

KOMPOSISI ZAT GIZI TEMPE YANG DIFORTIFIKASI ZAT BESI DAN VITAMIN A PADA TEMPE MENTAH DAN MATANG

Nutritional Composition of Soyben Tempeh Fortified with Iron and Vitamin A on Uncook and Cook Soyben Tempeh

Rahayu Astuti¹, Siti Aminah², Agustin Syamsianah³

¹Program Studi Kesehatan Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Muhammadiyah Semarang, Jl. Kedungmundu Raya No. 18 Semarang 50272

²Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Jl. Kedungmundu Raya No. 22 Semarang 50272

³Program Studi Gizi, Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang, Jl. Kedungmundu Raya No. 22 Semarang 50272
Email: tutiaifa3@gmail.com

ABSTRAK

Anemia merupakan salah satu masalah gizi paling umum pada negara berkembang, termasuk Indonesia. Fortifikasi makanan merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan diantara berbagai solusi perbaikan gizi, dan salah satu alternatif bahan pangan yang dapat difortifikasi adalah tempe kedele. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis komposisi zat gizi tempe yang difortifikasi zat besi dan vitamin A pada tempe mentah maupun matang (dibacem). Perlakuan yang digunakan berturut-turut diberi zat besi (FeSO_4) 90, 110, 130 dan 150 mg/kg kedele basah, serta vitamin A masing-masing perlakuan 12 mg/kg kedele basah, kontrol adalah tempe tanpa fortifikasi. Analisis statistik menggunakan Anova, uji Kruskal Wallis, uji *t independent* dan uji *Mann Whitney*. Hasil menunjukkan tidak ada perbedaan kadar protein, lemak, kadar air, abu, karbohidrat, vitamin A, tembaga dan seng ($p > 0,05$) berdasarkan perlakuan baik pada tempe mentah maupun masak. Pada tempe mentah, meningkatnya kadar zat besi perlakuan meningkatkan kadar zat besi tempe fortifikasi meskipun tidak signifikan. Kadar protein dan lemak menurun secara bermakna setelah diolah (dibacem) ($p < 0,05$). Kadar abu dan kadar karbohidrat meningkat secara bermakna ($p < 0,05$) setelah diolah (dibacem). Kadar vitamin A, zat besi (Fe), tembaga (Cu) dan seng (Zn) setelah dimasak (dibacem) tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

Kata kunci: Tempe terfortifikasi, zat besi, vitamin A, komposisi zat gizi

ABSTRACT

Anemia is one of the most common nutritional problems in developing countries, including Indonesia. Food fortification is one of the efforts to be made among the various solutions to improve nutrition, and one of alternative enables food to be fortified was soybean tempeh. The aim of this study was to analyze nutritional composition of soyben tempeh fortified with iron and vitamin A on both uncook and cook soybean tempeh. The treatment was used in succession given iron (FeSO_4) 90, 110, 130 and 150 mg/kg wet soybeans, and vitamin A each treatment 12 mg/kg wet soybeans, and control in this study was tempeh without fortification. Statistical analysis with anova, Kruskal Wallis test, independent t test and Mann Whitney test. Result showed no differences in levels of protein, fat, moisture, ash, carbohydrate, vitamin A, Cu and Zn ($p > 0,05$) based treatment, both uncook and cooked tempeh. In uncook tempeh, increasing iron treatment was increasing iron level soyben tempeh fortified unless there was not significant. Protein and fat content decreased significant ($p < 0,05$) after cooked (dibacem). Ash and carbohydrate content increased significant ($p < 0,05$) after cooked (dibacem). Vitamin A, iron (Fe), copper (Cu) and zinc (Zn) content after cooked were not difference significantly.

Keywords: Fortified soybean tempeh, iron, vitamin A, nutritional composition.

PENDAHULUAN

Anemia adalah salah satu dari masalah gizi paling umum di dunia, termasuk pada negara berkembang. Temuan beberapa penelitian di Indonesia menunjukkan prevalensi anemia pada remaja juga tinggi (26,1% - 42,6%). Data World Health Organization (WHO) (2007) menyebutkan prevalensi anemia remaja putri di Indonesia sebesar 54%. Jika dalam suatu wilayah ditemukan prevalensi anemia >40% maka terdapat masalah kesehatan masyarakat tingkat berat (WHO, 2001). Survei anemia di Jawa Tengah, yaitu pada remaja putri (usia 13-18 tahun) di Kecamatan Gebog Kabupaten Kudus prevalensi anemia remaja putri sebesar 36,8% (Farida, 2006). Dengan demikian perlu dilakukan terobosan teknologi yang murah, memberikan dampak nyata, diterima oleh masyarakat dan berkelanjutan. Salah satu solusi perbaikan gizi, adalah fortifikasi makanan. Berdasarkan perhitungan oleh WHO (2006), fortifikasi merupakan program perbaikan gizi yang paling "murah biaya" diantara berbagai program kesehatan. Menurut WHO (2001) terdapat kesepakatan bahwa fortifikasi makanan adalah pendekatan jangka panjang yang efektif untuk meningkatkan status besi populasi.

Tempe memungkinkan sebagai alternatif makanan untuk difortifikasi dengan zat besi, karena tempe sebagai sumber protein, sedangkan protein dan zat besi diperlukan dalam pembentukan kadar hemoglobin. Menurut Astuti (1996), protein tempe tergolong mudah dicerna sehingga protein dapat digunakan untuk membentuk hemoglobin bersama dengan besi atau senyawa lain. Proses pembentukan hemoglobin dalam sumsum tulang belakang juga memerlukan vitamin B₁₂, asam folat, protein, zat besi, Cu dan Zn, yang semuanya terdapat dalam tempe (Adnan dan Sudarmadji, 1997). Meskipun dalam tempe terdapat zat besi, namun penambahan atau fortifikasi zat besi pada tempe dalam penelitian ini dilakukan agar meningkatkan kadar zat besi tempe dalam upaya program penanggulangan anemia defisiensi besi khususnya pada remaja di daerah pedesaan. Pengertian fortifikasi adalah penambahan satu atau lebih mikronutrien pada pangan tertentu, untuk meningkatkan intake mikronutrien dalam rangka mencegah defisiensi dan meningkatkan kesehatan (WHO, 2006 dan Hurrell & Egli, 2007).

