

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. Tumbuhan Kacang Koro Benguk (*Mucuna pruriens*, DC)

2. 1. 1. Tinjauan Umum

Penduduk mengenal biji *Mucuna pruriens*, DC sebagai kacang koro benguk. Kacang koro benguk merupakan semak membelit berumur satu tahun dengan panjang 2-10 meter. Anak daun bulat telur atau belah ketupat dengan pangkal tumpul, dengan ujung dari kedua tulang daun. Kedua belah sisi berambut abu-abu. Tandan bunga menggantung duduk di ketiak. Tabung kelopak berbentuk lonceng dengan tinggi kurang lebih 6 mm. Gigi bawah lebih panjang 2-2,5 cm pada pangkal dengan telinga yang terlipat. Panjang sayap 3,5-4 cm. Tunas mempunyai panjang 3,5-4,5 cm dengan paruh yang keras. Benang sari gundul berselang seling panjang dan pendek. Polongan tebal mempunyai panjang 5-10 cm, tanpa sayap dengan 4 rusuk pada tiap kedua katup, rusuk membujur, dua darinya berada di tepi, berbiji 4-7 buah. Kelopak dan polongan mempunyai rambut gatal (miang), coklat, panjang kaku, yang menyebabkan rasa gatal sekali, karena dengan ujungnya yang berbentuk jarum lancip menyebabkan iritasi pada kulit^[9].

Taksonomi tanaman ini adalah sebagai berikut :

Divisio : Spermatophyta

Sub Divisio: Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Rosales

Famili : Leguminoceae papilionaceae

Genus : Mucuna

Spesies : Mucuna pruriens

Kacang koro benguk biasanya berbunga dan berbuah pada bulan Desember-Juli dan dapat tumbuh atau ditanam pada ketinggian 1700 m dari permukaan air laut. Tanaman ini biasanya ditanam di pekarangan sebagai tanaman pagar maupun ditanam di tegal sebagai tanaman sela. Tanaman ini tidak membutuhkan pemeliharaan khusus dan dapat bertahan di daerah yang kering atau tanah yang kurang subur. Daerah yang dikenal sebagai penghasil biji koro benguk adalah Wonogiri, Gunung Kidul, dan Kulon Progo^[6].

Ada beberapa spesies koro benguk yang dibedakan dari warna kulit bijinya yaitu putih, putih kusam blirik, dan hitam. Keempat macam varietas tersebut menghasilkan produksi biji dan umur panen yang berbeda, seperti yang disajikan pada Tabel II. 1^[10]

Tabel II. 1. Umur Panen dan Biji Kering Koro Benguk

Jenis Koro Benguk	Umur (hari)	Produksi Biji (ton/Ha)
Varietas Putih	125	2,97
Varietas Blirik	125	2,71
Varietas putih Kusam	140	2,37
Varietas Hitam	150	2,54

2. 1. 2. Kegunaan Kacang Koro Benguk^[10]

Tanaman koro benguk dapat menyuburkan tanah karena dapat menfiksasi nitrogen dan merupakan tanaman penutup tanah yang baik serta mempunyai perakaran yang dalam sehingga dapat menyerap unsur hara yang melindungi dari bahaya erosi.

Koro benguk merupakan tanaman multiguna yaitu sebagai penghasil bahan pangan karena biji koro benguk dapat diolah menjadi produk bahan pangan yang aman seperti tempe dan kecap, tahu dan tepung sebagai bahan pembuat kue-kue. Manfaat lainnya yang tidak kalah penting adalah merupakan bahan pakan yang potensial bagi ternak sapi potong dan sapi perah.

2. 1. 3. Kandungan Gizi Koro Benguk

Biji koro benguk mengandung protein yang cukup tinggi. Meskipun kandungan proteinnya lebih rendah dibandingkan dengan kedelai, tetapi kandungan karbohidrat dan seratnya lebih tinggi. Selain itu koro benguk mempunyai kandungan lemak yang rendah dibandingkan dengan kedelai sehingga koro benguk dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan yang aman^[10]. Perbandingan kandungan gizi koro benguk dan kedelai serta produk tempenya disajikan pada Tabel II. 2.

Tabel II. 2. Kandungan Kimiawi kedelai, koro benguk, tempe kedelai, dan tempe benguk (% berat kering).

