

KANDUNGAN GIZI DAN MUTU PROTEIN TEPUNG BIJI KELOR TERFERMENTASI

[Nutritional Content and Protein Quality of Fermented Moringa Seed Flour]

Ni'mawati Sakinah, Endang Prangdimurti*, dan Nurheni Sri Palupi

Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Diterima 18 November 2018 / Disetujui 24 September 2019

ABSTRACT

Moringa oleifera seed has the potential as a source of new food ingredients having high nutritional content, especially protein. The objective of this study was to evaluate the effect of fermentation toward biochemical composition and *in vitro* protein digestibility (IVPD) of Moringa seed flour. Fermentation was carried out by soaking the seeds at room temperature ($30\pm 2^\circ\text{C}$) for 24 and 48 h, either naturally (without starter addition) and with starter addition (i.e. commercial starter containing lactic acid bacteria/LAB). Unfermented and fermented seeds were processed into flour and their proximate composition, antitrypsin, tannin and IVPD were analyzed. The statistical methods used were ANOVA and Duncan's test at confidence level of 95%. The best treated flour was chosen using the De Garmo method and the amino acid profile was then analyzed. Protein digestibility-corrected amino acids (PDCAAS) were calculated to determine the biological quality of proteins. The results showed that fermentation affected the changes in biochemical composition of the flour. Longer fermentation time could reduce the crude protein and antitrypsin content in both types of fermentation. On the other hand, there was an increase in tannin content during fermentation. The IVPD also increased by 75% at 48 h fermentation from the initial digestibility of raw seeds of 71%, thus increase in tannin content did not affect the IVPD. Natural fermentation of moringa seeds for 48-hour resulted in the best flour with IVPD and PDCAAS values of 75.33% and 0.18 (18.31%) respectively.

Keywords: fermentation, *Moringa oleifera*, nutritional content, protein quality

ABSTRAK

Biji kelor (*Moringa oleifera*) berpotensi sebagai sumber bahan pangan baru dengan kandungan gizinya yang tinggi terutama protein. Tujuan penelitian menganalisis pengaruh fermentasi terhadap komposisi biokimia dan daya cerna protein *in vitro* tepung biji kelor untuk menentukan mutu proteinnya. Fermentasi dilakukan dengan merendam biji pada suhu ruang ($30\pm 2^\circ\text{C}$) selama 24 dan 48 jam, dengan metode fermentasi alami dan penambahan *starter* komersial yang mengandung BAL. Biji mentah serta hasil tiap perlakuan fermentasi diolah menjadi tepung dan dilakukan analisis (proksimat, antitripsin, tanin, daya cerna protein *in vitro*). Perlakuan terbaik dipilih menggunakan metode De Garmo dan dilanjutkan analisis profil asam amino. Penentuan mutu biologis protein dilakukan menggunakan *protein digestibility-corrected amino acid* (PDCAAS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa fermentasi memberikan pengaruh pada perubahan komposisi biokimia tepung biji kelor. Waktu fermentasi lebih lama menurunkan kandungan protein kasar dan antitripsin pada kedua jenis fermentasi. Di sisi lain, terjadi peningkatan kandungan tanin selama fermentasi. Namun daya cerna protein *in vitro* juga mengalami peningkatan hingga 75% pada waktu fermentasi 48 jam dari daya cerna awal biji mentah sebesar 71%. Hal ini menunjukkan kenaikan kandungan tanin tidak berdampak signifikan terhadap daya cerna protein. Tepung biji kelor fermentasi alami 48 jam terpilih sebagai tepung perlakuan terbaik dengan nilai daya cerna protein *in vitro* sebesar 75,33% dan PDCAAS 0,18 (18,31%).

Kata kunci: biji kelor, fermentasi, komponen gizi, mutu protein

*Penulis Korespondensi:
Email: prangdimurti@gmail.com

PENDAHULUAN

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) terkenal sebagai tanaman obat karena setiap bagian tanaman memiliki khasiat dan manfaat untuk dikembangkan. Biji kelor mengandung karbohidrat, lemak dan protein yang tinggi. Karbohidrat total dalam biji kelor berkisar antara 11-15%, lemak 30-43% dan protein sekitar 29-38% (Anwar dan Rashid, 2007; Compaore *et al.*, 2011; Olagbemide dan Philip, 2014).

Kandungan protein yang mencapai 35,97% (Olagbemide dan Philip, 2014) menjadikan biji kelor berpotensi sebagai pangan alternatif sumber protein baru yang dapat dikembangkan untuk mengatasi defisiensi protein. Namun pemilihan bahan pangan sebagai sumber protein tidak hanya berdasar pada tingginya protein tetapi perlu mempertimbangkan mutu biologisnya yang ditentukan dari daya cerna dan komposisi asam amino esensial (Barakat dan Ghazal, 2016).

Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa biji kelor mengandung beberapa senyawa antigizi seperti fitat, tanin, saponin dan antitripsin (Olagbemide dan Philip, 2014). Penelitian ini berfokus pada kandungan tanin dan antitripsin yang diduga memiliki keterkaitan dengan daya cerna protein. Tanin adalah salah satu komponen fenolik larut air yang memiliki kemampuan dalam membentuk ikatan dengan protein, vitamin dan mineral sehingga menurunkan kemampuan cerna (Simwaka *et al.*, 2017). Antitripsin memiliki kemampuan menghambat aktivitas proteolitik enzim tripsin (Kakade *et al.*, 1974). Meskipun telah banyak dilaporkan bahwa golongan antitripsin merupakan senyawa antigizi yang sensitif terhadap perlakuan panas, namun beberapa jenis antitripsin juga dilaporkan memiliki ketahanan terhadap suhu tinggi (Avilés-Gaxiola *et al.*, 2017).