Tempe merupakan sumber protein yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia terutama di pedesaan sebagai makanan sehari-hari untuk lauk (Hardinsyah dkk., 2008). Pengolahan dengan cara dibacem dipilih karena dengan pengolahan tersebut bumbu lebih terserap masuk ke dalam tempe dibanding dengan cara dikukus, sehingga rasa lebih enak. Efek terlarutnya zat besi dan vitamin A dengan pengolahan dikaji dalam penelitian ini, dengan mengukur kadar zat besi dan vitamin A pada tempe sebelum dan setelah diolah. Efek pengolahan dengan cara dikukus pada tempe

(tanpa fortifikasi) telah diteliti oleh Utari (2010), dimana diteliti kandungan lemak, asam lemak serta Cu dan Zn.

Fortifikasi yang dilakukan adalah penambahan zat besi dan vitamin A karena berbagai penelitian menunjukkan bahwa pada anemia defisiensi besi, juga ditemukan defisiensi vitamin A. Hasil penelitian di Jawa Timur, bayi dan ibunya dengan serum retinol <0,7 µmol/L mempunyai risiko 2,4 kali menjadi anemia defisiensi besi (Dijkhuizen dkk., 2001). Suplementasi besi dengan vitamin A pada wanita hamil di Indonesia meningkatkan kadar hemoglobin sekitar 10 g/l lebih tinggi dibanding suplementasi besi saja (Suharno dkk., 1993).

Efek penambahan zat besi dan vitamin A dalam penelitian ini dikaitkan dengan komposisi zat gizi. Menurut Raharjo (2004), zat besi dapat menginisiasi terjadinya peroksidasi lemak dan juga oksidasi protein. Logam Fe dapat menginduksi terjadinya peroksidasi lemak, terutama pada rantai asal lemak tidak jenuh ganda (PUFA). Lemak mengalami oksidasi ini akan menjalani reaksi lanjutan secara berantai membentuk produk radikal bebas seperti radikal alkil, radikal alkoksil, radikal peroksil, dan hidroperoksida. Peningkatan jumlah radikal ini akan mengakibatkan terjadinya dekomposisi asam lemak tidak jenuh menjadi lipid peroksida yang sangat tidak stabil. Oksidasi protein adalah modifikasi kovalen dari protein yang diinduksi baik secara langsung oleh spesies oksigen reaktif atau tidak langsung melalui reaksi dengan produk sekunder dari stres oksidatif (Shacter, 2000).

Pemberian tempe fortifikasi kepada sasaran yaitu remaja anemia defisiensi besi dilakukan setelah tempe diolah, dalam hal ini dimasak dengan cara dibacem. Faktor pemasakan pada tempe fortifikasi tentunya akan berpengaruh terhadap kadar zat gizinya. Sebelum dilakukan intervensi kepada sasaran, maka perlu diketahui zat gizi pada tempe fortifikasi sebelum dilakukan pemasakan (tempe mentah) dan setelah pemasakan (tempe matang), dengan demikian perlu diteliti komposisi zat gizi pada tempe yang difortifikasi zat besi dan vitamin A baik pada tempe mentah maupun matang.

Beberapa penelitian tentang fortifikasi Fe pada beberapa bahan pangan telah dilakukan seperti pada garam (Soeid, 2006), bahan sumber karbohidrat beras (Ebuchi dan Oduwale, 2010; Prom-u thai, 2011) dan tepung singkong (Ebuchi and Mbara, 2011; Helmiyati dkk., 2012; Ekpedem dkk., 2013) pada produk bakery (Catana dkk., 2009; Rahmawati dan Sarbini, 2009; Kurniadkk., 2010; Lestari dkk., 2010). Perlakuan fortifikasi juga telah dilakukan pada bahan pangan sumber protein lainnya seperti pada susu, susu kedelai dan yohurt (Lestari, dkk., 2010; Panomaidkk., 2010; Askary and Bolandi, 2013; Jayalalitha dkk., 2012). Darlan (2012) juga telah melakukan fortifikasi zat besi FeSO₄·7H₂O dan campuran FeSO₄·7H₂O dengan Na₂H₂EDTA·2H₂O dan NaFeEDTA pada bahan pangan berbasis kedelai yaitu susu kedelai dan tempe.

Penelitian terkait dengan fortifikasi zat besi pada tempe telah dilakukan oleh Tawali (2000) dan direkomendasikan dosis optimal fortifikan adalah 10 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 100 gram ragi tempe. Penelitian Tawali (2000) mengkaji berbagai jenis fortifikan besi dan ketersediaan besi pada tempe fortifikasi (*availability*). Berbeda dengan penelitian tersebut, pada penelitian ini fortifikasi yang dilakukan adalah dengan zat besi dan vitamin A, serta efek pengolahan dikaitkan dengan komposisi zat gizi.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Sampel

Bahan yang digunakan dalam pembuatan tempe adalah kedele varietas lokal (Grobogan) dibeli dari Purwodadi. Tempe dibuat dengan mengacu pada prosedur pembuatan tempe yang dilakukan oleh Tawali (2000), yaitu kedele dicuci bersih lalu direbus selama 30 menit. Kedele dan air rebusannya didiamkan selama 22 jam kemudian dikupas kulitnya dan dicuci sampai bersih. Kedele tanpa kulit dikukus kembali selama 40 menit, ditiriskan dan didinginkan di atas tampah. Ragi ditambahkan sebanyak 2 g/kg berat basah, diaduk merata. Inokulum yang digunakan adalah inokulum untuk tempe yang mengandung jamur *Rhizopus sp* merk Raprime diproduksi di Bandung. Setelah peragian ditambahkan fortifikan zat besi dan vitamin A, sesuai dengan perlakuan kemudian diaduk hingga rata. Besi untuk fortifikasi adalah ferrous sulfat exsiccatus/ ferrous sulfat dry (FeSO_4) diperoleh dari PT Kimia Farma Plant Watukadon Mojokerto, dengan kadar 86,19%. Vitamin A (Akerophthali acetat/Retinil acetat dry) diperoleh dari PT Kimia Farma Plant Jakarta, dengan kadar vitamin A 534021,88 IU/gram. Kedele yang telah diinokulasi dibungkus dengan plastik dan diinkubasi selama 30-34 jam pada suhu kamar. Tempe matang dipersiapkan dengan mengolah menjadi tempe bacem, Pembuatan bacem dengan cara yaitu tempe sebanyak 750 gram direbus dengan air 500 ml selama 1 jam (sampai airnya habis) dan penambahan bumbu yang sudah dihaluskan (bawang merah 40 gram, bawang putih 40 gram, garam 20 gram, ketumbar 1 sendok teh), gula merah 100 gram dan daun salam 4 lembar.