Kacang-kacangan	Protein	Lemak	Karbohidrat	Serat	Abu
Kedelai					
- Biji	46,3	19,1	28,5	3,7	6,3
- Tempe	45,9	18,3	32,8	5,9	2,8
Koro Benguk					
- Biji	33,8	7,3	50,1	7,3	3,4
- Tempe	31,5	4,3	58,1	9,1	3,0

Sumber : Handayani et. al., 1995, Mien K. M., 1990

Walaupun mempunyai kandungan protein yang cukup tinggi, tetapi pemanfaatannya sebagai bahan pangan belum memasyarakat. Hal ini disebabkan biji yang terlalu keras, sehingga pengolahannya memerlukan waktu yang lama. Selain itu kandungan HCN dalam koro benguk juga mempengaruhi sulitnya pengolahan. Dosis HCN yang mematikan bagi manusia adalah 1,0–7,0 mg/Kg berat badan. Sedangkan untuk ternak adalah 0,5-3,5 mg/Kg berat badan^[10].

Untuk menghilangkan racun HCN dari koro benguk dan untuk mempercepat proses pengolahannya dilakukan perendaman dalam air selama 3 × 24 jam (air diganti tiap 4 jam). Dengan perendaman ini kandungan HCN dalam koro benguk akan menurun dan tempe benguk tidak lagi mengandung HCN sehingga aman dikonsumsi. Kandungan HCN dalam koro benguk dan tempe benguk disajikan pada Tabel II. 3.

**Tabel II. 3. Kandungan HCN dalam Koro Benguk dan Tempe Benguk
(% berat kering)**

Perlakuan	Koro Benguk	Setelah dikuliti	Tempe Benguk
Sebelum perendaman	11,050	10,070	
Setelah perendaman			
- 1 × 24 jam	9,922	5,568	
- 2 × 24 jam	2,348	1,452	
- 3 × 24 jam	0,310	0,265	0,000

Sumber : Handayani et. al., 1995; Hardiman, 1987; Mien, 1990

Kandungan gizi koro benguk setelah dilakukan perendaman mengalami perubahan yang disajikan pada tabel II. 4.^[10]

Tabel II. 4. Kandungan gizi koro benguk sebelum dan sesudah perendaman

Kandungan Gizi	Sebelum direndam (%)	Sesudah direndam (%)
Air	11,04	13,51
Protein kasar	23,31	23,98
Serat kasar	5,36	6,00
Abu	3,22	3,07
Lemak	3,68	3,43
Bahan Ekstrak Tanpa N	53,39	50,01

2. 1. 4. Tempe Benguk

Tempe adalah salah satu makanan tradisional Indonesia yang dibuat dari kedelai melalui proses fermentasi kapang, terutama oleh *Rhizopus oligosporus*^[1]. Di Indonesia terdapat beberapa jenis tempe tergantung bahan baku yang

digunakan. Salah satunya adalah tempe bengkuk yang terbuat dari bahan kacang koro bengkuk.

Pembuatan tempe koro bengkuk (tempe bengkuk) di beberapa daerah tertentu telah lazim dilakukan, namun masih dimanfaatkan hanya untuk kepentingan pribadi, atau merupakan usaha keluarga secara kecil-kecilan.

2. 2. Perubahan Kimiawi Selama Fermentasi Tempe Bengkuk^[11]

Perubahan selama fermentasi akibat adanya degradasi beberapa polimer mengakibatkan naiknya kandungan bahan padat terlarut.

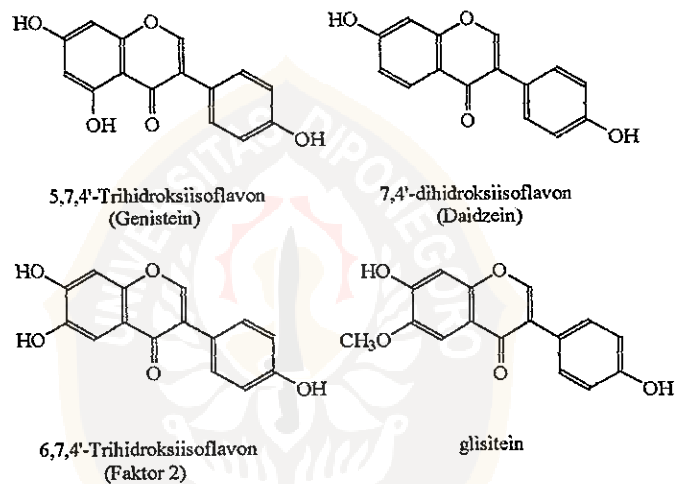
Kadar nitrogen total relatif konstan selama fermentasi, tetapi kadar nitrogen terlarutnya naik dari 0,5 % menjadi 2,5 %. Kandungan beberapa asam amino mengalami kenaikan dan beberapa yang lain mengalami penurunan. Lisin dan metionin turun sampai 25 % dan 10 % setelah fermentasi 60 jam. Sedangkan kandungan triptofan dan alanin naik 20 %. Asam amino bebas naik selama fermentasi. Peristiwa deaminasi senyawa protein dapat mengakibatkan naiknya pH. Selama fermentasi pH dapat naik dari 5 menjadi di atas 7 dan adanya ammonia bebas dapat dideteksi pada tempe dengan waktu fermentasi berlebih. Sedangkan kandungan gula mengalami penurunan yang cepat.