Fermentasi merupakan salah satu metode yang cukup efektif untuk menaikkan kualitas gizi produk tanaman, terutama biji-bijian. Fermentasi membantu menurunkan kandungan antigizi serta meningkatkan daya cerna dan beberapa karakteristik flavor dari biji mentah (Simwaka *et al.*, 2017). Metode fermentasi dapat dilakukan secara spontan oleh mikroba yang secara alami terdapat dalam biji ataupun media yang digunakan dan lingkungan sekitar. Metode lain adalah dengan penambahan *starter* mikroba tertentu yang diperoleh dari produk fermentasi sebelumnya. Fermentasi dapat meningkatkan kualitas produk pangan (Adeoti dan Osundahunsi, 2017) karena adanya pemecahan karbohidrat dan sintesis asam amino esensial sehingga terjadi perbaikan susunan komposisi asam amino menjadi lebih seimbang (Ijarotimi *et al.*, 2013).

Kurangnya informasi tentang nilai gizi dan daya cerna biji kelor menjadi salah satu faktor yang membatasi pengembangan kegunaannya dalam bidang

pangan. Penelitian terkait manfaat biji kelor sebagai bahan pangan sumber nutrisi di Indonesia masih belum ditemui. Penelitian dilakukan untuk menganalisis pengaruh fermentasi terhadap komposisi zat gizi, daya cerna protein *in vitro* dan profil asam amino dengan tujuan memperoleh karakteristik mutu biologis protein tepung biji kelor varietas lokal Indonesia.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Biji kelor yang digunakan merupakan varietas lokal berasal dari Toko Agro Sejahtera Kabupaten Kediri, Jawa Timur, Indonesia, dengan biji berwarna coklat kehitaman dipilih dari polong yang sudah tua. Fermentasi menggunakan *starter* cair komersil merek "Palata" PT. Kimia Organik Jakarta yang berasal dari hasil fermentasi pisang yang mengandung mikroba dari golongan bakteri asam laktat (BAL). Analisis kimia menggunakan bahan kimia kualitas *pro-analysis*.

Perlakuan biji kelor

Fermentasi mengacu metode fermentasi Oloyede *et al.* (2016) dengan beberapa modifikasi pada perlakuan pendahuluan serta perbandingan biji dan air rendaman. Biji dihilangkan kulit luarnya secara manual kemudian ditimbang sebanyak 100 g. Biji kelor kupas dicuci dan direndam air panas (80-90°C; 1-2 menit). Biji ditiriskan dan direndam air matang dengan perbandingan biji kelor dan air 1:10 (w/v), fermentasi pada suhu ruang (30±2°C), tertutup, selama 24 dan 48 jam. Perlakuan fermentasi dengan *starter* dilakukan seperti halnya fermentasi alami. Penambahan *starter* cair diberikan sebanyak 5% (v/v) mengacu pada metode Darmawan *et al.* (2013). Biji fermentasi dicuci, ditiriskan dan dikeringkan (50°C; 24 jam). Biji kering dilanjutkan dengan proses penepungan 60 mesh. Terdapat total 5 perlakuan yakni biji kelor mentah tanpa fermentasi (UF), fermentasi alami 24 jam (NF24), fermentasi alami 48 jam (NF48), fermentasi *starter* 24 jam (SF24) dan fermentasi *starter* 48 jam (SF48).

Analisis sampel

Analisis dilakukan duplo tiap perlakuan. Analisis proksimat menggunakan prosedur standar analisis (AOAC, 2012) meliputi kadar air (metode 934.01), abu (metode 923.03), lemak (metode 922.06) dan protein kasar (metode 990.03). Karbohidrat dihitung menggunakan metode *by difference*. Analisis daya cerna protein *in-vitro* teknik multienzim mengikuti prosedur dari Hsu *et al.* (1977). Enzim yang digunakan tripsin (Porcine pancreatic trypsin, type IX, 14190 BEAE unit/mg protein, SIGMA), kimotripsin (Bovine pancreatic chymotrypsin, type II, 60 unit/mg powder, SIGMA) dan peptidase (porcine intestinal

peptidase, 40 unit/mg powder, SIGMA). Kadar protein dikonversi dengan faktor konversi 6,25 untuk mendapatkan total protein yang didasarkan pada kandungan total nitrogen. Nilai pH suspensi pada tepat menit ke-10 dicatat sebagai nilai X dan daya cerna protein ditentukan dengan persamaan $Y = 210.464 - 18.103 X$ ($Y =$ nilai daya cerna protein, $X =$ nilai pH suspensi menit ke-10). Persamaan tersebut diperoleh dari hasil percobaan oleh Hsu *et al.* (1977) yang menggambarkan hubungan signifikan antara nilai pH pada menit ke-10 dengan nilai *true digestibility* dari pengujian *in vivo*. Penentuan kandungan antitripsin dilakukan menggunakan metode dari Kakade *et al.* (1974) dan total tanin metode Amorim *et al.* (2008).