Penentuan Jumlah Fortifikan

Pemberian dosis zat besi didasarkan penelitian Tawali (2000) yang merekomendasikan dosis optimal fortifikan adalah 10 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 100 gram ragi tempe. Jumlah ragi yang ditambahkan pada kedele siap fermentasi adalah 2 gram/kg kedele basah, jadi $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ yang dibutuhkan 200 mg/ kg kedele basah. Jumlah tersebut akan setara dengan FeSO_4 sebanyak 110 mg/kg kedele basah. Atas dasar tersebut maka perlakuan pada penelitian ini yaitu penambahan zat

besi (FeSO_4) dan vitamin A berdasarkan konsentrasi fortifikasi yaitu: 1) Kontrol; 2) FeSO_4 90 mg/kg berat basah (bb) + vitamin A 12 mg/kg bb; 3) FeSO_4 110 mg/kg bb + vitamin A 12 mg/kg bb; 4) FeSO_4 130 mg/kg bb + vitamin A 12 mg; 5) FeSO_4 150 mg + vitamin A 12 mg/kg bb.

Kadar vitamin A didasarkan bahwa Angka kecukupan gizi (AKG) yang dianjurkan berdasarkan Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi VII tahun 2004 dan SK Menkes Nomor: 1593/Menkes/SK/XI/2005, bahwa pada wanita usia 13-15 tahun kecukupan vitamin A 600 RE. WHO (2004) menetapkan fortifikasi vitamin A antara 15% -30% dari kebutuhan vitamin A harian pada kelompok target. Pada perhitungan 30% dari kecukupan vitamin A menurut AKG diperoleh 200 RE (setara dengan 660 IU). Dalam label tertera 1 gram axerophthali acetat kadar vitamin A adalah 534021,88 IU. Maka kadar vitamin A sebanyak 660 IU setara dengan 1,2 mg axerophthali acetat. Asumsi tempe yang dimakan 100 gram per hari maka pemberian vitamin A (axerophthali acetat) sebanyak 12 mg/kg kedele basah (siap fermentasi).

Analisis Zat Gizi

Analisis proksimat meliputi kadar protein, lemak, kadar air, kadar abu, karbohidrat, dan zat besi, Cu dan Zn (seng), dengan sumber acuan: SNI 01-2891-1991,1992 dan AOAC (2000) serta Soyjak dkk. (2006). Pengukuran kadar protein menggunakan metode Kjeldahl, kadar lemak menggunakan metode ekstraksi soxhlet, kadar karbohidrat menggunakan metode *by different* yaitu menggunakan rumus: Karbohidrat = 100% - (% kadar air + % kadar lemak + % kadar protein + kadar abu). Serta dilakukan pengukuran kadar air dan kadar abu, metode analisis kadar air (Metode pemanasan: AOAC (1970); Ranggana (1979) dalam Sudarmadji dkk. (1997)/ AOAC (2000) dan kadar abu (AOAC, 2000).

Pengukuran kadar zat besi dengan *Atomic Absorbent Spectrofotometri* (Perkin-Elmer tipe 310, USA). Secara ringkas, 1 gram sampel diletakkan, diabukan dan dilarutkan dalam 5 ml HNO_3 (25%) dan kemudian larutan tersebut dipanaskan perlahan di atas *hot plate* sampai semua abu larut. Larutan diencerkan dengan akuabides dalam labu takar 10 ml sampai dengan tanda tera. Mengukur kandungan logam dengan AAS sesuai dengan panjang gelombang logam tersebut (Fe 248,3 nm, Cu 324,8 nm, Zn 213,9 nm). Hal yang sama dilakukan untuk membuat blanko (hanya larutan tanpa penambahan sampel) sebanyak 3 kali ulangan. Hal yang sama dilakukan untuk membuat blanko (hanya larutan tanpa penambahan sampel) sebanyak 3 kali ulangan.

Analisis kadar vitamin A (beta caroten) menggunakan *Spectrophotometer* UV-VIS merk Shimadzu seri 1201 Japan. Secara singkat, 1 gram sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL yg ditutup aluminium foil. Selanjutnya ditambahkan 10 mL KOH dan 20 mL kloroform dan

didiamkan ± 15 menit. Kemudian divorteks dan didiamkan kembali selama 15 menit. Setelah 30 menit, kemudian divortekskembali dan disentrifus selama 3 menit 4200 rpm. Supernatan hasil sentrifuge dituangkan ke dalam labu takar 50 mL, ditambahkan kloroform hingga tanda batas pada labu takar. Diambil 0,5 mL larutan ekstrak, dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 4,5 mL metanol hingga tanda batas. Larutan dibaca pada spektrofotometer dengan $\lambda = 440$ nm.

Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap Satu Faktor dengan tiga kali ulangan. Faktor tersebut yaitu jenis fortifikan zat besi (Ferrous sulfat/FeSO₄) dan vitamin A (axerophthali acetat) meliputi : 1) Kontrol; 2) FeSO₄ 90 mg/kg berat basah (bb) + vitamin A 12 mg/kg bb; 3) FeSO₄ 110 mg/kg bb + vitamin A 12 mg/kg bb; 4) FeSO₄ 130 mg/kg bb + vitamin A 12 mg; 5) FeSO₄ 150 mg + vitamin A 12 mg/kg bb. Pada tiap ulangan, separo tempe yang dihasilkan dimasak dengan cara dibacem. Analisis proksimat meliputi kadar protein, lemak, kadar air, kadar abu, karbohidrat dan kadar zat besi, tembaga (Cu), seng (Zn) dan vitamin A dilakukan pada tempe mentah maupun tempe matang.

