

**UJI IN VITRO PENURUNAN KADAR KOLESTEROL
OLEH TEMPE GORENG HASIL FERMENTASI RAGI (LIPI)**

**OLEH :
ARISANTY
H51198030**



PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Tgl. Terima	5 - 10 - 2003
Asal/Dari	Fak - MIPA
Amplikon	10105 Hadiah
	041005 148 23420

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2003**

**UJI IN VITRO PENURUNAN KADAR KOLESTEROL
OLEH TEMPE GORENG HASIL FERMENTASI RAGI (LIPI)**

**OLEH :
ARISANTY
H51198030**

*Skripsi untuk melengkapi tugas dan memenuhi syarat
untuk memperoleh gelar sarjana*

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2003

**UJI IN VITRO PENURUNAN KADAR KOLESTEROL
OLEH TEMPE GORENG HASIL FERMENTASI RAGI (LIPI)**

Disetujui Oleh
Pembimbing Utama :



Drs. M. Natsir Djide, MS

NIP. 130 785 083

Pembimbing Pertama,

Pembimbing Kedua,

DR. Elly Wahyudin, DEA

NIP. 130 580 783

Dra. Sartini, M.Si

NIP. 131 696 792

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nyalah sehingga penulis memperoleh kekuatan semangat dan kemampuan untuk menyelesaikan skripsi ini yang merupakan salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan ketidaksempurnaan dari skripsi, namun penulis mengharapkan skripsi ini akan bermanfaat bagi penulis sendiri maupun untuk semua pembaca.

Penyusunan skripsi ini telah berjalan lancar berkat adanya bimbingan, petunjuk, pengarahan dan partisipasi dari berbagai pihak. Oleh sebab itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
2. Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
3. Bapak Drs. Natsir Djide, MS sebagai pembimbing utama, Ibu Dr. Elly Wahyudin, DEA sebagai pembimbing pertama dan Ibu Dra. Sartini, M.Si sebagai pembimbing kedua, atas segala bantuan dan bimbingannya serta waktu yang telah diberikan hingga kami dapat menyelesaikan skripsi ini.

4. Bapak dan Ibu dosen serta seluruh staf karyawan Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah memberikan saran dan bimbingan selama ini kepada penulis.
5. Ayahanda Arifuddin Langke (Alm) yang tidak sempat melihat tulisan ini,serta Ibunda Salawaty Doto untuk seluruh cinta, kasih sayang dan doanya serta dorongan semangat yang tak pernah berhenti.
6. Sahabat terbaikku Noni, Nita, Tiko, Hajar, Dhena, Ode, Rini, Ipul, Inchi-Rahman, Hendra, Baan, Oni; rekanku di apotek Dadi Rakhma dan Kamariah atas pengertiannya; dan teman-teman angkatan '98 yang tidak bisa disebutkan namanya satu per satu terutama untuk 'Mon Cherry' atas segala perhatian dan bantuannya baik secara moril dan materiil.

Semoga Allah SWT membalas segala bantuan tersebut dengan pahala yang setimpal. Amin.

Makassar, Agustus 2003

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji *in vitro* pengaruh variasi minyak goreng yang digunakan untuk menggoreng tempe terhadap penurunan kadar kolesterol dengan maksud untuk mengetahui kemampuan tempe yang telah mengalami pengolahan berupa pemanasan yaitu penggorengan dalam menurunkan kadar kolesterol secara *in vitro*. Tujuan dari penelitian ini untuk memperoleh data ilmiah uji *in vitro* penurunan kadar kolesterol oleh tempe goreng. Kemampuan penurunan kadar kolesterol didasarkan pada pengukuran serapan kolesterol setelah penambahan tempe dengan menggunakan metode Rudel Morris. Serapannya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Dari hasil pengukuran serapan, penurunan kadar kolesterol yang maksimal ditentukan berdasarkan persamaan linear yang diperoleh dari kurva kolesterol standar. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa proses pemanasan dengan cara digoreng menggunakan jenis minyak goreng yang bervariasi menyebabkan berkurangnya kemampuan tempe dalam menurunkan kadar kolesterol secara signifikan. Persentase penurunan kolesterolnya adalah sebagai berikut : penggunaan minyak goreng kemasan pemakaian pertama, kedua dan ketiga berturut-turut sebesar 56,95 %, 51,01 % dan 44,16 %; penggunaan minyak goreng curah pemakaian pertama, kedua dan ketiga berturut-turut sebesar 51,59 %, 44,66 % dan 39,85 %.

ABSTRACT

A research on the influence *in vitro* of the varieties of frying oil used to fry the tempe on the decreasing of cholesterol levels has been done, with the aim to find out the ability of heat-treated tempe such as frying in decreasing the cholesterol level *in vitro*. The purpose of the study was to get the scientific data of the *in vitro* test of the decreasing of cholesterol level by fried tempe. The ability to decrease the cholesterol level was based on the cholesterol absorbance measurement after an addition of tempe using the Rudel Morris method. The absorbance was measured using UV-VIS spectrofotometer. From the measurement, the maximum decrease of the cholesterol level was determined based on the linear equation from the standard cholesterol curve. The statistical analysis showed that the heating process such as frying using the varieties of frying oils caused the decreasing of the tempe ability to decrease the cholesterol level significantly. The percentages of the cholesterol decrease in the first, second and third use of the commercially packed frying oil were 56.95 %, 51.01% and 44.16%, respectively; and the percentages of the cholesterol decrease in the first, second and third use of the commercially unpacked frying oil were 51.59 %, 44.66% and 39.85%, respectively.

DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMA KASIH	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	iv
DAFTAR GAMBAR	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. POLA PENELITIAN	4
II.1 Penyiapan Alat dan Bahan	4
II.2 Penyiapan Bahan Penelitian	4
II.2.1 Pengambilan Bahan	4
II.2.2 Liofilisasi Sampel	4
II.3 Penentuan Kondisi Penurunan Kadar Kolesterol	4
II.4 Pengujian penurunan kadar kolesterol secara in vitro	5
II.5 Pembuatan Kurva Standar	5
II.6 Pengukuran Sampel	5
II.7 Pengumpulan Data	5
II.8 Analisa Data	5

II.9 Pembahasan Hasil	5
II.10 Pengambilan Kesimpulan	5
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	6
III.1 Kolesterol	6
III.1.1 Biosintesis Kolesterol	6
III.1.2 Pengangkutan Kolesterol	7
III.1.3 Ekskresi kolesterol	9
III.2 Kolesterol dan Trigliserida	9
III.3 Hubungan Antara Kolesterol dan Aterosklerosis	12
III.4 Faktor-faktor Resiko Terjadinya Aterosklerosis	14
III.5 Kedelai	16
III.6 Tempe Sebagai Makanan fermentasi	17
III.6.1 Proses Fermentasi Tempe	19
III.6.2 Kandungan Gizi Tempe	20
III.7 Minyak Goreng	23
III.7.1 Minyak Kelapa	24
III.7.2 Minyak Kelapa Sawit	25
III.8 Analisis Kolesterol	25
BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN	28
IV.1 Alat dan Bahan	28
IV.1.1 Alat-Alat yang Digunakan	28
IV.1.2 Bahan-Bahan yang Digunakan	29



IV.2	Penyiapan Alat dan Bahan	29
IV.2.1	Penyiapan Alat	29
IV.2.2	Pembuatan Tempe	29
IV.2.3	Pengolahan Sampel	30
IV.2.4	Liofilisasi Sampel	30
IV.3	Pembuatan Kurva Standar Kolesterol	30
IV.4	Penentuan Kondisi Penurunan Kadar Kolesterol	31
IV.5	Pengukuran Sampel	32
IV.6	Perhitungan Persentase Penurunan Kolesterol	32
IV.7	Analisa Data	33
BAB V.	HASIL DAN PEMBAHASAN	34
V.1	Hasil Penelitian	34
V.2	Pembahasan	34
BAB VI.	KESIMPULAN DAN SARAN	38
VI.1	Kesimpulan	38
VI.2	Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1	Jumlah Penurunan Kadar Kolesterol oleh Tempe Goreng 34
Tabel 2	Hasil Perhitungan Kurva Standar Analisa Kolesterol dengan Menggunakan Persamaan Kurva Baku 43
Tabel 3	Nilai Absorbansi Penurunan Kolesterol oleh Tempe Goreng pada Variasi Jenis Minyak Goreng 44
Tabel 4	Hasil Perhitungan Penurunan Kadar Kolesterol 45
Tabel 5	Perhitungan Statistik Penurunan Kadar Kolesterol (μg) oleh Tempe Goreng Pada Variasi Minyak Goreng dengan Rancangan Acak Lengkap 47

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Kurva Standar Analisis Kolesterol	43
Gambar 2 Kurva Hubungan antara Penurunan Kadar Kolesterol oleh Tempe Goreng dengan Variasi Jenis Minyak Goreng pada Pemakaian Berulang	44
Gambar 3 Skema Kerja Pembuatan Tempe	51
Gambar 4 Skema Kerja Uji In Vitro Penurunan Kadar Kolesterol oleh Tempe Goreng	52
Gambar 5 Foto sampel	53

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Skema Kerja Pembuatan Tempe	51
Skema Kerja Uji In Vitro Penurunan Kadar Kolesterol oleh Tempe Goreng	52
Lampiran I Kurva Standar Analisis Kolesterol	42
Lampiran II Pengukuran Absorban	44
Lampiran III Perhitungan Penurunan Kadar Kolesterol	45
Lampiran IV Perhitungan Statistik	47

BAB I

PENDAHULUAN

Di Indonesia tempe kedelai merupakan jenis makanan hasil proses fermentasi yang sangat digemari, karena memiliki cita rasa yang khas dan relatif murah harganya. Disamping itu tempe sudah dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai makanan bergizi tinggi (1). Tempe banyak mengandung protein nabati dan juga rendah kolesterol. Suatu zat yang disebut beta sitosterol dalam kacang kedelai mempunyai efek hipokolesteromik. Mikroorganismenya yang digunakan dalam proses fermentasi kacang kedelai menjadi tempe akan memperbesar efek penekanan kadar kolesterol total. Di samping itu kandungan niasin dalam tempe jauh lebih besar yaitu sampai 60 mg/g, sementara kacang kedelai hanya mengandung 9 mg/g. Niasin tersebut dapat menekan enzim lipoprotein lipase, sehingga produksi VLDL dihambat. Kolesterol total LDL, dan trigliserida pun menurun, sebaliknya HDL justru meningkat (2). Protein yang terdapat dalam kedelai mempunyai efek menurunkan tingkat LDL-kolesterol secara signifikan dan cenderung menaikkan tingkat HDL-kolesterol (3). Berdasarkan *New England Journal of Medicine*, tahun 1995, tentang efek dari mengkonsumsi protein kedelai sebanyak 47 gram setiap hari dapat menurunkan kolesterol total 9,3 %, LDL-kolesterol 12,9 % dan trigliserida 10,5 % (4).

Kolesterol sebenarnya merupakan lemak yang sangat penting bagi tubuh, tetapi jika berlebihan dapat berdampak negatif. Kolesterol dalam tubuh merupakan prekursor biosintesis hormon steroid dan asam empedu (5). Tetapi peningkatan jumlah kolesterol akan mempercepat terjadinya aterosklerosis yang merupakan resiko utama penyakit jantung koroner yang berujung pada serangan jantung dan kematian. Selain itu kolesterol juga merupakan pemicu timbulnya berbagai penyakit metabolik, seperti hipertensi, diabetes mellitus, dan stroke (6,7).