Penentuan tepung perlakuan terbaik

Tepung perlakuan terbaik dipilih menggunakan uji efektivitas pada keempat perlakuan fermentasi tanpa memasukkan perlakuan mentah (De Garmo *et al.*, 1984). Parameter terpilih yang dianggap berpengaruh pada mutu protein diberikan bobot variabel dengan angka 0-1. Besar bobot ditentukan berdasarkan tingkat kepentingan parameter. Parameter yang dipilih adalah daya cerna protein (nilai 1); kandungan antitripsin dan tanin dengan nilai masing-masing 0,9; dan protein kasar (b.k) (nilai 0,85). Daya cerna dipilih sebagai parameter paling penting dalam menentukan mutu protein. Hal ini karena suatu bahan dapat menjadi sumber protein apabila mampu dihidrolisis oleh enzim pencernaan sehingga dapat diserap dan dimanfaatkan tubuh dengan baik. Kandungan antigizi menjadi parameter terpenting kedua setelah daya cerna karena adanya antigizi dapat memengaruhi nilai daya cerna protein. Hasil yang diinginkan adalah produk dengan kandungan antigizi yang rendah. Oleh sebab itu, kadar protein diberikan bobot paling kecil. Nilai total efektivitas dihitung dengan menjumlahkan semua nilai hasil masing-masing parameter. Nilai terbesar dipilih sebagai hasil perlakuan terbaik.

Evaluasi mutu biologis protein

Tepung terpilih dilanjutkan analisis profil asam amino. Skor asam amino (SAA) dihitung dengan membagi masing-masing nilai kandungan asam amino sampel dengan nilai referen dari *Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation 2007* asam

amino tersebut. Mutu protein ditentukan dengan metode perhitungan *protein digestibility-corrected amino acid* (PDCAAS) (Almeida *et al.*, 2015).

Pengolahan data

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 2 kali ulangan perlakuan. Analisis statistik dilakukan dengan ANOVA dan uji lanjut dengan *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar air

Hasil uji komposisi proksimat tepung biji kelor disajikan pada Tabel 1. Kadar air tepung fermentasi mengalami peningkatan dibandingkan dengan tepung biji mentah. Peningkatan ini berbeda nyata ($P < 0,05$) pada NF24 dan SF24 yang ditunjukkan dengan adanya notasi yang sama namun tidak berbeda nyata pada NF48 dan SF48. Kadar air tepung fermentasi alami dan penambahan *starter* yang sama menunjukkan perbedaan jenis perlakuan fermentasi tidak berpengaruh.

Protein kasar

Protein kasar tepung UF adalah 44,23% (b.k), lebih tinggi dibandingkan beberapa penelitian yang menyebutkan kisaran protein biji kelor dengan kadar air 2-9% adalah sekitar 29-38% (b.b) (Anwar dan Rashid, 2007; Compaore *et al.*, 2011; Olagbemide dan Philip, 2014; Mune *et al.*, 2016). Perbedaan kandungan gizi karena kondisi lingkungan tumbuh yang tidak sama. Pada biji kelor varietas lokal Indonesia ini protein menjadi makromolekul dominan. Olagbemide dan Philip (2014) juga menyebutkan bahwa kandungan tertinggi biji kelor Nigeria adalah protein sebesar 35,97% (b.b).

Protein tepung fermentasi mengalami penurunan yang signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan protein tepung UF. Penelitian fermentasi sorgum (Pranoto *et al.*, 2013) dan fermentasi tepung campuran (Simwaka *et al.*, 2017) juga menunjukkan adanya penurunan protein. Jenis perlakuan fermentasi tidak berpengaruh pada terjadinya penurunan kadar protein kasar biji kelor.

Tabel 1. Komposisi proksimat tepung biji kelor tiap perlakuan

Sampel	Air (%)	Abu (% bk)	Lemak (% bk)	Protein (% bk)	Karbohidrat (%bk)
UF	3,59±0,23 ^a	4,25±0,18 ^c	36,54±0,19 ^a	44,23±1,14 ^b	14,98±1,52 ^b
NF24	5,27±1,15 ^b	4,03±0,03 ^b	41,20±0,63 ^b	41,07±0,47 ^a	13,70±0,13 ^{ab}
NF48	4,51±0,63 ^{ab}	3,81±0,05 ^a	42,88±0,17 ^c	39,92±1,08 ^a	13,39±1,29 ^a
SF24	5,28±0,97 ^b	3,96±0,04 ^b	40,22±0,67 ^b	41,10±0,98 ^a	14,72±0,34 ^{ab}
SF48	4,56±1,12 ^{ab}	3,73±0,03 ^a	43,24±1,62 ^c	39,66±0,96 ^a	13,37±0,63 ^a

Keterangan: UF= *Unfermented* (Biji kelor mentah); NF= *Natural fermentation* (fermentasi alami 24, 48 jam); SF= *Starter fermentation* (fermentasi starter 24, 48 jam); Notasi (a) untuk nilai paling kecil, (b) lebih besar dan seterusnya. Notasi yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan perlakuan lain dan sebaliknya

Terlihat bahwa kandungan protein kasar fermentasi alami dan starter memiliki besar yang sama. Hal ini diduga karena ketidaktepatan pemilihan metode fermentasi dan penggunaan *starter* yang digunakan sehingga fermentasi yang terjadi belum berjalan secara optimal.