Analisis Statistik

Nilai yang tertera pada hasil merupakan nilai rata-rata ± standard deviasi. Data dianalisis dengan menggunakan Anova one way atau uji Kruskal Wallis untuk menguji pengaruh perlakuan; dan uji t *independent* atau uji Mann Whitney untuk

menguji perbedaan zat gizi antara tempe mentah dan masak. Tingkat kemaknaan digunakan nilai $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Zat Gizi Tempe yang Difortifikasi Zat Besi dan Vitamin A

Pada tempe yang difortifikasi zat besi dan vitamin A, kadar zat gizinya dapat dilihat pada Tabel 1. Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa pada tempe mentah kadar protein antar perlakuan tidak terlalu berbeda, yaitu berkisar dari 21,39 – 23,73 g/100 g tempe. Kadar lemak berkisar dari 7,87–9,76 g, kadar air 51,78–57,43 g, kadar abu 1,42–1,60 g serta kadar karbohidrat 10,93–13,16 g. Pada tempe matang kadar protein antar perlakuan juga tidak terlalu berbeda, yaitu berkisar dari 16,27–16,74 g/100 g tempe, lebih rendah dibanding kadar protein tempe mentah. Kadar lemak berkisar dari 4,71–6,77 g, juga menurun dibanding tempe mentah. Kadar air 53,41–57,06 g tidak terlalu berbeda dengan tempe mentah. Kadar abu 2,31–2,81 g, serta kadar karbohidrat 17,82–21,83 g, terlihat lebih tinggi dibanding tempe mentah. Hasil uji kadar protein, lemak, kadar air, kadar abu serta karbohidrat menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna berdasarkan perlakuan, baik pada tempe mentah maupun matang. Pada perbandingan zat gizi pada tempe mentah dan matang, hasil uji menunjukkan ada perbedaan yang bermakna rata-rata kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan kadar karbohidrat masing-masing ($P < 0,001$). Namun rata-rata kadar air tempe mentah dan tempe matang tidak ada perbedaan yang bermakna ($P = 0,461$).

Tabel 1. Hasil analisis proksimat tempe yang difortifikasi zat besi dan vitamin A (mentah dan matang) dengan berbagai kadar fortifikan (per 100 gram tempe)

Perlakuan	Protein (g)	Lemak (g)	Kadar air (g)	Kadar abu (g)	Karbohidrat(g)
Tempe mentah (n=15) rata-rata ± simpangan baku					
Ragi	21,84±1,30	9,09±0,67	56,69±2,46	1,44±0,09	10,93±1,17
Ragi + 90 mg besi+ 12 mg vitamin A	23,73±4,29	9,76±1,93	51,78±9,62	1,60±0,26	13,12±3,48
Ragi + 110 mg besi + 12 mg vitamin A	21,54±1,66	8,23±0,54	55,53±2,19	1,54±0,09	13,16±1,06
Ragi + 130 mg besi + 12 mg vitamin A	21,39±1,35	8,61±1,23	57,23±2,84	1,42±0,11	11,35±0,87
Ragi + 150 mg besi + 12 mg vitamin A	21,48±1,42	7,87±1,29	57,43±2,74	1,43±0,07	11,79±0,81
Total	21,99±2,15	8,71±1,25	55,73±4,66	1,49±0,14	12,07±1,79
Nilai p antar perlakuan	0,71 ^a	0,42 ^a	0,79 ^a	0,55 ^a	0,46 ^a
Tempe matang (n=15) rata-rata ± simpangan baku					
Ragi	16,27±1,76	6,54±0,42	57,05±3,03	2,31±0,20	17,82±0,92
Ragi + 90 mg besi + 12 mg vitamin A	16,61±0,32	6,77±1,38	54,84±0,98	2,52±0,27	19,25±1,31
Ragi + 110 mg besi + 12 mg vitamin A	16,62±0,56	4,71±1,78	56,26±2,15	2,37±0,36	20,03±0,49
Ragi + 130 mg besi + 12 mg vitamin A	16,74±1,15	5,21±1,54	53,41±3,32	2,81±0,05	21,83±3,08
Ragi + 150 mg besi + 12 mg vitamin A	16,38±1,78	4,89±1,52	56,70±1,13	2,55±0,28	19,47±1,09
Total	16,53±1,08	5,62±1,49	55,65±2,41	2,51±0,28	19,68±1,93
Nilai p antar perlakuan	0,99 ^a	0,30 ^a	0,35 ^a	0,21 ^a	0,12 ^a
Nilai p uji beda (tempe mentah-matang)	0,00**	0,00**	0,45 ^a	0,00**	0,00**

Keterangan : ^a : tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$)
 ** : ada perbedaan yang sangat signifikan ($p < 0,01$)

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa kadar vitamin A pada tempe kontrol maupun berbagai perlakuan (baik tempe mentah maupun matang) terlihat bervariasi. Pada tempe mentah dengan perlakuan diberi ragi saja (kontrol) terlihat rata-rata vitamin A tempe 2456,0 IU. Pada perlakuan besi 90 mg dan vitamin A, perlakuan besi 110 mg dan vitamin A, perlakuan besi 130 mg dan vitamin A dan perlakuan besi 150 mg dan vitamin A diperoleh rata-rata vitamin A nya 2562,9 IU. Pada tempe matang dengan yang diberi ragi saja (kontrol) terlihat rata-rata vitamin A tempe 2764,9 IU. Pada perlakuan besi 90 mg dan vitamin A, perlakuan besi 110 mg dan vitamin A, perlakuan besi 130 mg dan vitamin A dan perlakuan besi 150 mg dan vitamin A diperoleh rata-rata vitamin A nya 2253,0 IU.

Pada tempe mentah, kadar Fe antar perlakuan meningkat, yaitu pada kontrol kadar Fe adalah 1,97 mg; terlihat pada Tabel 2 dengan meningkatnya kadar zat besi pada tiap perlakuan, yaitu penambahan zat besi 90 mg, 110 mg, 130 mg dan 150 mg per 1 kg kedele basah maka kadar Fe nya makin meningkat, yaitu berturut-turut 3,46 mg, 3,45 mg, 3,57 mg dan 4,32 mg/100 gram tempe. Namun hasil uji anova tidak ada perbedaan yang bermakna zat besi tempe ($p=0,189$) berdasarkan perlakuan.

Pada tempe matang kadar Fe antar perlakuan bervariasi, dan tidak linier sesuai dengan penambahan kadar zat besi. Perbandingan kadar zat besi antara tempe mentah dan matang ternyata tidak ada perbedaan yang bermakna ($p=0,871$). Begitu juga pada kadar seng (Zn) ($p=0,100$) dan tembaga (Cu) ($p=0,410$).