Beberapa obat yang digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol antara lain turunan asam fibrat, golongan resin, penghambat HMGCoA reduktase, asam nikotinat, probukol, beta sitosterol, dan dekstrotiroksin, tetapi pemakaian obat-obatan tidak terlepas dari efek samping. Obat sesungguhnya adalah benda asing yang dimasukkan ke dalam tubuh yang diharapkan memberikan efek baik, tetapi sekaligus mencemaskan karena menimbulkan efek yang tidak diinginkan. Banyak obat anti kolesterol yang kini beredar di pasaran dan obat-obatan tersebut hanya boleh dipakai apabila dengan diet yang ketat, latihan yang teratur dan pengendalian factor resiko lainnya (2).

Dengan melihat efek samping dan segi ekonomisnya maka dicari alternatif pengobatan yang lebih alamiah, misalnya dengan konsumsi protein kedelai, makanan berserat, asam amino glisin, konsumsi bahan pangan seperti minyak ikan, bawang putih, bahan yang mengandung vitamin A dan karoten, vitamin E, vitamin C, dan sitosterol (kedelai, tempe, beras, bekatul) juga sangat berpengaruh terhadap kadar kolesterol serum (2,8).

Berdasarkan pada hasil penelitian Herlyna, (2002); konsentrasi optimum tempe untuk menurunkan kadar kolesterol secara *in vitro* yaitu sebanyak 45 mg dengan penurunan kadar kolesterol sebesar 99,15%. Sedangkan berdasarkan hasil penelitian Marini (2003) tempe yang telah mengalami perebusan selama 10 menit memberikan persentase penurunan sekitar 62,14%; pada perebusan selama 15 menit memberikan penurunan sebesar 53,49% dan pada perebusan selama 20 menit memberikan persentase penurunan kolesterol sebesar 45,58%.

Namun yang perlu diperhatikan selanjutnya adalah, pengolahan tempe menjadi makanan olahan, haruslah bebas dari senyawa-senyawa yang justru meningkatkan kadar kolesterol itu sendiri. Pengolahan tempe menjadi keripik misalnya, jika tetap digoreng dengan minyak goreng yang sudah berwarna hitam (minyak yang berulang kali digunakan), justru dari minyak inilah sumber masalah baru, karena minyak seperti itu kaya akan peroksida lemak. Peroksida lemak inilah yang sering meningkatkan gangguan jantung (9).

Permasalahannya adalah, apakah tempe yang digoreng juga dapat menurunkan kadar kolesterol. karena itu dilakukan penelitian untuk mengetahui efek tempe goreng terhadap penurunan kadar kolesterol secara *in vitro*, di mana tempe digoreng menggunakan dua jenis minyak goreng yaitu minyak goreng curah dan minyak goreng kemasan dengan maksud untuk mengetahui efek penurunan kadar kolesterol pada perlakuan tempe yang digoreng. Sehubungan dengan itu maka telah dilakukan penelitian dengan tujuan memperoleh data ilmiah uji *in vitro* penurunan kadar kolesterol oleh tempe goreng.

BAB II

POLA PENELITIAN

II.1 Penyiapan Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan sesuai dengan kebutuhan penelitian.

II.2 Penyiapan Bahan Penelitian

II.2.1 Pengambilan Bahan

Tempe yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari hasil fermentasi kacang kedelai dengan menggunakan ragi produksi koperasi Bina Kimia, LIPI, Bandung.

II.2.2 Liofilisasi Sampel

Tempe dibekukeringkan (diliofilisasi) dengan menggunakan Freeze dryer.

II.3 Penentuan Kondisi Penurunan Kadar Kolesterol

Tempe dengan pengikatan kolestrol diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 jam. Berat tempe yang digunakan untuk pengujian 45 mg dengan berbagai variasi jenis minyak goreng yang digunakan dengan pemakaian berulang.

II.4 Pengujian Penurunan Kadar Kolesterol Secara In Vitro

Tempe dari hasil penentuan kondisi penurunan kadar kolesterol masing-masing disentrifus pada 4000 rpm selama 5 menit. Kolesterol yang tidak terikat ditentukan berdasarkan metode Rudel dan Morris.

II.5 Pembuatan Kurva Standar

Kurva standar dibuat berdasarkan metode Rudel dan Morris.

II.6 Pengukuran Sampel

Sampel yang telah dibuat diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV_VIS Shimatsu (60).

II.7 Pengumpulan Data

Data diperoleh dari pengukuran penurunan kadar kolesterol oleh tempe dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS

II.8 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistika dengan menggunakan rancangan acak lengkap.

II.9 Pembahasan Hasil

Pembahasan berupa hasil penelitian dari data yang dianalisis.

II.10 Pengambilan Kesimpulan

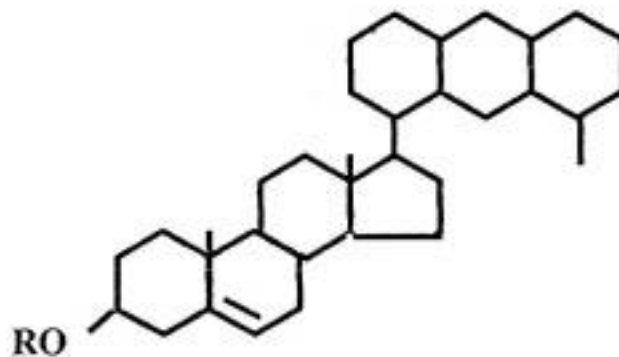
Dari pembahasan hasil diperoleh kesimpulan efek tempe yang telah digoreng didasarkan pada jenis minyak goreng yang digunakan yang masih memberikan persentase yang tinggi terhadap penurunan kolesterol.

BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

III.1 Kolesterol

Kolesterol merupakan prekursor hormon-hormon steroid dan asam lemak dan merupakan unsur pokok yang penting di membran sel. Kolesterol tersebar luas dalam semua sel tubuh, khususnya dalam jaringan saraf, yang biasa dalam bentuk kolesterol bebas atau gabungan dengan asam lemak rantai panjang sebagai ester kolesterol. Kolesterol adalah produk khas hasil metabolisme hewan dan terdapat dalam makanan seperti kuning telur, daging, hati dan otak (6).



RO = gugus asam lemak, kolesterol terikat

Rumus Struktur Kolesterol

III.1.1 Biosintesis Kolesterol

Kolesterol sebenarnya secara alamiah disintesis dalam tubuh (sekitar 700 mg/hari) dan sisanya berasal dari makanan sehari-hari.

Pada manusia, di hati menghasilkan kurang lebih 10% dari total sintesis, sementara usus sekitar 10% lainnya (6).

Biosintesis kolestrol dapat dibagi menjadi 5 tahap, yaitu :

1. Mevalonat, yang merupakan senyawa 6 karbon disintesis dari asetil-KoA .
2. Unit isoprenoid dibentuk dari mevalonat melalui pelepasan CO_2 .
3. Enam unit isoprenoid mengadakan kondensasi untuk membentuk senyawa antara skualena.
4. Skualena mengalami siklisasi untuk menghasilkan senyawa steroid induk, yaitu lanosterol.
5. Lanosterol diubah menjadi kolesterol (6).

III.1.2 Pengangkutan Kolesterol

Kolesterol agar dapat diangkut dalam sistem sirkulasi, maka susunan molekul kolesterol perlu dimodifikasi dalam bentuk kompleks lipoprotein. Tiap kompleks yang terbentuk memiliki inti yang mengandung trigliserida dan ester-ester kolesterol, serta dikelilingi oleh fosfolipid, kolesterol non-ester dan apolipoprotein yang bersifat polar pada permukaan sehingga menyebabkan molekul tersebut dapat larut dalam air (6,11).

Dua jalur pengangkutan kolesterol dalam darah :

a. Jalur Eksogen

Trigliserida dan kolesterol dari makanan yang diserap dari usus diangkut oleh kilomikron. Kilomikron akan diangkut dalam saluran limfe lalu ke dalam darah via duktus torasikus. Di dalam jaringan lemak trigliserida dalam kilomikron mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase pada permukaan sel endotel sehingga akan dihasilkan asam lemak dan kilomikron remnan. Asam lemak bebas akan menembus endotel dan masuk ke dalam jaringan lemak atau sel otot untuk diubah menjadi trigliserida atau dioksidasi menjadi sumber energi.

b. Jalur Endogen

Trigliserida dan kolesterol yang disintesis oleh hati diangkut secara endogen dalam bentuk VLDL kaya trigliserida. Proses ini diawali dengan sekresi partikel lipoprotein yang dibentuk oleh hati. Modifikasi pembentukan VLDL (melalui transferase apolipoprotein) menghasilkan VLDL yang sebagian besar terdiri dari trigliserida yang disintesis dalam hati dan sejumlah kecil ester kolesterol. Selama perjalanannya melalui darah, VLDL akan mengekstraksi trigliserida dan melepaskan apolipoprotein dan akhirnya membentuk LDL. LDL sebagian besar terdiri dari ester kolesterol yang dikelilingi oleh apoprotein permukaan yaitu apoprotein-B. LDL akan mengalami sirkulasi dengan waktu paruh sekitar 2-5 hari sebelum dihilangkan dari sirkulasi melalui

pengikatan pada reseptor LDL dalam hati dan jaringan lain untuk digunakan dalam sintesis membran dan steroid (15,11).

III.1.3 Ekstraksi Kolesterol

Sekitar 1 gram kolesterol dikeluarkan dari dalam tubuh setiap harinya. Kurang lebih separuhnya diekskresikan ke dalam feses setelah sebelumnya diubah menjadi asam empedu. Sisanya akan diekskresikan sebagai kolesterol. Sebagian besar kolesterol yang diekskresikan ke dalam empedu akan diserap kembali dan diyakini bahwa sekurang-kurangnya sebagian kolesterol merupakan bagian senyawa sterol feses yang berasal dari mukosa intestinal. Koprostanol merupakan sterol utama di dalam feses, senyawa ini dibentuk dari kolesterol oleh flora bakteri yang ada dalam usus besar. Sejumlah besar ekskresi garam empedu akan diserap kembali ke dalam sirkulasi porta, diambil oleh hati, dan diekskresikan kembali ke dalam empedu. Garam empedu yang tidak diserap kembali, ataupun derivatnya diekskresikan ke dalam feses (16).

III.2 Kolesterol dan Trigliserida

1. Kolesterol

Kolesterol yang berada dalam zat makanan yang kita makan meningkatkan kadar kolesterol dalam darah. Sejauh pemasukan ini masih seimbang dengan kebutuhan, tubuh kita akan tetap sehat. Tapi sangat disayangkan kebanyakan dari kita memasukkan kolesterol lebih dari yang

diperlukan, yaitu dengan makan makanan yang mengandung lemak yang kaya akan kolesterol dalam jumlah yang berlebihan. Hal ini dapat dimengerti karena hidangan yang lezat umumnya mengandung banyak lemak. Hasilnya mudah diterka, yaitu kadar kolesterol darah meningkat sampai di atas angka normal yang diinginkan.

Kelebihan tersebut bereaksi dengan zat-zat lain dan mengendap di dalam pembuluh darah arteri, yang menyebabkan penyempitan dan pengerasan yang dikenal sebagai *atherosclerosis*. Bila penyempitan dan pengerasan ini cukup berat, sehingga menyebabkan suplai darah ke otot jantung tidak cukup jumlahnya, maka timbul sakit atau nyeri dada yang disebut *angina*, bahkan dapat menjurus ke serangan jantung.

Di sinilah kolesterol tersebut berperan negatif terhadap kesehatan. Karena alasan tersebut di atas, maka kadar kolesterol yang abnormal menjadi faktor resiko utama penyakit jantung koroner.

