

PENETAPAN KADAR VITAMIN B₁ PADA KACANG KEDELAI DAN TEMPE YANG BEREDAR DI PASAR RAYA PADANG SECARA SPEKTROFOTOMETRI VISIBEL

Fitra Fauziah²⁾, Roslinda Rasyid¹⁾, Angga Prawina Akbar²⁾

¹⁾Fakultas Farmasi Universitas Andalas Padang,

²⁾Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang

ABSTRACT

It has been the research about determination level of vitamin B₁ in soy bean and tempe. The determination level of vitamin B₁ was measured by spectrophotometry visible method. The result is level of vitamin B₁ in soy bean higher than level of vitamin B₁ in tempeh. Which level of vitamin B₁ in soy bean and tempeh is about 1.0213 % ±0.0188% and 0.2960 % ±0.0095%. It show that the proces manufacturing, like washing, bathing, boiling can affect the level of vitamin B₁. Statistic analyze anova one way by using SPSS 17 program shows there are significant different ($p<0.05$) in the level from each sample.

Keywords: Soy bean, Tempe, Vitamin B₁, UV-Vis Spectrophotometry

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai penetapan kadar vitamin B₁ pada kacang kedelai dan tempe. Penetapan kadar vitamin B₁ dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri visible. Hasil penelitian diperoleh kadar vitamin B₁ pada kacang kedelai lebih tinggi dibandingkan kadar vitamin B₁ pada tempe, dimana kadar vitamin B₁ pada kacang kedelai dan tempe masing-masingnya yaitu 1,0213 % ±0,0188% dan 0,2960 % ±0,0095%. Hal ini menunjukkan bahwa proses pengolahan seperti pencucian, perendaman dan perebusan mempengaruhi kadar vitamin B₁. Analisis statistika anova satu arah dengan menggunakan SPPS 17 diperoleh adanya perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) dari kadar tiap sampel.

Kata Kunci: Kacang Kedelai, Tempe, Vitamin B₁, Spektrofotometri UV-Vis

PENDAHULUAN

Vitamin merupakan senyawa organik yang penting bagi kehidupan manusia. Fungsi utama dari vitamin adalah untuk pengaturan proses metabolisme tubuh agar berjalan lancar, dan mengatur fungsi otak (Bourre, 2006). Vitamin kebanyakan tidak dapat disintesa oleh tubuh, walaupun ada beberapa vitamin yang dapat disintesa di dalam tubuh, namun kecepatan pembentukannya sangat kecil, sehingga jumlah vitamin yang terbentuk tidak dapat memenuhi jumlah vitamin yang dibutuhkan tubuh (Huang, 2013). Oleh karena itu tubuh harus tetap memperoleh asupan vitamin dari luar yaitu dari makanan yang dikonsumsi dalam kehidupan sehari – hari (Mutschler, 1991).

Vitamin dapat dikelompokkan ke dalam dua golongan utama yaitu vitamin yang larut dalam lemak yaitu vitamin A, D, E, dan K (Moreno & Salvado, 2000) dan vitamin yang larut dalam air yang terdiri dari vitamin C dan vitamin B (Ayrancı, *et al.*, 2007). Sumber vitamin yang larut dalam air banyak terdapat dalam daging ikan, minyak ikan, biji - bijian, kacang tanah, kacang kedelai dan sebagainya (Mutschler, 1991).

Kandungan vitamin dalam makanan bervariasi tergantung pada cara produksi, penyiapan, dan penyimpanannya. Beberapa vitamin dapat rusak jika dimasak, tercuci, atau terlarut oleh air. Salah satu contoh vitamin yang larut dalam air adalah vitamin B₁ (Mutschler, 1991).