Metode fermentasi dengan perendaman diduga dapat menyebabkan kehilangan protein, terutama golongan larut air ke media fermentasi, sehingga kadar protein kasar akan terukur lebih rendah. Rendahnya total protein pada fermentasi cair disebabkan adanya beberapa jenis protein sitosol yang terlepas ke medium ekstraselular (Li *et al.*, 2013). *Starter* cair pada penelitian ini kurang tepat digunakan karena akan terlarut ke media fermentasi sehingga penetrasi mikroba ke dalam biji kelor tidak maksimal.

Penyebab lain terjadinya penurunan protein adalah aktivitas proteolitik mikroba (Simwaka *et al.*, 2017). Mikroba memecah protein menjadi asam amino yang kemudian dipecah kembali menjadi amonia dan komponen flavor, sehingga kandungan protein terukur lebih rendah (Pranoto *et al.*, 2013). Namun aktivitas proteolitik juga membantu meningkatkan daya cerna protein karena pemecahan oleh enzim protease mendegradasi beberapa senyawa antigizi yang terikat dengan protein sehingga bioavailabilitas protein meningkat (Thierry *et al.*, 2013).

Antitripsin merupakan salah satu golongan antigizi yang memiliki bentuk alami sebagai bagian dari protein (Simwaka *et al.*, 2017). Penurunan kandungan protein diduga juga disebabkan penurunan antitripsin dalam sampel selama fermentasi. Hal ini didukung oleh analisis koefisien korelasi *Pearson* yang menyatakan adanya hubungan linier antara penurunan kandungan protein dan antitripsin ($r=0,99$).

Kadar lemak

Hasil analisis untuk kadar lemak biji mentah adalah 36,54% (b.k). Kandungan lemak pada beberapa varietas biji kelor berbeda daerah memang dilaporkan cukup tinggi. Compaore *et al.* (2011) pada biji kelor wilayah Burkina Faso melaporkan kandungan lemak biji kelor dengan kadar air 2,14% mencapai 43,56% (b.b). Kandungan lemak meningkat secara signifikan ($P<0,05$) dengan semakin lamanya waktu fermentasi pada kedua metode. Hasil kedua perlakuan fermentasi tidak berbeda nyata ditunjukkan dengan penotasian yang sama (Tabel 1).

Peningkatan kandungan total lemak selama fermentasi juga dilaporkan beberapa penelitian sebelumnya. Total lemak meningkat diduga karena adanya kenaikan aktivitas lipase menghidrolisis lemak menjadi gliserol dan asam lemak yang selanjutnya digunakan sebagai sintesis lemak baru. Pada fermentasi dengan *Bacillus* sebagai salah satu mikro-

banya, terjadi sintesis vitamin seperti tiamin dan riboflavin serta beberapa asam lemak esensial (Olasupo *et al.*, 2016). Enzim lipase dapat secara alami terdapat dalam biji ataupun lipase yang diproduksi oleh mikroorganisme yang terlibat selama fermentasi. Kenaikan total lemak juga diduga disebabkan aktivitas pemecahan karbohidrat oleh mikroorganisme menjadi asam-asam lemak (Dakare *et al.*, 2011; Mehdizadeh *et al.*, 2015). Hasil serupa juga dinyatakan penelitian fermentasi *African locust bean* oleh Iheke *et al.* (2017). Pada fermentasi dengan penambahan kultur *starter*, kenaikan kadar lemak lebih tinggi daripada fermentasi alami tanpa penambahan inoculum, diduga karena adanya mikroorganisme yang memiliki kemampuan dalam memproduksi *microbial oil* seperti asam oleat, palmitat, linoleat dan stearat (Adegbehingbe *et al.*, 2014). Perendaman menyebabkan terlepasnya ikatan antara kompleks protein-lemak ataupun karbohidrat-lemak karena adanya aktivitas lipolitik, sehingga lemak akan mudah terekstrak dan terukur lebih tinggi (Effiong dan Umoren, 2011; Okorie dan Olasupo, 2013).

Kadar karbohidrat

Karbohidrat terukur sebesar 14,98% (b.k). Berdasarkan hasil uji (Tabel 1), karbohidrat total pada kedua metode fermentasi mengalami penurunan. Fermentasi menurunkan karbohidrat karena adanya peningkatan aktivitas enzim α -amilase yang menghidrolisis pati menjadi golongan gula sederhana. Gula sederhana ini kemudian dimanfaatkan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi (Simwaka *et al.*, 2017). Pada perlakuan fermentasi jam ke-24, karbohidrat total yang terkandung tidak berbeda nyata dengan biji mentah maupun perlakuan jam ke-48, hal ini karena adanya asam-asam organik yang dihasilkan selama fermentasi merupakan komponen *non-volatil* sehingga akan tetap termasuk dalam fraksi karbohidrat dan terhitung sebagai total karbohidrat pada perhitungan *by difference*.

Kadar abu

Kadar abu menurun karena adanya perubahan komposisi kandungan mineral yang terjadi selama fermentasi. Hasil serupa juga dilaporkan pada fermentasi dan *common bean bulgur* (Ertaş dan Türker, 2012). Mineral menurun selama fermentasi karena mengalami *leaching* dari matriks biji melalui proses difusi maupun karena telah digunakan oleh mikroorganisme selama fermentasi. Kehilangan mineral menurunkan kadar abu total (Adegbehingbe *et al.*, 2014).