2. Trigliserida

Trigliserida adalah salah satu jenis lemak yang terdapat dalam darah dan berbagai organ dalam tubuh. Dari sudut ilmu kimia, trigliserida merupakan substansi yang terdiri dari gliserol yang mengikat gugus asam lemak. Makan makanan yang mengandung lemak akan meningkatkan trigliserida dalam darah dan cenderung meningkatkan kadar kolesterol. Lemak yang berasal dari buah-buahan seperti kelapa, durian, dan alpukat tidak mengandung kolesterol tetapi kadar trigliseridanya tinggi. Sejumlah

faktor dapat mempengaruhi kadar trigliserida dalam darah seperti kegemukan, makan lemak, makan gula biasa (glukosa) dan minum alkohol.

Penelitian para ahli menegaskan bahwa peningkatan kadar trigliserida dalam darah merupakan salah satu faktor resiko dari penyakit jantung koroner.

3. Profil Lemak

Kolesterol dan lemak tidak larut dalam cairan darah, bila lemak dan kolesterol harus larut agar dapat dikirim ke seluruh tubuh, maka perlu 'dikemas' bersama protein menjadi partikel yang disebut 'lipoprotein'. Jadi lipoprotein dapat dianggap seperti 'pembawa' (*carrier*) lemak dan kolesterol dalam darah.

Meskipun terdapat berbagai jenis lipoprotein, namun dalam rangka evaluasi terjadinya *atherosclerosis* yang dapat memicu terjadinya penyakit jantung koroner, sebagai langkah pertama para dokter umumnya ingin mengetahui profil lemak yang terdiri dari Total Kolesterol, LDL, HDL, dan Trigliserida. Partikel-partikel ini memiliki sifat-sifat khusus dan berbeda pada proses pembentukan *atherosclerosis* sebagai berikut :

- LDL (Low Density Lipoprotein) yang mengangkut paling banyak kolesterol dalam darah. LDL dinamakan **kolesterol jahat**, karena kadar LDL yang tinggi menyebabkan mengendapnya kolesterol dalam arteri.
- HDL (High Density Lipoprotein), mengangkut kolesterol lebih sedikit. HDL sering disebut sebagai **kolesterol baik**, karena dapat 'membuang'

kelebihan kolesterol jahat di pembuluh arteri kembali ke liver untuk diproses dan dibuang. Jadi HDL mencegah kolesterol mengendap di arteri dan melindungi (proteksi) dari *atherosclerosis* dan penyakit jantung koroner.

- VLDL (Very Low Densiti Lipoprotein), membawa sebagian besar trigliserida dalam darah. Pada proses selanjutnya, sebagian VLDL berubah menjadi LDL.
- Trigliserida, yaitu jenis lemak dalam darah yang dapat mempengaruhi kadar kolesterol (24).

III.3 Hubungan Antara Kolesterol dan Aterosklerosis

Kolesterol mungkin merupakan senyawa steroid yang paling dikenalkarena kaitannya dengan keadaan aterosklerosis (6).

Aterosklerosis adalah bentuk arteriosklerosis yang paling umum ditemukan, ditandai dengan terdapatnya aterom pada bagian intima arteri yang berisi kolesterol, zat lipoid dan lipofag. Pembuluh darah yang terkena adalah arteri besar dan sedang, yaitu pembuluh serebral, vertebral, koroner, renal, aorta, dan pembuluh tungkai. Dengan demikian komplikasi terpenting dari aterosklerosis ialah penyakit jantung koroner, gangguan pembuluh darah serebral dan gangguan pembuluh darah perifer (3).

Pada awalnya terjadi luka pada permukaan dinding pembuluh koroner yang mungkin disebabkan oleh infeksi, iritasi, iskemia, trauma, gesekan tekanan darah pada hipertensi, dan sebagainya. Luka itu akan menahan

elemen-elemen kolesterol tertentu yang mengambang dalam darah dan membentuk jaringan fibrous dan deposit kalsium, sehingga tumbuh benjolan yang tidak rata pada permukaan sebelah dalam dinding pembuluh koroner disebut ateroma. Kolesterol akan melekat lapis demi lapis, perlahan-lahan, dan membutuhkan waktu, lambat laun ateroma akan makin menebal dan mempersempit lumen pembuluh darah koroner. Aliran darah pun tidak lancar melewatinya dan oksigen dalam darah makin tidak cukup untuk metabolisme sel otot jantung dan terjadi ketidakseimbangan antara oksigen supply dengan oksigen demand. Otot jantung membutuhkan oksigen (bersifat aerobik) agar dapat berfungsi dan oksigen ini dipasok oleh arteri koroner. Jika salah satu cabang arteri tersumbat karena terjadinya aterosklerosis maka bagian dari otot jantung yang biasanya dipasok oleh arteri tersebut akan rusak. Metabolisme anaerobik akan menghasilkan rasa nyeri hebat yang dikenal dengan serangan jantung (4,15).

Diet lemak yang tinggi, terutama yang mengandung kolesterol dan lemak jenuh dapat meningkatkan kemungkinan seseorang untuk mendapatkan aterosklerosis. Karenanya penurunan lemak dapat sangat membantu melindungi dari aterosklerosis. Dari beberapa percobaan menunjukkan bahwa ini dapat bermanfaat bahkan pada pasien yang telah mengalami serangan jantung koroner. Percobaan klinik akhir-akhir ini yang dilakukan oleh United States National Institutes of Health tentang cara-cara diet untuk menurunkan kadar

kolesterol darah memperlihatkan bahwa untuk tiap penurunan 1% kolesterol di peroleh penurunan kira-kira 2% mortalitas akibat serangan jantung (15).

III.4 Faktor-Faktor Resiko Terjadinya Aterosklerosis

Faktor-faktor resiko yang dapat mendorong terjadinya aterosklerosis dapat dibedakan menjadi 2 faktor, yaitu faktor endogen dan faktor lingkungan.

