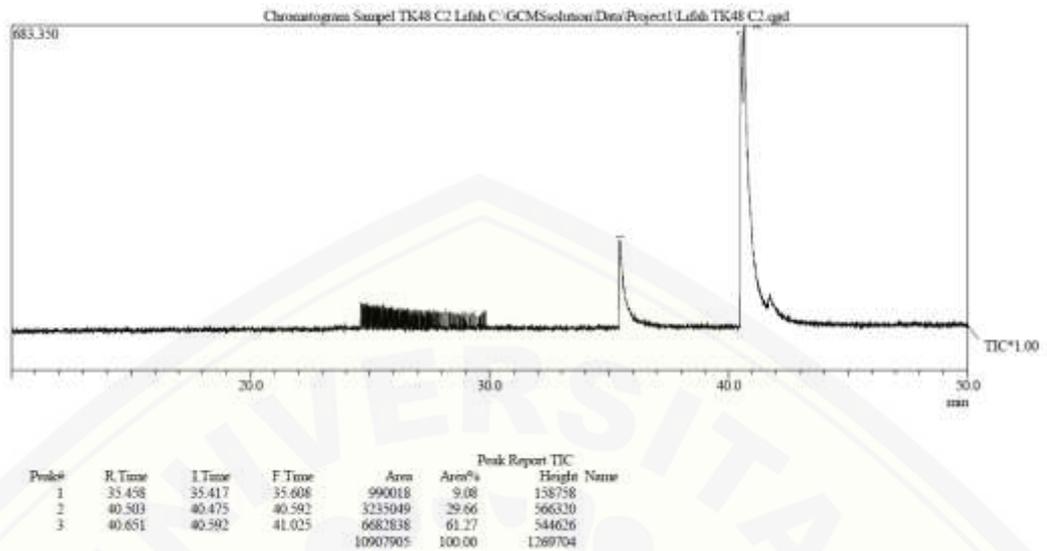
B.1 Ulangan Pertama



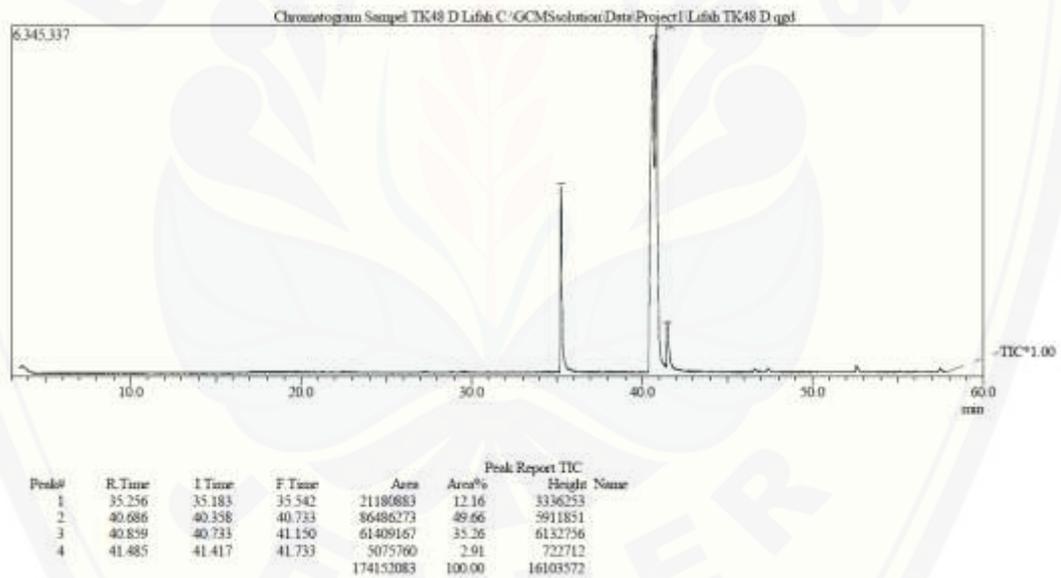
B.2 Ulangan Kedua



B.3 Ulangan Ketiga



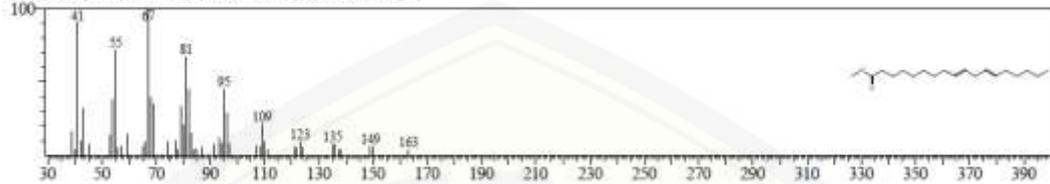
B.4 Ulangan Keempat



C. Hasil Mass Spectrometer (MS) Tempe Substitusi Krokot Jam Ke-0

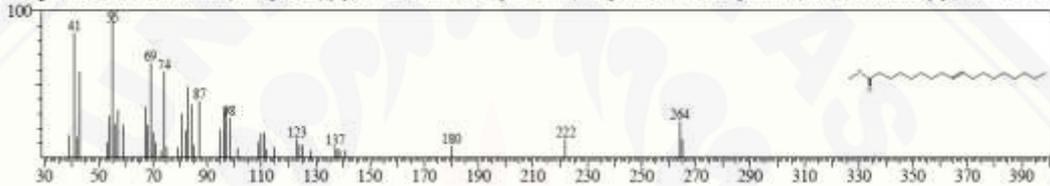
C.1 Ulangan 1

Hit# 2 Entry:10376 Library:NIST12.LIB
 SI:96 Formula:C19H34O2 CAS:2566-97-4 MolWeight:294 RetIndex:0