Asam-asam lemak terutama asam linoleat, asam palmitat, asam stearat dan asam oleat, akan dibebaskan selama fermentasi. Jamur yang berperan dalam fermentasi tempe mempunyai aktivitas lipolitik yang kuat dan dapat menghidrolisa lebih dari sepertiga lemak netral setelah fermentasi 72 jam pada 37 °C

2. 3. Kandungan Senyawa Aktif Tempe Bungkus

Berbagai penelitian melaporkan bahwa tempe mengandung senyawa antibakteri^[2], senyawa antioksidan^[4, 5], antihemolitik^[5], antikanker^[6, 11], vitamin B kompleks^[12], dan sebagainya. Diantara senyawa komponen tersebut, isoflavon merupakan senyawa yang banyak disebut sebagai senyawa aktif dan mempunyai manfaat dalam kesehatan dan pengobatan.

Senyawa isoflavon yang terkandung dalam tempe bungkuk diperkirakan sama dengan tempe kedelai yaitu : genistein, daidzein, glisitein, dan Faktor 2^[13].



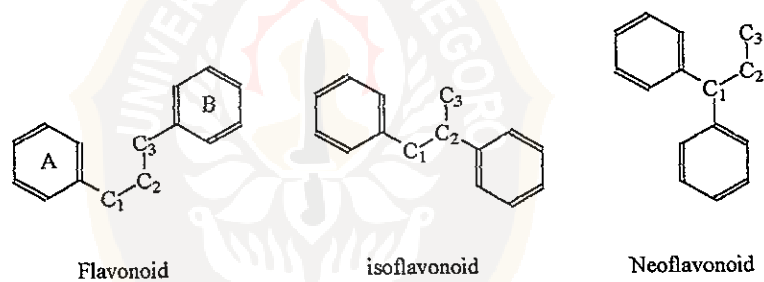
Gambar 2. 1. Struktur senyawa isoflavon bebas.

Isoflavon tempe merupakan isoflavon aktif. Senyawa ini terbentuk karena adanya transformasi selama proses fermentasi kapang. Sebelum fermentasi, senyawa isoflavon berada dalam bentuk konjugasi dengan senyawa gula melalui ikatan O-glikosidik. Selama proses fermentasi, ikatan O-glikosidik terhidrolisa sehingga dibebaskan senyawa gula dan aglikon bebas isoflavon. Aglikon bebas isoflavon dapat mengalami transformasi lebih lanjut membentuk senyawa aktif,

2. 4. Senyawa Flavonoid

2. 4. 1. Tinjauan Umum^[14]

Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini, bukanlah disebabkan karena banyaknya variasi struktur, akan tetapi lebih disebabkan oleh berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi, atau glikosidasi dari struktur tersebut. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, di mana dua cincin benzena (C6) terikat pada suatu rantai propan (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni 1,3-diarilpropan atau flavonoid, 1,2-diarilpropan atau isoflavonoid, dan 1,1-diarilpropan atau neo-flavonoid.