Efek Perlakuan dan Pengolahan terhadap Kadar Protein, Lemak, Kadar Air, Kadar Abu dan Karbohidrat

Pada penelitian ini perlakuan yang diberikan adalah kadar zat besi yang bervariasi dan vitamin A. Menurut Raharjo (2004) zat besi dapat menginisiasi terjadinya peroksidasi lemak dan juga oksidasi protein. Logam Fe dapat menginduksi terjadinya peroksidasi lemak, terutama pada rantai asal lemak tidak jenuh ganda (PUFA). Lemak mengalami oksidasi ini akan menjalani reaksi lanjutan secara berantai membentuk produk radikal bebas seperti radikal alkil, radikal alkoksil, radikal peroksil, dan hidroperoksida. Peningkatan jumlah radikal ini akan mengakibatkan terjadinya dekomposisi asam lemak tidak jenuh menjadi peroksida lemak yang sangat tidak stabil. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa zat besi memegang peranan penting dalam reaksi oksidasi yang dimediasi oleh radikal bebas. Besi juga memiliki peran yang potensial dalam peroksidasi lemak (Gropper, 2009; Gibney, 2009). Meskipun demikian zat besi yang ditambahkan dalam tempe fortifikasi pada penelitian ini masih dalam batas normal (besi elemental (Fe) 32,7 mg - 54,5 mg/kg) atau batas yang masih direkomendasikan untuk program fortifikasi sehingga hasil penelitian ini tidak menunjukkan perbedaan kadar protein dan lemak menurut perlakuan.

Zat gizi tempe mentah dan matang menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada rata-rata kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan kadar karbohidrat ($p<0,05$). Kadar protein, kadar lemak pada tempe matang kadarnya lebih rendah sedangkan kadar abu dan karbohidrat pada tempe matang

Tabel 2. Hasil analisis vitamin A, zat besi (Fe), tembaga (Cu) dan seng (Zn) tempe yang difortifikasi besi dan vitamin A (mentah dan matang) dengan berbagai kadar fortifikan (per 100 gram tempe)

Perlakuan	Vitamin A (IU)	Zat besi (Fe) (mg)	Tembaga (Cu) (mg)	Seng (Zn) (mg)
Tempe mentah (n=15) rata-rata±simpangan baku				
Ragi	2456,0±635,4	1,97±0,15	0,19±0,01	0,73±0,03
Ragi + 90 mg besi+ 12 mg vitamin A	2551,1±861,2	3,46±1,84	0,26±0,08	0,81±0,36
Ragi + 110 mg besi + 12 mg vitamin A	2659,2±552,5	3,44±0,59	0,32±0,09	1,04±0,63
Ragi + 130 mg besi + 12 mg vitamin A	2126,5±671,9	3,57±0,50	0,23±0,04	0,89±0,28
Ragi + 150 mg besi + 12 mg vitamin A	2914,5±1079,4	4,33±1,33	0,24±0,01	0,89±0,29
Total	2541,5±713,7	3,35±1,20	0,25±0,06	0,87±0,33
Nilai p antar perlakuan	0,80 ^a	0,19 ^a	0,18 ^a	0,93 ^a
Tempe matang (n=15) rata-rata±simpangan baku				
Ragi	2764,9±517,6	1,89±0,48	0,24±0,04	0,54±0,01
Ragi + 90 mg besi + 12 mg vitamin A	2140,3±523,8	3,20±0,37	0,23±0,05	0,84±0,47
Ragi + 110 mg besi + 12 mg vitamin A	2272,6±491,2	3,08±0,67	0,26±0,04	0,67±0,24
Ragi + 130 mg besi + 12 mg vitamin A	2582,3±678,8	5,17±2,11	0,24±0,09	0,72±0,29
Ragi + 150 mg besi + 12 mg vitamin A	2016,8±425,1	3,03±0,80	0,18±0,04	0,61±0,44
Total	2355,4±535,3	3,28±1,43	0,23±0,06	0,68±0,30
Nilai p antar perlakuan	0,44 ^a	0,047*	0,48 ^a	0,62 ^a
Nilai p uji beda (mentah-matang)	0,43 ^a	0,87 ^a	0,41 ^a	0,10 ^a

Keterangan : ^a : tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$)

* : ada perbedaan yang signifikan ($p<0,05$)

kadarnya lebih tinggi dibanding tempe mentah. Terlihat ada pengaruh faktor pengolahan dalam hal ini pemasakan yang dilakukan pada tempe terhadap kadar zat gizinya (kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan kadar karbohidrat).

Pengolahan dengan cara dibacem dipilih dalam penelitian ini karena prosesnya hampir sama dengan perebusan namun diberi bumbu “bacem” sehingga meningkatkan cita rasa. Kekurangan cara ini memungkinkan kehilangan zat gizi yang terlarut dalam air. Namun jika dilakukan dengan api kecil (tidak terlalu panas) maka diharapkan dapat mengurangi kehilangan zat gizi terlarut. Penelitian Nurhidjah (2009) juga menunjukkan penurunan kadar protein tempe kedelai hitam yang dilakukan pengolahan dengan panas. Penggunaan media air, dapat menyebabkan penurunan kandungan protein dan menurunkan daya larut dan kehilangan protein pada produk akhir. Pengolahan dengan panas (penggorengan dan perebusan) yang dilakukan berlebihan mengakibatkan berkurangnya protein karena terbentuknya ikatan silang dalam protein (Winarno, 1997).

Pemanasan protein bisa menyebabkan terjadinya reaksi-reaksi baik yang diharapkan maupun yang tidak. Reaksi-reaksi tersebut diantaranya denaturasi, kehilangan aktivitas enzim, perubahan kelarutan dan hidrasi, perubahan warna, derivatisasi residu asam amino, *cross-linking*, pemutusan ikatan peptida, dan pembentukan senyawa yang secara sensori aktif. Reaksi ini dipengaruhi oleh suhu dan lama pemanasan, pH, oksidator, antioksidan, radikal, dan senyawa aktif lainnya khususnya senyawa karbonil (Winarno, 1997).

Komponen gizi lainnya yang dipengaruhi oleh proses pemanasan adalah lemak. Pada penelitian ini kadar lemak pada tempe matang lebih rendah. Palupi dkk.(2007) juga menyatakan makin tinggi suhu yang digunakan, maka kerusakan lemak akan semakin intens. Asam lemak esensial terisomerisasi ketika dipanaskan dalam larutan alkali dan sensitif terhadap sinar, suhu dan oksigen. Proses oksidasi

lemak dapat menyebabkan inaktivasi fungsi biologisnya dan bahkan dapat bersifat toksik.