 CompName:9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-



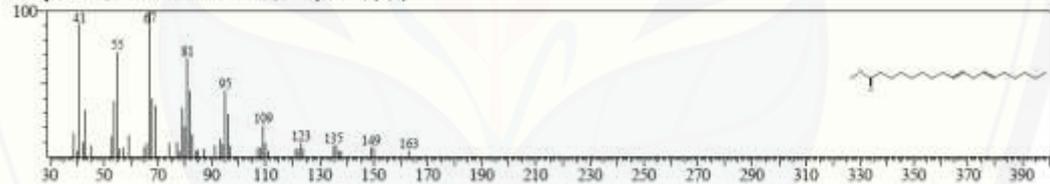
C.2 Ulangan 2

Hit# 1 Entry:42144 Library:NIST62.LIB
 SI:94 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-Octadecenoic acid, methyl ester

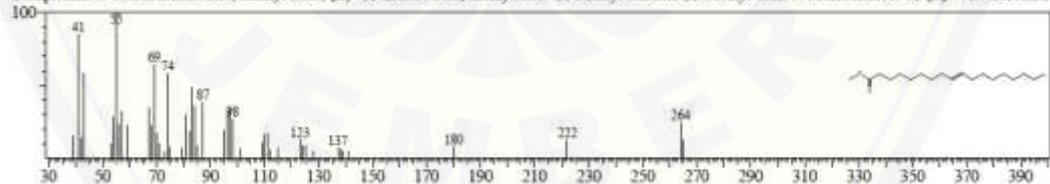


C.3 Ulangan 3

Hit# 2 Entry:10376 Library:NIST12.LIB
 SI:96 Formula:C19H34O2 CAS:2566-97-4 MolWeight:294 RetIndex:0
 CompName:9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-