Tiamin hidroklorida adalah bentuk murni vitamin B₁. Merupakan vitamin larut air yang terlibat dalam metabolisme glukosa dan lipid serta produksi neurotransmitter (Cook, *et al.*, 1998). Dalam makanan, tiamin dapat ditemukan dalam bentuk kompleks protein-fosfat. Tiamin merupakan vitamin yang dibutuhkan untuk menimbulkan nafsu makan, membantu penggunaan karbohidrat dalam tubuh dan sangat berperan dalam sistem saraf (Almatsier, 2005).

Fungsi tiamin adalah mengatasi gangguan saraf otot seperti nyeri, rematik, mengobati defisiensi beri - beri, lesu, jantung berdebar - debar dan mengatasi gangguan metabolisme (Widodo, 2004; Pavlovic, 2013). Kekurangan Vitamin B₁ dapat menyebabkan berbagai gejala neurologis dan gejala kardiovaskular. Gejala awal mungkin termasuk kelelahan, kelemahan dan gangguan emosional, sedangkan kekurangan berkepanjangan dapat menyebabkan *polyneuritis* (dikenal sebagai beri-beri kering) dan gagal jantung atau edema perifer (beri-beri basah) (Thomson, 2000).

Salah satu tumbuhan yang mengandung vitamin B₁ adalah kacang kedelai. Kacang kedelai merupakan sumber protein, lemak, vitamin, mineral, dan serat yang paling baik (Chen *et al.*, 2013). Kacang kedelai biasa dikonsumsi dalam produk olahan. Salah satu dari produk olahan kacang kedelai adalah tempe. Tempe adalah produk fermentasi (Astuti& Meliala., 2000) yang sangat dikenal oleh masyarakat Indonesia (Kasmidjo, 1990). Tempe merupakan salah satu makanan utama tradisional Indonesia yang terbuat dari kedelai rebus yang difermentasi oleh jamur *Rhizopus oligosporus*. Selama fermentasi, kacang kedelai terperangkap dalam rajutan *misella* jamur membentuk padatan yang kompak berwarna putih (Steinkraus, 1983).

Tiamin merupakan salah satu jenis vitamin yang tidak stabil. Stabilitasnya dipengaruhi oleh pH, suhu dan cara pengolahannya. Pencucian merupakan faktor penting yang mempengaruhi kehilangan tiamin dalam bahan pangan. Pada umumnya sebelum kacang kedelai dimasak dilakukan proses pencucian dan perendaman sehingga menghasilkan kacang kedelai yang bersih. Proses pencucian dan perendaman menyebabkan berkurangnya kadar tiamin kacang kedelai yang bersifat mudah larut dalam air.

Berdasarkan hal di atas peneliti tertarik untuk mengetahui perbedaan kadar vitamin B₁ pada kacang kedelai dan tempe. Karena pada pembuatan tempe, kacang kedelai harus direbus terlebih dahulu. Perebusan atau proses memasak kacang kedelai dapat merusak kandungan vitamin yang terdapat dalam kacang kedelai. Pada penelitian ini, penetapan kadar vitamin B₁ dilakukan dengan metode spektrofotometri. Pengoplek yang digunakan adalah biru bromtimol (BBT) yang dapat membentuk kompleks asosiasi ion dengan vitamin B₁, menggunakan polivinyl alkohol (PVA) sebagai zat pensolubilisasi yang menghasilkan senyawa yang larut dalam air dan diukur dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang serapan maksimum 400-800 nm (Andayani *et al.*, 2011).

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat – alat yang digunakan adalah seperangkat alat spektrofotometer UV-Visibel (Shimadzu T 70 double beam), timbangan analitik (Ohaio), erlemeyer, spatel, batang pengaduk, pipet tetes, corong, gelas ukur, pH meter (Inolab), labu ukur, beacker glass, blender (Panasonic), kertas saring, kaca arloji, tisue.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu kacang kedelai, tempe, vitamin B₁, etanol 96% (Brataco Chemika), polivinyl alkohol, biru bromtimol (BBT) (Merck), amonium klorida, amonia, kalium heksasianoferat, timbal asetat, fenolftalein, aquadest, natrium hidroksida, n-butanol, asam klorida.