Pemasakan pada karbohidrat diperlukan untuk mendapatkan daya cerna pati yang tepat, karena karbohidrat merupakan sumber kalori. Pemasakan juga membantu pelunakan dinding sel bahan pangan dan selanjutnya memfasilitasi daya cerna karbohidrat. Dalam pengolahan yang melibatkan pemanasan yang tinggi, karbohidrat terutama gula akan mengalami karamelisasi (pencoklatan non enzimatis) (Winarno, 1997). Faktor pengolahan juga sangat berpengaruh terhadap kandungan karbohidrat, terutama seratnya. Pada penelitian ini pada tempe masak, karbohidrat meningkat karena adanya penambahan gula merah pada proses pemasakan dengan cara dibacem.

Kadar protein, lemak, karbohidrat, kadar air dan kadar abu pada tempe mentah dan masak dan dibandingkan dengan penelitian lainnya, disajikan pada Tabel 3.

Pada Tabel 3 terlihat pada tempe mentah, kadar air, protein, lemak, karbohidrat serta kadar abu pada berbagai sumber tidak terlalu berbeda. Namun pada tempe masak, kadar protein dan lemak terlihat lebih rendah.

Efek Perlakuan dan Pengolahan terhadap Kadar Vitamin A, Zat Besi (Fe), Tembaga (Cu), dan Seng (Zn)

Vitamin A pada penelitian ini ditambahkan karena diharapkan dapat meningkatkan kandungan vitamin A pada tempe fortifikasi. Pada tempe yang difortifikasi zat besi dan vitamin A masing-masing perlakuan sama jumlah vitamin A yang ditambahkan yaitu 12 mg/1 kg kedele basah, dari 12 sampel tempe mentah (tanpa kontrol) diperoleh rata-rata vitamin A adalah 2562,9 IU sedangkan pada tempe matang 2253,0 IU, ada sedikit penurunan setelah dimasak.

Secara teoritis, vitamin A yang ditambahkan dalam 1 kg kedele basah adalah 12 mg axerophthali acetat yang setara dengan 660 IU per 100 gram tempe. Pada tempe mentah

Tabel 3. Komposisi zat gizi (protein, lemak, karbohidrat, kadar air dan abudari berbagai sumber (per 100 gram bahan)

Zat gizi	Tempe kedele ¹	Tempe kedele ²	Tempe kedele ³	Tempe fortifikasi ⁴			
				Mentah		Masak (bacem)	
				Kontrol	Fortifikasi	Kontrol	Fortifikasi
Air (g)	55,3	64,0	55,3	56,7	55,5	57,0	55,3
Protein (g)	20,7	18,3	20,8	21,8	22,0	16,3	16,6
Lemak (g)	8,8	4,0	8,8	9,1	8,6	6,5	5,4
Karbohidrat (g)	13,5	12,7	13,5	10,9	12,3	17,8	20,1
Abu (g)	1,6	-	1,6	1,4	1,5	2,3	2,6

Sumber: ¹Hermana, Karmini M, Karyadi D, 1996
² Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI, 2005
³ Persatuan Ahli Gizi Indonesia, 2009
⁴ Penelitian ini (Astuti, R dkk, 2013)

(kontrol) terlihat rata-rata vitamin A tempe 2456,0 IU dan pada tempe yang difortifikasi besi dan vitamin A adalah 2562,9 IU. Kenaikan vitamin A nya hanya 124,7 IU, padahal secara teoritis ada tambahan 660 IU, dengan demikian vitamin A yang ditemukan kembali hanya sekitar 25%. Kehilangan vitamin A ini dimungkinkan berasal dari proses pembuatan tempe.

Menurut deMan (1999), sifat vitamin A sangat mudah dioksidasi, terutama jika dipengaruhi oleh cahaya, sinar matahari atau cahaya buatan. Vitamin A tidak stabil jika ada asam mineral tetapi stabil dalam basa. Pada proses pembuatan tempe yang difortifikasi, penambahan vitamin A dilakukan pada saat kedele yang telah dikukus ditiriskan. Kedele yang telah dicampur dengan ragi kemudian ditambahkan zat besi lalu vitamin A. Saat pencampuran dimungkinkan ada pengaruh cahaya dan teroksidasi oleh adanya oksigen yang ada diudara. Dengan demikian saat pencampuran, ruangan supaya agak gelap dan segera dibungkus. Faktor lainnya diduga bentuk vitamin A. Menurut deMan (1999) bentuk vitamin A yang ditambahkan kedalam produk makanan dapat mempengaruhi kestabilannya dan vitamin A dalam bentuk butiran kecil lebih stabil daripada yang ditambahkan dalam brntuk cair. Butiran kecil distabilkan lapisan pelindung. Jika pelindung ini rusak karena basah oleh air, kestabilan vitamin A berkurang. Pada penelitian ini, saat pencampuran vitamin A, kedele meskipun sudah ditiriskan namun masih agak basah. Hal ini dimungkinkan mempengaruhi penurunan vitamin A.

Pada tempe matang (dibacem) data vitamin A terlihat bervariasi antar perlakuan, dan pada tempe matang, rerata vitamin A sedikit lebih rendah. Kerusakan vitamin A dapat terjadi pada pemasakan dengan suhu tinggi, cahaya dan ada oksigen dari udara. Oksidasi oleh lipid peroksidase dan tembaga prooksidan juga akan merusak vitamin A (deMan, 1999; Almatsier, 2001). Penelitian Mahmood dkk. (2008), menunjukkan kehilangan vitamin A pada cookies yang difortifikasikan sebanyak 9,3% pada proses baking dan 8,3% selama penyimpanan.