Kandungan antitripsin

Biji kelor varietas lokal Indonesia mengandung antitripsin sebesar $0,52\pm 0,07$ TI mg/g (Tabel 2), lebih tinggi dibanding biji kelor Mesir (Rayan dan Em-

baby, 2016) sebesar $0,155 \pm 0,02$ TI mg/g. Perlakuan NF24 mengalami penurunan kandungan antitripsin yang signifikan dibandingkan perlakuan UF ($P < 0,05$), namun tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan tepung NF48, SF24 dan SF48. Ertaş dan Türker (2012) melaporkan perendaman biji *common bean bulgur* selama 12 jam mampu menurunkan antitripsin hingga jumlah yang tidak terdeteksi. Perendaman membantu menginaktivasi senyawa antitripsin karena terjadinya *leaching*. Perendaman biji kedelai selama 96 jam dapat menurunkan kandungan antitripsin hingga 35%, namun di sisi lain terjadi penurunan protein karena kehilangan protein larut airnya selama perendaman (Avilés-Gaxiola *et al.*, 2017).

Total tanin

Fermentasi menyebabkan peningkatan total tanin (Tabel 2). Total tanin biji mentah terukur sebesar 131,97 mg/100 g, hampir sama dengan biji kelor Nigeria sebesar 131,67 mg/100 g (Olagbemide dan Philip, 2014) dan lebih rendah dibanding penelitian Ijarotimi *et al.* (2013) yang sebesar 241,67 mg/100 g. Peningkatan terjadi secara signifikan ($P < 0,05$) pada tepung SF48 dengan total tanin sebesar 258,71 mg/100 g. Çabuk *et al.* (2018) juga menyebutkan adanya peningkatan kadar tanin dengan semakin lamanya waktu fermentasi. Solubilisasi tanin selama biji direndam menyebabkan migrasi tanin ke lapisan lebih luar (Osman dan Gasseem 2013). Selama fermentasi mikroba menghasilkan enzim pemecah komponen fenolik menjadi bentuk sederhana. Depolimerisasi komponen fenol menghasilkan senyawa tanin berada dalam bentuk bebasnya sehingga lebih mudah terekstrak dan terukur lebih tinggi (Nazarni *et al.*, 2016).

Daya cerna protein *in-vitro*

Daya cerna protein tepung meningkat secara signifikan ($P < 0,05$) dibandingkan tepung perlakuan UF (Tabel 2). Aktivitas proteolisis mikroba yang menghidrolisis protein menjadi senyawa lebih sederhana seperti peptida dan asam-asam amino meningkatkan ketersediaan dan kelarutan protein

(Pranoto *et al.*, 2013). Peningkatan daya cerna juga terjadi akibat penurunan beberapa senyawa antigizi yang terkandung (Simwaka *et al.*, 2017).

Pada penelitian ini, antigizi yang mengalami penurunan adalah golongan *protease inhibitor* yaitu antitripsin. Analisis koefisien korelasi *Pearson* menyatakan adanya hubungan antara penurunan kandungan antitripsin dengan meningkatnya daya cerna protein ($r = -0,98$). Thierry *et al.* (2013) juga melaporkan penurunan antitripsin yang cukup signifikan pada perendaman biji *common bean bulgur* meningkatkan daya cerna protein *in vitro* dari biji mentah.

Hal ini berbeda dengan keterkaitan antigizi golongan tanin dengan nilai daya cerna protein. Tanin merupakan salah satu komponen biokimia dengan karakteristik yang kompleks (Osman dan Gasseem, 2013). Tanin memiliki sifat reaktif yang tinggi terhadap gugus sulfhidril dan gugus amino dari protein yang menyebabkan terbentuknya ikatan tanin dan protein. Namun interaksi ini bersifat spesifik dan bergantung pada kondisi lingkungan seperti suhu, pH, polaritas, kekuatan ion, ukuran protein, jenis protein, serta jenis, berat molekul dan struktur komponen tanin yang terkandung (Perez-Gregorio *et al.*, 2014). Spesifikasi yang berbeda terkait afinitas dan kekuatan ikatan interaksi antara protein dengan tanin berpengaruh pada perubahan daya cerna protein (Naumann *et al.*, 2017).

Beberapa penelitian menghasilkan data berbeda dan tidak konsisten terkait hubungan penurunan daya cerna dengan besarnya kandungan tanin. Theodoridou *et al.* (2010) mengamati terjadinya penurunan daya cerna protein pada hewan uji yang diberi pakan mengandung tanin. Hasil berbeda ditunjukkan penelitian Jin *et al.* (2012) bahwa tanin dalam *Dalia purpurea* tidak memberikan efek negatif pada pengujian daya cerna *in vivo*-nya. Adapun Osman dan Gasseem (2013) menyebutkan peningkatan kandungan tanin diduga menyebabkan penurunan daya cerna protein pada sorgum germinasi. Hal ini dapat menjadi dasar bahwa kandungan tanin tidak selalu berkaitan erat dengan nilai daya cerna protein dan masih perlu dilakukan penelitian yang lebih luas karena karakteristik tanin yang kompleks.