Perlakuan sampel kacang kedelai dan tempe

Sampel kacang kedelai dihaluskan dengan blender, kemudian ditimbang dengan timbangan analitik sebanyak 5 g (5,001 mg, 5,002 mg, 5,001 mg) menggunakan perkamen, masukan sampel ke dalam erlenmeyer 50 mL, cukupkan dengan aquadest sampai tanda batas, kocok homogen, kemudian saring dengan kertas saring, masukkan ke dalam labu ukur 50 mL, cukupkan dengan aquadest sampai tanda batas, tunggu ± 1 jam.

Sampel tempe dihaluskan dengan blender, kemudian ditimbang dengan timbangan analitik sebanyak 5 g (5,003 mg, 5,002 mg, 5,003 mg) menggunakan perkamen, masukan sampel ke dalam erlenmeyer 50 mL, cukupkan dengan aquadest sampai tanda batas, kocok homogen, kemudian saring dengan kertas saring, masukkan ke dalam labu ukur 50 mL, cukupkan dengan aquadest sampai tanda batas, tunggu ± 1 jam.

Identifikasi vitamin B₁

1. Uji Kelarutan

Zat dilarutkan dengan beberapa pelarut seperti air, etanol, dan gliserin. Kemudian lihat kelarutannya.

2. Pemeriksaan Kualitatif

a. Reaksi tiokrom

10 mg zat ditambahkan dengan 3 mL NaOH 1 N, tambahkan 2 tetes kalium heksasianoferat (III) 5% yang dibuat baru dan 5 mL n-butanol, kemudian dikocok kuat selama

beberapa menit, setelah terpisah lapisan akan berfluresensi biru ungu.

b. Reaksi warna dengan timbal asetat

10 mg zat ditambahkan 1 mL larutan timbal asetat 10% dan 2 mL NaOH 6 N, segera akan terbentuk warna kuning. Pada pemanasan terbentuk endapan coklat hitam (warna kuning), juga yang terjadi dengan NaOH 3 N tanpa penambahan timbal asetat.

c. Pemeriksaan Amin Aromatik Primer (Reaksi diazo)

50 mg zat dilarutkan dalam 1 mL HCl 3 N, kemudian larutan direaksikan dengan 2 tetes pereaksi diazo I, kemudian dituangkan ke dalam 2 mL pereaksi diazo II, terbentuk warna merah jingga atau endapan (Autherhoff & Kovar, 1987).

Penetapan kadar vitamin B₁

Pembuatan Larutan induk vitamin B₁

Ditimbang 25 mg vitamin B₁ masukkan dalam labu ukur 50 mL, kemudian tambahkan aquadest sampai tanda batas. Sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk vitamin B₁ 500 µg/mL.

Penentuan panjang gelombang (λ)_{analisis}

Buat larutan dengan konsentrasi 80 µg/mL, dengan memipet 4 mL larutan induk, masukan dalam labu ukur 25 mL tambahkan 1,5 mL dapar amonia, tambahkan 3 mL biru bromtimol 0,05 % dan 1 mL polivinyl alkohol 1 % kemudian cukupkan dengan aquadest sampai tanda batas, dibuat pengenceran dengan konsentrasi 30 µg/mL. Pipet 3,75 mL masukan dalam labu ukur 10 mL cukupkan sampai tanda batas, ukur panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 400-800 nm.

Pembuatan kurva kalibrasi

Dibuat seri larutan dengan kosentrasi 10, 15, 20, 25, 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Pipet larutan induk dengan konsentrasi 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ masing-masing sebanyak 1,25; 1,875; 2,5; 3,125 dan 3,75 masukkan ke dalam labu ukur 10 mL, cukupkan dengan aquadest sampai tanda batas. Ukur serapan pada panjang gelombang maksimum vitamin B₁ dengan spektrofotometer visibel. Kemudian buat kurva kalibrasi vitamin B₁.