Pada tempe mentah, kadar zat besi (Fe) meningkat dengan makin meningkatnya kadar zat besi yang ditambahkan pada tiap perlakuan. Namun jika dihitung penambahan Fe elemental secara teoritis dibandingkan kadar Fe hasil analisis, maka Fe yang ditemukan kembali dalam tempe fortifikasi sekitar 60% (rerata dari tiap perlakuan). Perhitungan dengan cara : pada perlakuan FeSO_4 90 mg/kg berat basah (bb) secara teoritis menambahkan Fe elemental sebanyak 33 mg/kg (memperhitungkan Berat Molekul) atau 3,3/100 g. Pada tempe tanpa fortifikasi rerata Fe hasil analisis adalah 2,0 mg. Dengan demikian Fe yang diharapkan dalam tempe fortifikasi 5,3 mg namun hasil analisis diperoleh rata-rata Fe 3,46. Jadi Fe yang ditemukan kembali setelah menjadi tempe fortifikasi adalah 65%. Dengan cara yang sama dapat dihitung pada

perlakuan FeSO_4 110 mg/kg bb, 130 mg/kg bb dan 150 mg/kg bb. Pada penelitian Tawali (2000) Fe yang ditemukan kembali pada tempe fortifikasi besi adalah sekitar 80% dan besi terlarut dalam pembuatan tempe fortifikasi sekitar 11-18 %. Hal ini dimungkinkan karena zat besi sebagian dijadikan sebagai *trace element* yang dibutuhkan oleh kapang untuk pertumbuhannya dan sisanya terperangkap oleh micellia kapang yang terbentuk serta sebageian membentuk kompleks dengan komponen kacang kedelai (Tawali, 2000).

Secara umum mineral lebih tahan terhadap proses pengolahan dan selama penyimpanan dibandingkan dengan vitamin (Palupi, 2010). Pada penelitian inikadar zat besi, tembaga dan seng antara tempe mentah dan matang terlihat menurun namun setelah diuji statistik tidak bermakna. Menurut Palupi (2010) faktor lingkungan yang mempengaruhi kerusakan zat besi antara lain panas, udara, cahaya dan kelembaban, khususnya untuk tembaga, besi dan seng. Stabilitas zat besi tergantung dari beberapa faktor diantaranya adalah sifat alami bahan pembawa, ukuran partikel serta paparan terhadap panas, kelembaban dan udara. Pada tempe matang kadar Fe antar perlakuan bervariasi, dan tidak linier sesuai dengan penambahan kadar zat besi. Hal ini karena adanya faktor pemasakan, yaitu faktor suhu dan lama pemasakan.

Kadar tembaga (Cu) tempe tanpa fortifikasi (mentah) yang diperoleh dari penelitian ini adalah 0,194 mg/100 g dan pada tempe matang (dibacem) 0,244 mg/100 g, hasil ini lebih tinggi dari yang diperoleh Utari (2010) pada tempe kukus (tanpa fortifikasi) yaitu 0,169 mg/100 g. Kadar Cu yang lebih tinggi setelah pemasakan meskipun tidak bermakna dimungkinkan berasal dari alat yang digunakan untuk memasak (membuat bacem). Kadar seng (Zn) tempe tanpa fortifikasi (mentah) yang diperoleh dari penelitian ini adalah 0,728 mg/100 g dan pada tempe matang (dibacem) 0,542 mg/100 g, hasil ini juga lebih tinggi dari yang diperoleh Utari (2010) pada tempe kukus yaitu 0,174 mg/100 g. Adanya perbedaan hasil dari penelitian lain bisa disebabkan karena metode penetapan mineral, juga faktor lain seperti cara pembuatan tempe, dan air yang digunakan untuk merendam maupun mengukus. Pada penelitian ini kadar tembaga (Cu) dan kadar seng (Zn) setelah tempe dimasak tidak ada perbedaan yang bermakna dibanding tempe mentah.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini tidak ada perbedaan yang bermakna kadar protein, lemak, kadar air, kadar abu dan karbohidrat vitamin A, tembaga dan seng berdasarkan perlakuan ($p > 0,05$), baik pada tempe mentah maupun masak. Pada tempe mentah, meningkatnya kadar zat besi perlakuan meningkatkan kadar zat besi tempe fortifikasi meskipun tidak signifikan. Kadar

protein dan lemak menurun secara bermakna setelah diolah (dibacem) ($p < 0,05$). Kadar abu dan kadar karbohidrat meningkat secara bermakna ($p < 0,05$) setelah diolah (dibacem). Kadar vitamin A, zat besi (Fe), tembaga (Cu) dan seng (Zn) setelah dimasak (dibacem) tidak berbeda nyata.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang telah memberikan dana pada penelitian ini yang merupakan bagian dari penelitian Hibah Bersaing Tahun 1 Tahun Anggaran 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, M. dan Sudarmadji (1997). Contribution of tempe for the economy and health of Indonesian in reinventing the hidden miracle of tempe. *Proceedings International Tempe Symposium* di Bali, Indonesia. Published by Indonesian Tempe Foundation.
- Almatsier (2009). *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Askary, N. dan Bolandi (2013). Assessment of iron fortification influence on organoleptics and physicochemical properties of yoghurt. *Journal of Chemical Health Risk* 3(2): 1-8.
- Astuti, M. (1996). Tempe dan ketersediaan besi untuk penanggulangan anemia besi. Dalam: Sapuan dan Soetrisno, N., (ed.). *Bunga Rampai Tempe Indonesia*. Yayasan Tempe Indonesia, Jakarta.
- Catana, M., Catana, L., Negoita, M., Lorga, E., Belc, N., Stoica, A., Lilius, G., Lonescu, V. dan Dinu, M. (2009). Iron fortification of bakery products. *Annals. Food Science and Technology* 10(1): 16-19.
- Darlan, A. (2012). *Fortifikasi dan Ketersediaan Zat gizi pada bahan Pangan Berbasis Kedelai dengan Menggunakan $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$ Campuran $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O + Na_2H_2EDTA \cdot 2H_2O$ dan $Na FeEDTA$* . Tesis. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia, Jakarta.
- deMan, M.J. (1999). *Principles of Food Chemistry*. Third Edition. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Dijkhuizen, M.A., Wieringa, F.T., West, C.E., Muherdiyantiningsih dan Muhilal (2001). Concurrent micronutrient deficiencies in lactating mothers and their infants in Indonesia. *The American Journal of Clinical Nutrition* 73: 786-91.
- Direktorat Gizi, Depkes RI. (2005). *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Farida, I. (2006). Determinan kejadian anemia pada remaja putri di Kecamatan Gebog Kabupaten Kudus. Semarang: GDLHUB UNDIP; 2006. <http://digilib.undip.ac.id>. [14 Maret 2009].
- Ebuchi, O.A.T. dan Oduwole, M.O. (2010). Physical and sensory attributes of iron fortified and unfortified Nigerian and foreign rice varieties. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 8(2): 163-167.
- Ebuchi, O.A.T. dan Mbara, K.C. (2011). Biochemical studies of iron fortified gari fed to phenylhydrazine induce anemic rat. *American Journal of Food Technology* 6(6): 472-482.
- Gibney, M.J., Lanham-New, S.A., Cassidy, A. dan Vorster, H.H. (2009). *Introduction to Human Nutrition*. Second Edition. West Sussex, Wiley-Blackwell. A John Wiley and Sons, Ltd, Publications.
- Gropper, S.S., Smith, J.L. dan Groff, J.L. (2009). *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Fifth edition. Wadsworth, Cengage Learning, Belmont, USA.
- Halliwell, B. dan Chirico, S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement and significance. *American Journal Clinical Nutrition* 3:57(suppl)(7): 15S-25S.
- Hardinsyah, Marhamah, dan Amalia, L. (2008). Konsumsi Tahu dan Tempe Kedele di Indonesia. *Prosiding Perkembangan Terkini tentang Tempe: Teknologi, Standardisasi dan Potensinya dalam Perbaikan Gizi serta Kesehatan*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Helmyati, S., Pamungkas, P.P., Arsanti, L. dan Yoga, M.H. (2013). Sensory and organoleptic characteristic, zinc and iron content of fortified chips from cassava flour. *Journal of Science and Engineering* 3: 47-54.
- Hermana, Karmini, M. dan Karyadi, D. (1996). *Komposisi dan nilai gizi tempe serta manfaatnya dalam peningkatan mutu gizi makanan*. Dalam: Sapuan dan Soetrisno, N. (ed.) *Bunga Rampai Tempe Indonesia*. Yayasan Tempe Indonesia, Jakarta.
- Ikpeme, E.C.A., Godwin OI. dan Mgbeje, B.I.A. (2013). Effect of iron fortified "Gari". Cassava meal on serum iron, hemoglobin concentration and total iron-binding capacity in albino wistar rats. *American Journal of Food Technology* 8(2):124-132.
- Jayalalitha, V., Balasudaram, Palanidoral B. dan Kumar, N. (2010). Fortification of encapsulated iron in probiotic yoghurt. *International Journal of Agricultural: Research and Review* 2(2): 80-84.