Tabel 2. Kandungan antitripsin, total tanin dan daya cerna protein *in vitro* tepung biji kelor

Sampel	Antitripsin (TI mg/g)	Total Tanin (mg/100 g)	Daya Cerna Protein <i>In-vitro</i> (%)
UF	$0,52 \pm 0,07^b$	$131,97 \pm 31,45^a$	$71,21 \pm 0,59^a$
NF24	$0,42 \pm 0,03^a$	$159,30 \pm 85,14^{ab}$	$74,19 \pm 0,96^b$
NF48	$0,36 \pm 0,03^a$	$213,36 \pm 85,94^{ab}$	$75,33 \pm 1,13^{bc}$
SF24	$0,42 \pm 0,10^a$	$182,55 \pm 80,34^{ab}$	$74,47 \pm 0,87^{bc}$
SF48	$0,38 \pm 0,06^a$	$258,71 \pm 44,18^d$	$75,73 \pm 0,40^c$

Keterangan: UF= *Unfermented* (Biji kelor mentah); NF= *Natural fermentation* (fermentasi alami 24, 48 jam); SF= *Starter fermentation* (fermentasi starter 24, 48 jam); Notasi (a) untuk nilai paling kecil, (b) lebih besar dan seterusnya. Notasi yang sama menunjukkan tidak adanya beda nyata dengan perlakuan lain dan sebaliknya

Tepung perlakuan terbaik

Metode De Garmo *et al.* (1984) digunakan dalam pemilihan tepung perlakuan terbaik. dan diperoleh nilai total paling tinggi adalah tepung NF48 yang dilanjutkan dengan analisis profil asam amino untuk menentukan mutu biologis proteinnya yang dibandingkan dengan tepung UF dan NF24. Perbandingan dengan NF24 dilakukan dengan tujuan melihat perbedaan komposisi asam amino dan nilai PDCAAS (%) pada waktu fermentasi berbeda.

Mutu biologis protein

Komposisi asam amino tepung UF, NF24 dan NF48 disajikan pada Tabel 3. Asam amino esensial paling tinggi dalam tepung biji kelor mentah varietas Indonesia adalah leusin dan fenilalanin (49,4 dan 48,4 mg/g protein b.b) dengan asam amino yang paling rendah adalah triptofan sebesar 7,3 mg/g protein b.b. Oliveira (1999), Ijarotimi *et al.* (2013) dan Mune *et al.* (2016) melaporkan hasil berbeda dengan lisin sebagai asam amino terendah dari biji kelor mentah. Pada biji kelor Indonesia ini ditemukan adanya kandungan asam amino triptofan yang tidak terdeteksi pada penelitian biji kelor dari Makurdi, Nigeria (Ijarotimi *et al.*, 2013) dan Kamerun, Afrika Tengah (Mune *et al.*, 2016), sedangkan Oliveira (1999) melaporkan kandungan triptofan biji kelor

Ceara, Brazil lebih tinggi daripada kandungan asam amino lisinnya yakni sebesar 1,63 g/16 g N atau setara dengan 16,3 mg/g protein b.b. Perbedaan profil kandungan asam amino ini dapat terjadi karena perbedaan lingkungan tumbuh tanaman kelor yang berkaitan dengan ketersediaan nutrisi yang diserap.

Berdasarkan perhitungan skor kimia asam amino diperoleh asam amino pembatasnya adalah lisin. Oliveira *et al.* (1999), Ijarotimi *et al.* (2013) dan Mune *et al.* (2016) melaporkan lisin sebagai asam amino pembatas dalam biji kelor mentah. Penentuan mutu biologis protein dilakukan dengan mengalikan skor kimia asam amino esensial pembatas dengan nilai daya cerna protein. Nilai PDCAAS biji kelor Indonesia lebih rendah (14,44%) dibandingkan penelitian Mune *et al.* (2016) yakni sebesar 17,28%. Nilai PDCAAS NF24 adalah 17,72% dan NF48 18,31%. Dalam nilai mutlak, PDCAAS tepung perlakuan UF, NF24 dan NF48 berturut-turut adalah sebesar 10,14, 0,17 dan 0,18. Meskipun mutu biologis protein tepung biji kelor mengalami peningkatan setelah diberikan perlakuan fermentasi, namun nilainya masih tergolong rendah karena kisaran nilai mutlak PDCAAS adalah 0-1 atau 0-100 jika dinyatakan dalam persen (%), sehingga perlu dilakukan pengembangan metode fermentasi maupun pengolahan lainnya terhadap biji kelor Indonesia ini.

Tabel 3. Komposisi asam amino tepung biji kelor

Asam Amino	Kandungan (mg/g Protein bb)			FAO/WHO (2007)* (mg/g Protein bb)	Skor Kimia Asam Amino		
	UF	NF24	NF48		UF	NF24	NF48
Isoleusin	29,7	27,5	35,5	28	106	98	127
Leusin	49,4	47,9	57,1	66	75	73	86
Lisin	11,8	13,9	14,1	58	20	24	24
Metionin	21,0	13,6	18,8	-	-	-	-
Sistein	13,3	7,2	9,7	-	-	-	-
Total asam amino sulfur	34,3	20,8	28,5	25	137	84	114
Fenilalanin	48,4	32,7	42,2	-	-	-	-
Tirosin	18,8	10,7	14,2	-	-	-	-
Total asam amino aromatik	67,2	43,4	56,4	63	107	69	90
Treonin	28,5	20,8	26,5	34	84	61	78
Triptofan	7,3	7,2	7,3	11	66	65	66
Valin	32,8	31,5	38,7	35	94	90	111
Histidin	25,0	16,6	21,5	19	131	87	113
Arginin	151,4	115,1	135,9	-	-	-	-
Asam aspartat	27,0	32,0	31,7	-	-	-	-
Serin	33,3	24,8	28,6	-	-	-	-
Asam glutamat	143,1	163,1	169,9	-	-	-	-
Prolin	45,4	44,5	54,1	-	-	-	-
Glisin	49,8	37,3	46,7	-	-	-	-
Alanin	29,6	32,8	35,9	-	-	-	-