1. Faktor Endogen

a. Umur

Seperti kebanyakan penyakit kronik lainnya, kecepatan insiden aterosklerosis meningkat dengan bertambahnya umur.

b. Jenis Kelamin

Dalam hal ini, wanita memiliki faktor resiko yang lebih kecil bila dibandingkan dengan pria.

c. Faktor Keturunan

Kadar lipid dalam darah dan tekanan darah berbeda di bawah kontrol genetik dan pengaruh lingkungan.

d. Hiperlipidemia

Suatu kelainan yang menunjukkan tingginya kadar kolesterol atau trigliserida atau keduanya dalam darah. Total kolesterol dalam darah dinyatakan merupakan faktor resiko utama terhadap aterosklerosis dibandingkan dengan umur dan jenis kelamin. Hiperlipidemia mungkin terjadi sebagai manifestasi kedua dari penyakit lain seperti diabetes mellitus dan hipertiroidisme.

e. Tekanan Darah Tinggi

Orang dengan penyakit darah rendah memiliki resiko yang kecil terhadap terjadinya aterosklerosis baik pada pria maupun wanita untuk semua umur.

f. Kegemukan

Merupakan faktor resiko untuk hipertensi dan diabetes yang akhirnya berpengaruh, walaupun tidak langsung terhadap terjadinya aterosklerosis.

g. Tipe Personaliti

Aspek prilaku dan emosi dari seseorang seperti pemarah, tidak pernah puas, tidak sabar adalah faktor yang mendorong terjadinya faktor resiko.

2. Faktor Lingkungan

a. Kebiasaan merokok

Studi di Amerika dan Inggris menunjukkan bahwa pria dengan kebiasaan merokok memiliki resiko meninggal lebih besar dengan serangan jantung. Pada waktu menghisap rokok, nikotin menyebabkan ekskresi katekolamin dalam darah meningkat terjal. Hal ini dapat meningkatkan denyut jantung dan tekanan darah, serta konstriksi pembuluh darah perifer. Pada beberapa penelitian rokok juga dapat meningkatkan kadar kolesterol LDL dan menekan HDL.

b. Aktifitas Fisik

b. Aktifitas Fisik

Suatu hipotesis menyatakan bahwa aktifitas fisik akan meningkatkan konsentrasi HDL sehingga dapat mencegah resiko penyakit jantung, namun hal ini baru sebatas teori saja.

c. Stres

Stres menyebabkan saraf simpatis dipacu setiap waktu dan adrenalin meningkatkan dalam tubuh. Tekanan darah meningkat bersamaan dengan meningkatnya kadar kolesterol dalam darah. Hal ini pada akhirnya akan membebani jantung dan merusak pembuluh darah koroner, sehingga meningkatkan faktor resiko (4,17).

III.5 Kedelai

Dilihat dari segi pangan dan gizi kedelai merupakan sumber protein yang paling murah di dunia. Berbagai varietas kedelai yang ada di Indonesia mempunyai kadar protein 30,53 % sampai 44 % sedangkan kadar lemaknya 7,5% sampai 20,9 % (25).

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, kedelai diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Polypetales

Marga	: Leguminosae
Jenis	: Glycine
Spesies	: <i>Glycine max</i> (L) Merill

Kedelai dikenal sebagai sumber protein dan lemak yang murah. Namun demikian, meskipun murah kandungan protein dan lemak kedelai memiliki kualitas yang baik. Kedelai perlu diproses menjadi berbagai jenis produk olahan, sehingga dapat memberikan nilai tambah sebagai makanan. Penggunaan kedelai secara tradisional antara lain kedelai muda dalam polong, biji kedelai utuh, tahu, tempe, tepung kedelai, dan kecap. Perkembangan terbaru adalah menggunakan kedelai sebagai makanan fungsional, dimana aplikasi ini terkait dengan komponen aktif selain zat gizi yang terdapat pada kedelai, seperti senyawa isoflavon. Kedelai telah dilaporkan memiliki manfaat kesehatan, seperti menurunkan resiko jantung, mencegah osteoporosis dan menurunkan resiko kanker (19).

III.6 Tempe sebagai makanan fermentasi

Teknologi fermentasi merupakan salah satu upaya untuk memanfaatkan bahan-bahan menjadi produk yang lebih bernilai. Lebih lanjut lagi kemajuan-kemajuan yang dicapai di bidang teknologi fermentasi telah memungkinkan untuk memproduksi berbagai jenis produk yang sulit diproduksi melalui proses kimia. Teknologi fermentasi mempunyai cakupan bidang yang luas, yaitu mulai dari teknik produksi makanan fermentasi, minuman beralkohol, produksi biomassa (inokulum, protein sel tunggal), produksi asam-asam organik, asam-

asam amin, enzim, antibiotika, dan sebagainya sampai pada teknik penanganan limbah. Berbagai jenis makanan dan minuman yang diproduksi melalui proses fermentasi telah lama dikenal dan digemari. Di Indonesia, tempe kedelai merupakan jenis makanan hasil proses fermentasi yang sangat digemari karena memiliki cita rasa yang khas dan relatif murah harganya (14).

Sebuah penelitian juga menyebutkan bahwa kedelai lebih sulit tercemar oleh aflatoxin dibanding komoditas pertanian lainnya. Disebutkan bahwa adanya zat, seperti zink pada kedelai, membuat sintesa aflatoxin terhambat. Karenanya, jelas bahwa makanan tempe lebih aman dari 'gangguan' aflatoxin.

Kandungan gizi tempe juga mampu bersaing dengan sumber protein yang berasal dari bahan makanan lain, seperti daging, telur dan ikan.

Yang menarik, dengan kalorinya yang relatif rendah, 149 kal per 100 gram, tempe membantu orang yang sedang diet rendah kalori. Dan dengan kandungan karbohidratnya yang 12,7 gram tempe sangat cocok tempe sangat cocok untuk dikonsumsi para penderita diabetes karena mengandung gula.