Penetapan kadar vitamin B₁ pada kacang kedelai dan tempe

Penetapan kadar vitamin B₁ pada sampel dilakukan dengan memipet 5 mL filtrat sampel, masukkan ke dalam labu ukur 25 mL, tambahkan 1,5 mL dapar amonia, tambahkan 3 mL biru bromtimol 0,05 % dan 1 mL polivinyl alkohol 1 %, kemudian cukupkan dengan aquadest sampai tanda batas, kocok homogen, ukur serapan dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimum vitamin B₁ yaitu 423 nm. Kemudian tentukan kadar vitamin B₁ pada sampel dengan menggunakan persamaan regresi dari kurva kalibrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Setelah dilakukan penelitian tentang penetapan kadar vitamin B₁ pada kacang kedelai dan tempe secara spektrofotometri visibel didapatkan hasil sebagai berikut :

1. Hasil determinasi
Famili : Leguminosae
Spesies : *Glycine max* (L.) Merr.
2. Identifikasi vitamin B₁ sebagai larutan pembanding untuk pemerian bentuk hablur, warna putih, bau tidak berbau, untuk identifikasi dengan reaksi tiokrom dikocok kuat terpisah dan kemudian berfloresensi biru ungu, pada reaksi Timbal asetat terbentuk warna kuning,

dan reaksi diazo terbentuk warna merah jingga dan mempunyai endapan.

3. Identifikasi vitamin B₁ pada kacang kedelai dan tempe dengan reaksi tiokrom dikocok kuat terpisah dan kemudian berfloresensi biru ungu, pada reaksi Timbal asetat terbentuk warna kuning dan reaksi diazo terbentuk warna merah jingga dan mempunyai endapan putih.
4. Pengukuran panjang gelombang absorpsi maksimum larutan standar vitamin B₁ diperoleh panjang gelombang 423 nm.
5. Pada penentuan kurva kalibrasi vitamin B₁, diperoleh persamaan regresi $y = -0,0020 + 0,0228x$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,9997.
6. Hasil simpangan baku 0,0066, batas deteksi 0,8684 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan batas kuantifikasi 28,947 $\mu\text{g}/\text{mL}$.
7. Analisis % rata-rata kadar vitamin B₁ pada kacang kedelai 1,0213 % $\pm 0,0188$ % dan pada tempe 0,2960 % $\pm 0,0095$.
8. Analisis statistik dengan metode anova satu arah ada perbedaan nyata antara kadar vitamin B₁ kacang kedelai dan tempe.

Pembahasan

Pada penelitian ini sampel yang digunakan untuk penetapan kadar vitamin B₁ adalah kacang kedelai dan tempe yang beredar di Pasar Raya Padang. Alasan peneliti memilih kacang kedelai dan tempe sebagai sampel, dengan tujuan untuk melihat perbedaan kadar vitamin B₁ yang terkandung dalam kacang kedelai dan tempe. Kadar vitamin B₁ dipengaruhi oleh proses pengolahan (pencucian, perendaman dan pemasakan).

Sebelum dihaluskan sampel dicuci bersih dengan tujuan menghilangkan debu yang menempel, setelah itu dilakukan proses

penghalusan. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam erlemeyer 50 mL dan dicukupkan dengan aquadest sampai tanda batas. Setelah itu larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring dan hasil saringan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL cukupkan dengan aquadest sampai tanda batas.

Setelah didapat larutan yang bersih, dapat dilakukan uji identifikasi yaitu dengan menggunakan pereaksi tiokrom dengan hasil lapisan terpisah dan berfloresensi biru ungu, reaksi dengan menggunakan timbal asetat dengan hasil larutan menjadi berwarna kuning dan memiliki endapan, dan dengan menggunakan reaksi diazotasi yang hasilnya larutan berubah warna menjadi merah jingga.