Keterangan: UF= *Unfermented* (biji kelor mentah); NF= *Natural fermentation* (fermentasi alami 24, 48 jam); - = tidak ada standar FAO/WHO; **Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation 2007* (kebutuhan asam amino *preschool children*)

KESIMPULAN

Fermentasi menyebabkan perubahan komposisi proksimat tepung biji kelor dan lebih berpengaruh dalam menurunkan antitripsin daripada total tanin. Penurunan kandungan antitripsin berkorelasi dengan penurunan protein kasar dan peningkatan daya cerna protein. Peningkatan total tanin tidak berdampak pada daya cerna protein tepung. Perlakuan terbaik fermentasi alami 48 jam dengan nilai daya cerna protein dan PDCAAS masing-masing sebesar 75,33% dan 0,18 (18,31%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) sebagai penyandang dana yang telah mendukung secara penuh selama masa studi dan penelitian sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Adegbehingbe KT, Adetuyi FC, Akinyosoye FA. 2014. Effect of fermentation on nutrient and anti-nutrient contents of ground-cooked Lima Bean (*Phaseolus lunatus*) seeds using *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus*. *British Microbiol Res J* 4: 1285-1298. DOI: 10.9734/BMRJ/2014/11511.
- Adeoti OA, Osundahunsi OF. 2011. Nutritional characteristics of maize-based complementary food enriched with fermented and germinated *Moringa oleifera* seed flour. *Int J Food Sci* 6: 350-357. DOI: 10.19070/2326-3350-1700062.
- Almeida CC, Monteiro MLG, da Costa-Lima BRC, Alvares TS, Conte-Junior CA. 2015. *In vitro* digestibility of commercial whey protein supplement. *LWT- Food Sci Technol* 61: 7-11. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.11.038.
- Amorim ELC, Nascimento JE, Monteiro JM, Sobrinho TJSP, Araújo TAS, Albuquerque UP. 2008. A simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. *Funct Ecosyst Communities* 2: 88-94.
- Anwar F, Rashid U. 2007. Physico-chemical characteristic of *Moringa oleifera* seeds and seed oil from a wild provenance of Pakistan. *Pak J Bot* 39: 1443-1453.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2012. Official methods of analysis of the association of analytical chemist. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Avilés-Gaxiola S, Chuck-Hernández C, Saldívar SOS. 2017. Inactivation methods of trypsin inhibitor in legumes: a review. *J Food Sci* 83: 17-29. DOI: 10.1111/1750-3841.13985.
- Barakat H, Ghazal GA. 2016. Physicochemical properties of *Moringa oleifera* seeds and their edible oil cultivated at different regions in Egypt. *Food Nutr Sci* 7: 472-484. DOI: 10.4236/fns.2016.76049.
- Çabuk B, Nosworthy MG, Stone AK, Korber DR, Tanaka T, House JD, Nickerson MT. 2018. Effect of fermentation on the protein digestibility and levels of non-nutritive compounds of pea protein concentrate. *Food Technol Biotech* 56: 257-264. DOI: 10.17113/ftb.56.02.18.5450.
- Compaore WR, Nikiema PA, Bassole HIN, Savadogo A, Mouecoucou J, Hounhouigan D, Traore SS. 2011. Chemical composition and antioxidative properties of seeds of *Moringa oleifera* and pulps of *Parkia biglobosa* and *Adansonia digitata* commonly used in food fortification in Burkina Faso. *Curr Res J Bio Sci* 3: 64-72.
- Dakare MA, Ameh DA, Agbaji AS. 2011. Biochemical assessment of "Daddawa" food seasoning produced by fermentation of pawpaw (*Carica papaya*) seeds. *Pakistan J Nutr* 10: 220-223. DOI: 10.3923/pjn.2011.220.223.
- Darmawan MR, Andreas P, Jos B, Sumardiono S. 2013. Modifikasi ubi kayu dengan proses fermentasi menggunakan starter *Lactobacillus casei* untuk produk pangan. *J Teknol Kimia Industri* 2: 137-145.
- De Garmo EP, Sullivan WG, Canada JR. 1984. *Engineering Economy*. Seventh Edition. Macmillan Pub. Co, New York.
- Effiong OO, Umoren UE. 2011. Effects of multiprocessing techniques on the chemical composition of horse eye beans (*Mucuna urens*). *Asian J Anim Sci* 5: 340-248. DOI: 10.3923/ajas.2011.340.348.
- Ertaş N, Türker S. 2012. The role of soaking process on mineral HCl-extractibilities, phytic acid content and trypsin inhibitor activity of common bean bulgur. *Food Sci Technol Res* 18: 445-453. DOI: 10.3136/fstr.18.445.