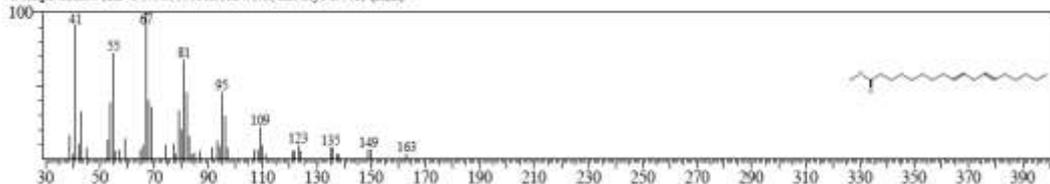


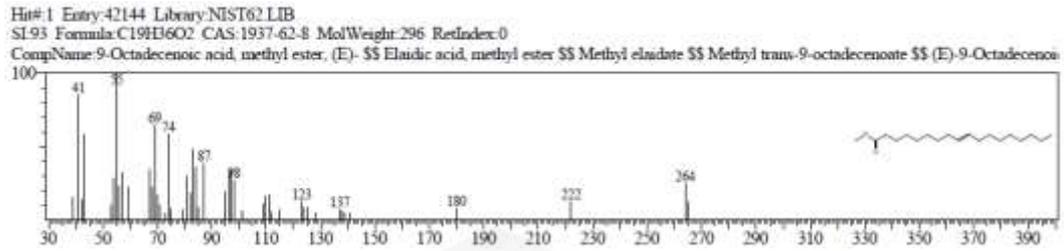
Hit# 1 Entry:42144 Library:NIST62.LIB
 SI:92 Formula:C19H36O2 CAS:1937-62-8 MolWeight:296 RetIndex:0
 CompName:9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- \$\$ Elaidic acid, methyl ester \$\$ Methyl elaidate \$\$ Methyl trans-9-octadecenoate \$\$ (E)-9-Octadecenoic acid, methyl ester



C.4 Ulangan 4

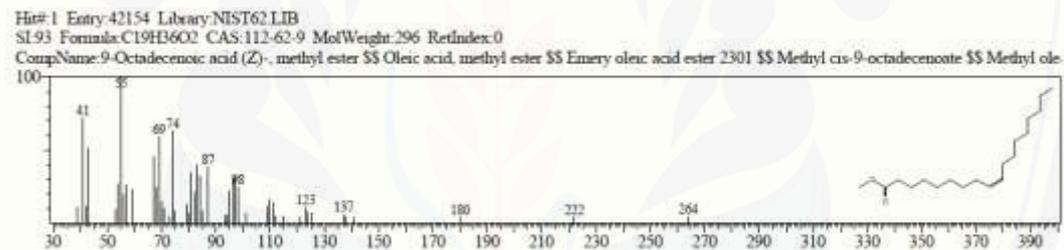
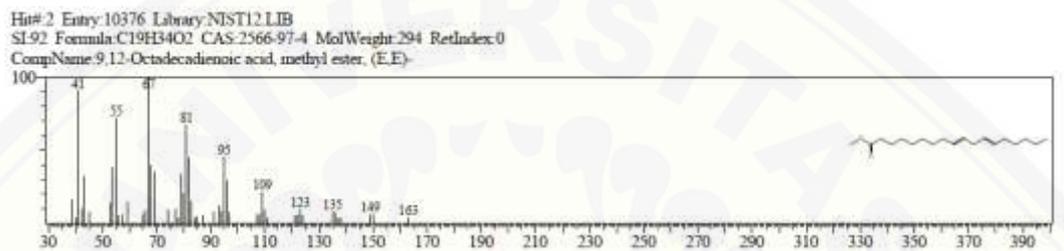
Hit# 1 Entry:10376 Library:NIST12.LIB
 SI:96 Formula:C19H34O2 CAS:2566-97-4 MolWeight:294 RetIndex:0
 CompName:9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-



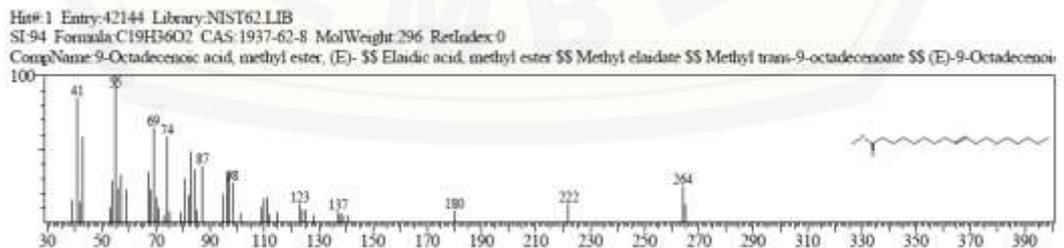
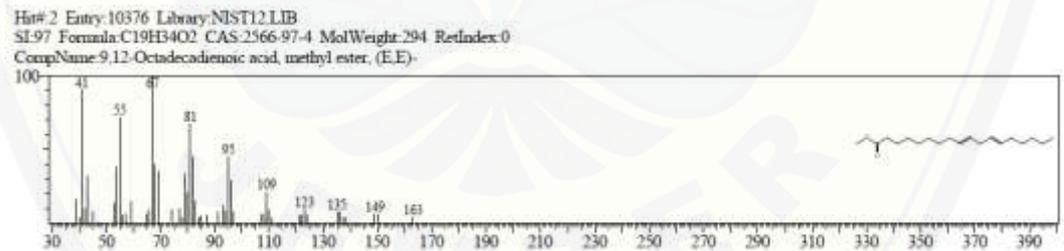