- Kurnia, P., Sarbini, D. dan Rahmawati, S. (2010). Effect fortifikasi Fe dan Zn pada biskuit yang diolah dari kombinasi tempe dan bekatul untuk meningkatkan kadar albumin anak balita kurang gizi dan anaemia. *Eksplanasi* **5**(2): 120-133.
- Lestari, E.D., Adtim, Z.N., Salimo, H. dan Mustarsid (2010). Pengaruh susu fortifikasi besi-zink terhadap tingkat kesegaran jasmani anak usia 7 – 9 tahun di Sekolah Dasar Sukarta. *Sari Pedriati* **12**(2): 2-98.
- Mahmood, S., Butt, M.S., Anjum, F.M. dan Nawaz, H. (2008). Baking and storage stability of retinyl acetate (vitamin A) fortified cookies. *Pakistan Journal of Nutrition* **7**(4): 586-589.
- Nurhidajah (2009). *Daya Terima dan Kualitas Protein Kedelai Hitam (Glycine soja) yang Diolah pada Suhu Tinggi*. Tesis. Magister Gizi Masyarakat Program Pasca Sarjana Universitas Diponegoro, Semarang.
- Palupi, N.S. (2010). Fortifikasi zat besi. *Food Review* **5**(9): 49-52.
- Panomai, N., Sanchaisuriya, P. dan Rakoin L. (2010). Milk fortification with iron ethylene diamine tetra acetate (NaFeEDTA) supposed to be a preventive measure against iron deficiency for primary school children in Thailand. *Journal of Science, Hue University* **61**: 325-332.
- Persatuan Ahli Gizi Indonesia (2009). *Tabel Komposisi Pangan Indonesia (TKPI)*. Elex Media Komputindo, Jakarta.
- Prom-u-thai, C., Huang, L., Fukai, S. dan Reskasem, B. (2011). Iron fortification in parboiled rice a rapid and effective tool for delivering iron nutrition to rice consumers. *Food and Nutrition Science* **2**: 232-328.
- Rahmawati, S. dan Sarbini, D. (2009). Uji praklinik: efek fortifikasi Fe dan Zn pada biskuit tempe-bekatul terhadap kadar hemoglobin dan albumin mencit yang kurang gizi dan anemia. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi* **10**(2): 139-147.
- Shacter, E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Reviews* **32**: 307-326.
- Semba, R.D. dan Bloem, M.W. (2002). The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis. *European Journal of Clinical Nutrition* **56**: 271-281.
- Sudarmadji, S., Haryono B. dan Suhardi (1997). *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- Suharno, D., Muhilal, Karyadi, D., West, C.E. dan Hautvast, J.G.A.J. (1993). Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. *Lancet* **3**(342): 1325-1328.
- Soylak, M., Colak, H., Tuzen, M., Turkoglu, O. dan Elci, L. (2006). Comparison of digestion procedures on commercial powdered soup samples for the determination of trace metal contents by atomic absorption spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis* **14**(1): 62-67.
- Tawali, A.B. (2000). Fortifikasi zat besi pada ragi tempe dan analisis ketersediaan (availability) zat besi pada tempe yang dihasilkan (suatu kajian fortifikasi mikronutrient pada makanan tradisional). *Seminar Makanan Tradisional*. Pusat Kajian Makanan Tradisional (PKMT) Universitas Brawijaya, Malang.
- Utari, D.M. (2010). Kandungan asam lemak, zink dan copper pada tempe, bagaimana potensinya untuk mencegah penyakit degeneratif? *Gizi Indonesia* **33** (2): 108-115.
- World Health Organization (2001). *Iron Deficiency Anaemia. Assessment, Prevention, and A Guide for Programme Managers*. WHO/NHD/01.3. Geneva: WHO.
- World Health Organization, Food and Agricultural Organization of the United Nations (2004). *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. Second edition. WHO/FAO/UNU.
- World Health Organizations (2006). *Guidelines on food fortification with micronutrients*. World Health Organization and Agriculture Organization of the United Nations. Geneva, Switzerland.
- World Health Organization (WHO) and Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2007). *Assessing the iron status of population: including literature reviews: report of a joint World Health Organization/ Centers for Disease Control and Prevention Technical Consultation on the assessment of iron status at the population level*, Edisi kedua. World Health Organization. Geneva, Switzerland.
- Winarno, F.G. (1997). *Kimia Pangan dan Gizi*. Penerbit Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.