- Hsu HW, Sutton NE, Banjo MO, Satterlee LD, Kendrick JG. 1977. The C-PER and T-PER assays for protein quality. *Food Technol* 32: 69-73.
- Iheke E, Oshodi A, Omoboye A, Ogunlalu O. 2017. Effect of fermentation on the physicochemical properties and nutritionally valuable minerals of locust bean (*Parkia biglobosa*). *Am J Food Technol* 12: 379-384. DOI: 10.3923/ajft.2017.379.384.
- Ijarotimi OS, Adeoti OA, Ariyo O. 2013. A comparative study on nutrient composition, phytochemical and functional characteristic of raw, germinated and fermented *Moringa Oleifera* seed flour. *Food Sci Nutr* 1: 452-463. DOI: 10.1002/fsn3.70.
- Jin L, Wang Y, Iwaasa AD, Xu Z, Schellenberg MP, Zhang YG, Liu XL, McAllister TA. 2012. Effect of condensed tannins on ruminal degradability of purple prairie clover (*Dalea purpurea* Vent.) harvested at two growth stages. *Anim Feed Sci Tech* 176: 17-25. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2012.07.003.
- Kakade ML, Rackis JJ, McGhee JE, Puski G. 1974. Determination of trypsin inhibitor activity of soy products: a collaborative analysis of an improved procedure. *Cereal Chem* 51: 377-382.
- Li Y, Peng X, Chen H. 2013. Comparative characterization of proteins secreted by *Neurospora sitophila* in solid-state and submerged fermentation. *J Biosci Bioeng* 116: 493-498. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2013.04.001.
- Mehdidazeh S, Lasekan O, Muhammad K, Baharin B. 2015. Variability in the fermentation index, polyphenols and amino acids of 4 seeds of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) during fermentation. *J Food Compos Anal* 37: 128-135. DOI: 10.1016/j.jfca.2014.06.017.
- Mune MAM, Nyobe EC, Bassogog CB dan Minka SR. 2016. A comparison on the nutritional quality of proteins from *Moringa oleifera* leaves and seeds. *Cogent Food Agric* 2: 1-8. DOI: 10.1080/23311932.2016.1213618.
- Naumann HD, Tedeschi LO, Zeller WE dan Huntley NF. 2017. The role of condensed tannins in ruminant animal production: advanced, limitations and future directions. *R Bras Zootec* 46: 929-949. DOI: 10.1590/s1806-9290201700120009.
- Nazarni R, Purnama D, Umar S, Eni H. 2016. The effect of fermentation on total phenolic, flavonoid and tannin content and its relation to antibacterial activity in jaruk tigarun (*Crataeva nurvala*, Buch HAM). *Int Food Res J* 23: 309-315.
- Okorie CP, Olasupo NA. 2013. Controlled fermentation and preservation of UGBA an indigenous Nigerian fermented food. *SpringerPlus* 2:1-9. DOI: 10.1186/2193-1801-2-470.
- Olagbemide PT, Philip CNA. 2014. Proximate analysis and chemical composition of raw and defatted *Moringa oleifera* kernel. *Adv in Life Sci Technol* 24: 92-98.
- Olasupo NA, Okorie CP, Oguntoyinbo FA. 2016. The biotechnology of ugba, a Nigerian traditional fermented food condiment. *Front Microbiol* 7: 1-10. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01153.
- Oliveira JTA, Silveira SB, Vasconcelos IM, Cavada BS, Moreira RA. 1999. Compositional and nutritional attributes of seeds from the multiple purpose tree *Moringa oleifera* Lamarck. *J Sci Food Agr* 79: 815-820. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0010(19990501)79:6<815::AID-JSFA290>3.0.CO;2-P.
- Oloyede OO, James S, Ocheme OB, Chinma CE, Akpa VE. 2016. Effects of fermentation time on the functional and pasting properties of defatted *Moringa oleifera* seed flour. *Food Sci and Nutr* 4: 89-95. DOI: 10.1002/fsn3.262.
- Osman MA, Gassem M. 2013. Effects of domestic processing on *trypsin inhibitor*, phytic acid, tannins and *in vitro* protein digestibility of three sorghum varieties. *Int J Agric Technol* 9: 1189-1198.
- Perez-Gregorio MR, Mateus N de Freitas V. 2014. Rapid screening and identification of new soluble tannin-salivary protein aggregates in Saliva by mass spectrometry (MALDI-TOF-TOF and FIA-ESI-MS). *Langmuir* 30: 8528-8537. DOI: 10.1021/la502184f.
- Pranoto Y, Anggrahini S, Efendi Z. 2013. Effect of natural and *Lactobacillus plantarum* fermentation on *in vitro* protein and starch digestibilities of sorghum flour. *Food Biosci* 2: 46-52. DOI: 10.1016/j.fbio.2013.04.001.

- Rayan AM, Embaby HE. 2016. Effects of dehulling, soaking, and cooking on the nutritional quality of *Moringa oleifera* seeds. *J Agroaliment Process Technol* 22: 156-165.
- Simwaka JE, Chamba MVM, Huiming Z, Masamba KG dan Luo Y. 2017. Effect of fermentation on physicochemical and antinutritional factors of complementary foods from millet, sorghum, pumpkin and amaranth seed flours. *Int Food Res J* 24: 1869-1879.
- Theodoridou K, Aufrère J, Andueza D, Pourrat J, Le Morvan A, Stringano E, Mueller-Harvey I, Baumont R. 2010. Effects of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on in vivo and in situ digestion in sheep. *Anim Feed Sci Technol* 160: 23-38. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2010.06.007.
- Thierry NN, Leopold TN, Didier M, Moses FMC. 2013. Effect of pure culture fermentation on biochemical composition of *Moringa oleifera* lam leaves powders. *Food Nutr Sci* 4: 851-859. DOI: 10.4236/fns.2013.48111.