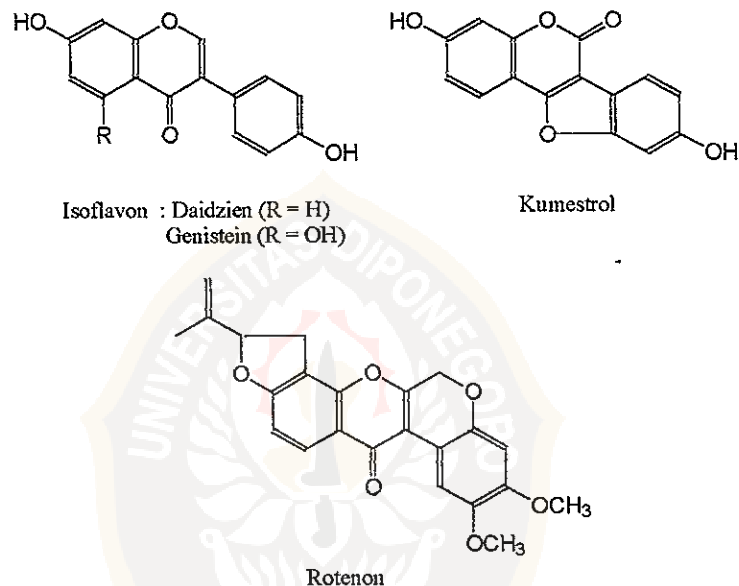


Gambar 2. 2. Struktur-struktur senyawa flavonoid

2. 4. 2. Senyawa isoflavon

Isoflavon merupakan senyawa flavonoid minor. Disebut demikian karena penyebarannya terbatas. Isoflavon yang telah dikenal lebih dari 200 senyawa, merupakan isomer flavon, tetapi terdapat jauh lebih langka. Hampir semuanya terdapat dalam anak suku *Leguminaceae*. Isoflavonoid dapat dipilih menjadi tiga kelas berdasarkan sifat fisiologisnya. Senyawa seperti 7, 4'-dihidroksiisoflavon

(daidzein) dan 5, 7, 4'-trihidroksisoflavon (genistein) merupakan estrogen alam lemah. Isoflavon rumit, misalnya rotenon, merupakan insektisida alam kuat, sementara kumestan yang sekerabat misalnya pisatin, adalah fitoaleksin, yaitu senyawa pelindung yang terbentuk dalam tumbuhan sebagai tanggapan terhadap serangan penyakit⁽⁸⁾. Selain itu beberapa senyawa isoflavon juga mempunyai aktivitas antifungi, juga sebagai insektisida⁽¹⁵⁾.



Gambar 2. 3. Struktur beberapa senyawa isoflavon

2. 5. Metode Ekstraksi⁽⁸⁾

Prosedur klasik untuk memperoleh kandungan senyawa organik dari jaringan tumbuhan kering (galih, biji kering, akar, daun) ialah dengan mengekstraksi sinambung serbuk bahan dengan Soxhlet dengan menggunakan sederetan pelarut secara berganti-ganti mulai dengan eter minyak bumi, dan kloroform (untuk memisahkan lipid). Kemudian digunakan alkohol (untuk memisahkan senyawa yang

lebih polar). Ekstrak yang diperoleh dijernihkan dengan penyaringan menggunakan celite dan pompa air, lalu dipekatkan dalam hampa. Sekarang hal ini biasanya dilakukan dalam penguap putar yang akan memekatkan larutan menjadi volume kecil tanpa terjadi percikan. Ekstrak yang pekat mungkin mengkristal bila dibiarkan. Bila hal ini terjadi, ekstrak harus disaring dan keseragamannya diuji dengan kromatografi dengan menggunakan beberapa pengembang.

2. 6. Metode Pemisahan

Pemisahan dan pemurnian kandungan tumbuhan dilakukan dengan menggunakan beberapa teknik kromatografi. Pemilihan teknik kromatografi sebagian besar tergantung pada sifat kelarutan senyawa yang akan dipisahkan. Beberapa teknik kromatografi tersebut adalah :

a. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit. KLT terutama berguna untuk tujuan mencari pelarut untuk Kromatografi Kolom, analisis fraksi yang diperoleh dari Kromatografi Kolom, identifikasi senyawa secara ko-kromatografi, dan pemisahan senyawa murni skala kecil. Di samping selulosa, sejumlah penjerap yang berbeda-beda dapat disaputkan pada pelat kaca atau penyangga lainnya dan digunakan untuk kromatografi^[16]. Walaupun silika gel yang paling banyak digunakan, lapisan dapat pula dibuat dari aluminium oksida, kalsium hidroksida, damar penukar ion, magnesium fosfat, poliamida, sephadex, selulosa, dan campuran dua bahan di atas atau lebih. Pelarut yang dipilih untuk pengembang disesuaikan dengan sifat

kelarutan senyawa yang dianalisa. Data yang diperoleh dari KLT adalah bilangan R_f yang didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh garis depan pengembang (diukur dari garis awal). Karena itu, bilangan R_f selalu lebih kecil dari 1,^[8].

b. Kromatografi Kolom^[16]