D. Hasil Mass Spectrometer (MS) Tempe Substitusi Krokot Jam Ke-48

D.1 Ulangan 1

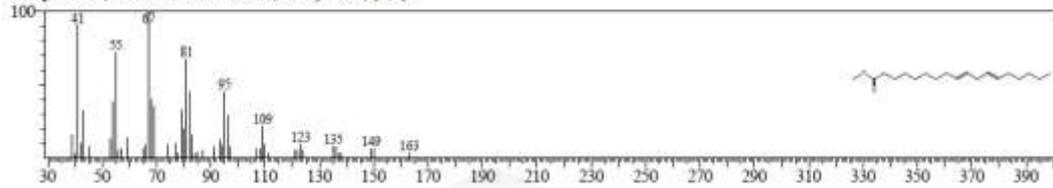


D.2 Ulangan 2

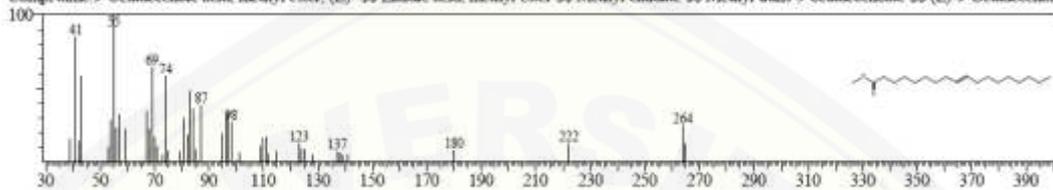


D.3 Ulangan 3

Hit#1 Entry:10376 Library:NIST12.LIB
SI:96 Formula:C19H34O2 CAS:2566-97-4 MolWeight:294 RetIndex:0
CompName:9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester, (E,E)-

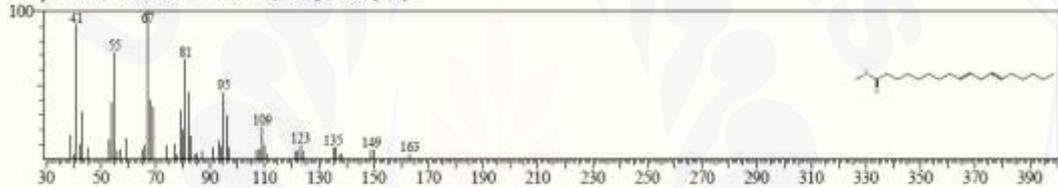


Hit#1 Entry:42144 Library:NIST62.LIB
SI:92 Formula:C19H36O2 CAS:1937-62-8 MolWeight:296 RetIndex:0
CompName:9-Octadecenoic acid, methyl ester, (E)- \$\$ Elaidic acid, methyl ester \$\$ Methyl elaidate \$\$ Methyl trans-9-octadecenoate \$\$ (E)-9-Octadecenoi

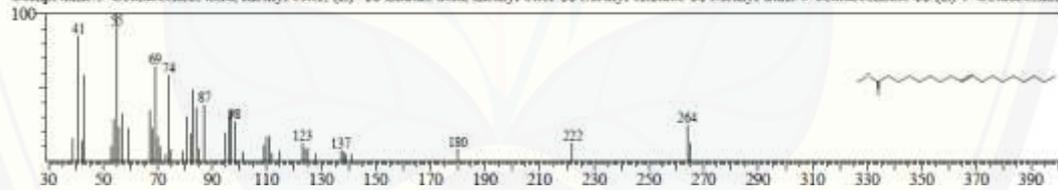


D.4 Ulangan 4

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#1 Entry:42144 Library:NIST62.LIB
SI:93 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-Octadecenoi



D. Komposisi Buffer Na-Phospat 0,2 M (100 ml) pH 7,2

NaH ₂ PO ₄	H ₂ O	(137 gr/mol)	2,74 gr/ml
K ₂ HPO ₄	H ₂ O	(358 gr/mol)	7,16 gr/ml
Aquades			100 ml