Beberapa literatur juga menyebutkan, masyarakat yang biasa mengkonsumsi tempe, jarang terkena penyakit saluran pencernaan karena kandungan seratnya (diety fiber) mencapai 7,2 gram per 100 gram. Tempe termasuk bahan makanan yang mengandung vitamin B kompleks, di antaranya vitamin B-12 yang berfungsi untuk pembentukan butir darah merah (23).

III.6.1 Proses Fermentasi Tempe

Dalam fermentasi tempe, kacang kedelai sebagai bahan baku mula-mula direndam selama beberapa jam sampai kulitnya mengelupas, setelah kulitnya terkelupas kedelai direbus, kemudian didinginkan dan ditambahkan ragi atau inokulum tempe (18).

Kapang dari jenis *Rizophus* merupakan organisme terpenting dalam fermentasi tempe. Dari spesies *Rhizophus* yang memegang peranan penting dalam fermentasi tempe ialah *R. Oryzae* dan *R. Oligosporus*. Dalam pembuatan tempe kedua spesies ini sebaiknya dicampur dimana perbandingan *R. Oryzae* dan *R. Oligosporus* 1:2, dimana miselium *R. oryzae* lebih panjang daripada *R. Oligosporus*, sehingga tempe yang dihasilkan tampak lebih padat dan kompak, sedangkan *R.Oligosporus* memberikan nilai gizi lebih dengan mensintesa lebih banyak enzim protease (14).

Selama proses fermentasi, kapang tempe akan tumbuh dengan cepat dan suhu biasanya akan meningkat 5-7°C di atas suhu inkubator. Setelah fermentasi berlangsung 72 jam, total padatan meningkat dari 0,5% menjadi 2,5%, pH meningkat dari 5 menjadi lebih dari 7. Kapang tempe memiliki aktivitas lipopolitik yang tinggi, yaitu menghidrolisis lebih dari 1/3 kandungan lemak kedelai, setelah 72 jam fermentasi pada suhu 37°C. setelah 69 jam proses fermentasi, kandungan asam lemak tempe meningkat dan asam linoleat merupakan asam lemak yang

dominan, diikuti oleh asam oleat, selain itu selama proses fermentasi kandungan asam amino bebas akan meningkat (14).

III.6.2 Kandungan Gizi Tempe

Keistimewaan tempe antara lain kandungan proteinnya cukup tinggi dalam 100 gram tempe segar terkandung protein 10,9 gram protein. Kebutuhan protein orang dewasa, untuk pria 56 gram per hari dan wanita 46 gram perhari. Jadi, dengan mengkonsumsi tempe 100 gram per hari 20-25% kebutuhan protein sudah terpenuhi. Adapun asal tempe yang dapat diserap dan dimanfaatkan tubuh mencapai 56% (18).

Kandungan lemak tempe juga cukup tinggi, yaitu 6,8 gram lemak dalam 100 gram tempe segar. Namun tempe mempunyai keunikan, yaitu menghasilkan enzim lipase, yang mampu menguraikan lemak menjadi asam lemak esensial, seperti linoleat (asam lemak omega-6), linolenat (asam lemak omega-3), dan oleat. Asam lemak ini merupakan komponen membran sel dan molekul sumber energi. Dimana peranan omega-3 antara lain dapat mengurangi risiko penyumbatan arteri koronari, meningkatkan HDL, dan memperlancar sirkulasi darah (18).

Kadar karbohidrat tempe relatif rendah, sekitar 9,% dan tidak mengandung gula. Selain itu dalam 100 gram tempe hanya terdapat 157 kalori, relatif rendah jika dibandingkan dengan makanan lain. Dengan

demikian tempe merupakan makanan yang cocok bagi penderita diabetes, orang yang diet kalori rendah (18).

Tempe kaya akan vitamin seperti tiamin (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), vitamin B12, dan vitamin E. Di mana peranan tiamin antara lain dalam mengubah karbohidrat menjadi energi, menjaga daya kerja jantung dan sistem saraf. Peranan riboflavin ialah dalam pelepasan energi dan makanan, memperbaiki jaringan yang rusak, serta untuk pertumbuhan dan perkembangan sel. Peranan pridoksin ialah dalam metabolisme amino dan pembentukan protein termasuk hemoglobin. Peranan niasin ialah untuk metabolisme glukosa dan metabolisme energi (18). Niasin membentuk molekul dengan kolesterol dalam darah yang tidak dapat diserap dan diekskresikan melalui feses. Di dalam tubuh, asam nikotinat dibentuk dari triptofan, tetapi hanya terbentuk sejumlah 60% sehingga masih diperlukan dalam bentuk aslinya. Dalam tempe mengandung 1,4 mg asam nikotinat (1). Peranan vitamin B12 bekerjasama dengan asam folat dalam memproduksi sel darah merah. Peranan vitamin E antara lain melindungi dinding sel dari kerusakan, menghambat penuaan sel, dan memperbaiki sistem pertahanan tubuh (18).

Beberapa mineral yang terkandung dalam tempe antara lain kalsium (Ca), yang berfungsi untuk pembentukan tulang dan gigi,

pembekuan darah, dan aktivitas otot serta sel saraf. Fosfor (P), zat besi (Fe) (18).