Pada dasarnya, cara ini meliputi penempatan senyawa sampel di atas kolom yang berisi serbuk penjerap (seperti selulosa, silika, atau poliamida), dilanjutkan dengan elusi beruntun setiap komponen memakai pelarut yang cocok. Kolom hanya berupa tabung kaca yang dilengkapi dengan keran pada salah satu ujungnya. Pelarut yang paling cocok untuk memisahkan komponen-komponen dalam suatu sampel sebagian besar harus ditentukan melalui percobaan. Metode yang paling sederhana ialah dengan menyelidiki kemungkinannya melalui cara kromatografi lapis tipis. Pita yang memisah dalam kolom mungkin tampak kuning atau dapat dideteksi dengan sinar ultraviolet (366 nm). Dalam hal ini, cara yang sederhana ialah dengan mengumpulkan setiap pita dalam wadah yang terpisah. Tetapi jika pita tidak kelihatan, semua fraksi harus ditampung pada selang waktu yang teratur (misalnya tiap 20 atau 50 mL), dan kemudian setiap fraksi dianalisis secara KLT untuk menentukan fraksi mana yang dapat digabung.

Beberapa hal yang mempengaruhi pemisahan oleh Kromatografi Kolom adalah sebagai berikut :

- a. Penjerap yang digunakan
- b. Kepolaran kolom atau pelarut

- c. Ukuran kolom (panjang dan diameternya)
- d. Kecepatan elusi¹⁷⁾

2. 7. Metode Identifikasi

Pada identifikasi suatu kandungan tumbuhan, setelah kandungan dipisahkan dan dimurnikan, pertama-tama harus kita tentukan dahulu golongannya, kemudian barulah ditentukan jenis senyawa dalam golongan tersebut. Golongan senyawa biasanya dapat ditentukan dengan uji warna, penentuan kelarutan, bilangan R_f , dan ciri spektrum ultraviolet. Identifikasi lengkap dalam golongan senyawa bergantung pada pengukuran sifat atau ciri, yang kemudian dibandingkan dengan data dalam pustaka. Sifat yang diukur termasuk titik leleh (untuk senyawa padat), titik didih (untuk cairan), putaran optik (untuk senyawa aktif optik), dan R_f (pada kondisi baku), Tetapi, data mengenai senyawa tumbuhan yang sama ialah ciri spektrumnya, termasuk pengukuran spektrum ultraviolet, inframerah, dan spektrum massa.

2. 7. 1. Uji Warna

Klasifikasi flavonoid dapat didasarkan pada perbedaan reaksi warna dengan zat tertentu. Flavonoid merupakan senyawa fenolat yang mudah dideteksi dengan pereaksi $FeCl_3$ 10 % yang memberikan warna coklat, ungu, biru, atau hitam¹⁸⁾, tetapi reaksi ini tidak spesifik sehingga tidak dapat digunakan untuk membedakan masing-masing golongan. Metode yang sering digunakan untuk membedakan masing-masing golongan ialah deteksi dengan uap ammonia. Timbulnya warna biru terang dan lembayung pada plat KLT dengan sinar ultraviolet 366 nm

warna lainnya adalah penyemprotan dengan AlCl_3 5 %. Timbulnya warna kuning flouresen menunjukkan adanya flavonoid¹⁸⁾.

2. 7. 2. Spektroskopi Ultraviolet–Tampak

Spektroskopi Ultraviolet–Tampak merupakan cara yang paling berguna untuk menganalisis struktur flavonoid. Keuntungan utama metode analisis ini adalah sangat sedikit cuplikan yang diperlukan dalam serangkaian analisis lengkap.

Pelarut yang biasa dipakai adalah metanol. Untuk membantu menentukan jenis flavonoid, pola oksigenasi, dan letak gugus hidroksil pada flavonoid aglikon dilakukan penambahan pereaksi geser. Keragaman rentang serapan maksimum yang dihasilkan bergantung pada pola hidroksil dan substitusi dari senyawa. Spektrum khas isoflavon terdiri dari dua puncak pada rentang 245-275 nm dan 310-330 nm.

Pereaksi geser yang biasa ditambahkan yaitu natrium metoksida (NaOMe) yang dapat diganti dengan NaOH 2 M menyebabkan pergeseran panjang gelombang yang menunjukkan adanya 5-OH pada cincin A dan atau 4'-OH pada cincin B. Aluminium klorida (AlCl_3) mendeteksi adanya gugus 5-OH dan atau orto-hidroksil pada cincin A. Natrium asetat (NaOAc) mendeteksi adanya gugus 7-OH¹⁹⁾.