Dari hasil identifikasi pada kacang kedelai dan tempe kita dapat menyimpulkan bahwa pada kacang kedelai dan tempe memang terdapat kandungan vitamin B₁. Selanjutnya untuk mendapatkan kadar vitamin B₁ dapat dilakukan pengukuran dengan metode spektrofotometri visibel. Metode ini merupakan metode yang sederhana, mudah dan selektif dengan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat, dan dapat diterapkan langsung pada vitamin B₁ dalam fase air tanpa melakukan ekstraksi dengan pelarut organik.

Pada penentuan panjang gelombang maksimum vitamin B₁ didapat absorban maksimum sebesar 0,678 pada panjang gelombang 423 nm. Setelah didapatkan panjang gelombang serapan maksimum kemudian diukur absorban vitamin B₁ pada konsentrasi 1,25 ml (10 ppm), 1,875 ml (15 ppm), 2,5 ml (20 ppm), 3,125 ml (25 ppm), 3,75 ml (30 ppm). Dari pengukuran ini didapatkan persamaan garis lurus yaitu $y = -0,0020 + 0,0228 x$ dan koefisien korelasi (r) yaitu 0,9997.

Karena nilai koefisien kolasinya (r) ≤ 1 , maka kurva kalibrasi yang diperoleh linier. Dari persamaan ini dapat ditentukan kadar vitamin B₁ total dari larutan sampel.

Batas deteksi merupakan jumlah kecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi dan memberikan respon signifikan terhadap blanko sedangkan batas kuantifikasi adalah jumlah terkecil analit yang masih dapat mempengaruhi kriteria cermat dan seksama. Dari pengukuran kurva kalibrasi, didapatkan simpangan baku (SD) 0,0066 batas deteksi (BD) 0,8684 $\mu\text{g/mL}$ dan batas kuantifikasi (BK) 2,8947 $\mu\text{g/mL}$.

Ketelitian diukur sebagai koefisien variasi (KV). Ketelitian adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual diukur melalui penyebaran hasil individual rata-rata. Pada penelitian ini diperoleh koefisien variansi untuk kacang kedelai 1,8407 % dan tempe 0,9302 %. Ketelitian diberikan jika metode memberikan simpangan baku relatif atau koefisien variansi 2% atau kurang.

Hasil evaluasi kerja untuk menentukan kadar vitamin B₁ total secara spektrofotometri mempunyai ketepatan dan ketelitian yang tinggi sesuai dengan batas-batas kerja yang baik. Kadar vitamin B₁ total yang diperoleh dari kacang kedelai 1,0213 %, $\pm 0,0189\%$ dan dari tempe 0,2906 % $\pm 0,0095$ (Retiaty, 2012).

Analisis penetapan kadar vitamin B₁ pada sampel dilakukan dengan menggunakan SPSS 17. Persentase kadar vitamin B₁ dianalisis dengan menggunakan ANOVA satu arah. Dari analisis didapatkan % kadar vitamin B₁ pada kacang kedelai dan tempe yaitu 1,0213%, SD $\pm 0,0189$ dan 0,2906, SD $\pm 0,0095$. Analisis homogenitas variansi levene statistic didapatkan hasil sig. 0,208 ($p > 0,05$), yang berati H_0 diterima atau

variansi kandungan kadar dari dua sampel sama sehingga uji ANOVA dengan menggunakan uji F dapat dilanjutkan. Analisis ANOVA didapat hasil sig. 0,000 ($p < 0,05$), yang berarti H_0 ditolak atau rata-rata kadar vitamin B₁ pada kedua sampel adalah berbeda.

Berdasarkan data yang diperoleh, kadar vitamin B₁ yang terdapat pada kacang kedelai lebih besar dibandingkan kadar vitamin B₁ pada tempe. Hal itu disebabkan oleh proses pengolahan tempe. Pada saat proses pengolahan, tempe dimasak menggunakan suhu yang tinggi sehingga mengurangi kadar vitamin B₁ pada tempe ($> 100^\circ\text{C}$), seharusnya pangan yang mengandung tiamin tidak boleh dicuci dalam air untuk jangka waktu yang lama. (Andayani *et al*, 2011).

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa kadar vitamin B₁ pada kacang kedelai lebih tinggi dibandingkan kadar vitamin B₁ pada tempe ($p < 0,05$). Kadar vitamin B₁ pada kacang kedelai 1,0213%, $\pm 0,0189$ dan pada tempe 0,2906%, $\pm 0,0095$.

DAFTAR PUSTAKA

Almatsier, S. (2005). *Prinsip dasar ilmu gizi*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama.

Andayani, R ., Harun, S. & Maya, V.K. (2011). Penetapan kadar vitamin B₁ pada beras merah tumbuk, beras merah giling, dan beras putih giling secara spektrofotometer uv-visibel. *JScient I* (2), 7 – 11.

Astuti, M. & Meliala, A. (2000). Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia. *J Clin Nutr Asia Pacific* 9(4), 322–325.

Auterhooff, H. & Kovar, K. A. (1987). *Identifikasi obat*. (Terbitan ke 4). Penerjemah : Sugiarso, N.C. Bandung : Penerbit ITB.

Ayrancı, G., Sahin, M., & Ayrancı, E. (2007). Volumetric properties of ascorbic acid (vitamin C) and thiamine hydrochloride (vitamin B1) in dilute HCl and in aqueous NaCl solutions at (283.15, 293.15, 298.15, 303.15, 308.15, and 313.15) K. *J. Chem. Therm* 30,30-3.

Bourre, J.M. (2006). Effect Of Nutrient (In Food) On The Stucture and Function Of The Nervous System: Update On Dietary Requirements For Brain. Part 1: Micronutrients. *The Journal of Nutr, Health & Aging*© Volume 10, Number 5,2006. Hal 377-385.

Chen, L., Madl, R.L., Vadlani, P.V., Li, L., & Wang, W. (2013). Value - added products from soybean: removal of anti-nutritional factors via bioprocessing. *J Soybean - Bio-Active Compound*, Chapter 8.

Cook, C. C. H., Hallwood, P. M., & Thomson, A. D. (1998) B vitamin deficiency and neuropsychiatric syndromes in alcohol misuse. *J Alcohol and Alcoholism* 33, 317–336.

Kasmidjo, R.B. (1990). *Tempe : Mikrobiologi dan kimia pengolahan serta pemanfaatannya*. Yogyakarta : PAU Pangan dan Gizi UGM.

Moreno, P. & Salvado, P. (2000). Determination of eight water- and fat-soluble vitamins in multi-vitamin pharmaceutical formulations by high-performance liquid chromatography. *J of Chrom A*, 870, 207–215

Mutschler, E. (1991). *Dinamika obat.* (Edisi Kelima). Penerjemah : Widianto, M.B dan Rianti, A.S : Bandung : Penerbit ITB.

Pavlovic, D. M. & Pavlovic, A. M. (2013).B Vitamins and Dementias.*J Curr Top Neur Psych Relat Discip.* 21, No. 1-2. 10

Retiaty, F., Kurniawati, N., & Komari. (2012). Pengaruh ketebalan substrat pada fermentasi tempe terhadap kadar vitamin B₁ (The influence of substrate thickness during tempe fermentation on vitamins B₁ level). *J Panel gizi makanan*,35(2): 182-188

Steinkraus, K.H. (1983). *Indonesian tempeh and related fermentation.* Dalam : Handbook of Indigenous Fermented Foods, ed K.H., Steinkraus dkk.(pp. 1-94). New York: Marcel-Dekker Inc.

Thomson, A. D. (2000) Mechanisms of vitamin deficiency in chronic alcohol misusers and the development of the Wernicke–Korsakoff syndrome. *J Alcohol and Alcoholism* 35 (1), 2–7.

Widodo, R. (2004). *Panduan keluarga memilih dan menggunakan obat.* Yogyakarta : Kreasi Wacana.