Secara keseluruhan zat aktif yang terdapat dalam tempe yang berperan dalam memerangi kolesterol jahat ialah asam lemak omega-3, omega-6, serat, niasin (18). Tempe juga mengandung β -sitosterol yang bersifat hipokolesteremik di mana sitosterol membentuk molekul dengan kolesterol yang tidak dapat diserap oleh alat pencernaan, juga mengurangi kolesterol yang bersifat endogen dengan jalan mengikatnya dan diekskresikan melalui alat pencernaan. Kandungan isoflavon Genistein dan Diadzein yang berguna dalam fungsi biologi tubuh. Isoflavon berguna untuk menghambat pertumbuhan sel kanker dan mempunyai efek antioksidan. Efek antioksidan penting untuk mencegah oksidasi partikel lipid, terutama LDL karena oksidasi LDL merupakan sentral dari pembentukan aterosklerosis, sehingga isoflavon mungkin bermanfaat dalam melawan aterogenensis pada manusia dan mengurangi kontribusi terjadinya aterosklerosis. Anderson pada tahun 1998 telah melakukan penelitian dan telah dipublikasikan dalam American Journal For Clinical Nutrition tahun 1999 memang membuktikan bahwa isoflavon mempunyai efek antioksidan secara in vitro. Isoflavon mencegah terjadinya luka endotel, suatu kerusakan permukaan dinding pembuluh koroner, bahkan sekaligus

memperbaikinya, dengan cara membersihkan radikal bebas dalam darah dan mengikis endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah koroner (4,20).

III.7 Minyak Goreng

Minyak goreng adalah minyak yang telah mengalami proses pemurnian yang meliputi *degumming*, netralisasi, pemucatan dan deodorisasi. Secara umum komponen utama minyak yang sangat menentukan mutu minyak adalah asam lemaknya karena asam lemak menentukan sifat kimia dan stabilitas minyak (24).

Warna yang dimiliki minyak goreng dapat bervariasi karena terdiri atas berbagai pigmen. Warna minyak merah orange atau kuning biasanya disebabkan adanya pigmen karotenoid yang larut dalam minyak tersebut. Karena karotenoid merupakan senyawa yang banyak ikatan tidak jenuhnya, selama proses hidrogenasi juga akan terjadi pengurangan atau pelunturan warna. Warna menjadi semakin terang, yaitu menjadi semakin jernih. Penjernihan warna dapat dilakukan dengan *steaming* (pemberian uap panas ke dalam minyak) karena pigmen tersebut bersifat tidak tahan panas.

Minyak goreng yang dihasilkan dari bahan yang berbeda mempunyai stabilitas yang berbeda pula karena stabilitas minyak goreng dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain derajat ketidak jenuhan asam lemak yang dikandungnya, penyebaran ikatan rangkap, dan bahan-bahan pembantu yang

dapat mempercepat atau menghambat proses kerusakan. Bahan pembantu tersebut terdapat secara alami atau sengaja ditambahkan.

III.7.1 Minyak Kelapa

Minyak kelapa adalah minyak yang diperoleh dari kopra (daging kelapa yang dikeringkan sampai kadar air sekitar 2,5 – 6 %). Kopra mengandung 66,0 – 74,0 % minyak, 17,0 – 20,0 % karbohidrat, 4,5 – 7,5 % protein, 2,5 – 6 % air, 4,5 – 6 % serat kasar, dan 2,3 – 3,5 % abu sehingga merupakan bahan penghasil minyak terbesar di antara biji-bijian yang lain (24).

Minyak kelapa mempunyai karakteristik bau yang spesifik, warna putih jernih atau kekuningan dan berbentuk cair pada suhu 24 – 26°C. Sifat-sifatnya dipengaruhi oleh jenis tanaman, musim, metode ekstraksi dan pemurnian yang diterapkan. Bau yang spesifik banyak berhubungan dengan adanya sejumlah kecil (< 150 ppm) δ dan γ -lakton sebagai hasil reaksi oksidasi (24).

Minyak kelapa tersusun atas triasilgliserol (84 – 93,1 %) sebagai unsur utama dan 1,2-diasilgliserol (1,5 – 5,1 %), 1,3-diasilgliserol (1,2 – 2,1 %), monogliserida (1,0 – 7,0 %), asam lemak bebas (1,0 – 1,26 %), fosfolipid (0,03 – 0,4 %), glikolipid (0,2 – 0,35 %), dan sterol (0,1 %) sebagai unsur minor (24).

Nilai gizi minyak kelapa selain ditentukan oleh kandungan asam lemaknya, sering juga dipengaruhi oleh faktor-faktor penentu

mutu minyak dikatakan bermutu baik jika jumlah asam lemak bebasnya sampai 3 %, bahan-bahan tidak tersabunkan kurang dari 9,5 %, bilangan peroksida maksimal 2 dan tidak mengandung unsur besi lebih dari 2 ppm dan tembaga 0,2 ppm (24).

III.7.2 Minyak Kelapa Sawit

Minyak sawit diperoleh melalui proses ekstraksi (secara rendering atau pengepresan atau pelarutan) dan pemurnian (pengendapan dan pemisahan gum, netralisasi, pemucatan dan deodorisasi). Secara umum minyak sawit yang dihasilkan mempunyai karakteristik warna kuning pucat sampai oranye tua, aroma yang menyenangkan (sedap), stabil dan resisten terhadap ketengikan, dan mempunyai sifat fisikokimia yang bagus (24).

Secara kuantitatif minyak sawit mengandung 96,2 % lipid netral, 2,4 % fosfolipid, 1,4 % glikolipid dan juga mengandung fraksi tak tersabunkan yang kaya akan karotenoid dan tokoferol, beberapa sterol, lilin dan hidrokarbon. Karotenoid dapat berfungsi sebagai provitamin A dan antioksidan, sedangkan tokoferol mempunyai aktivitas sebagai vitamin E dan juga antioksidan (24).

III.8 Analisis Kolesterol

Reaksi warna dari kolesterol pertama kali dikemukakan oleh Lieberman pada tahun 1885. kemudian, Burchard melaporkan bahwa warna biru-hijau yang lebih intensif dihasilkan bila asam asetat anhidrat dan asam sulfat

ditambahkan ke dalam larutan kolesterol dalam kloroform. Sejak saat itu, reaksi Lieberman-Burchard ini digunakan secara luas sebagai reaksi kolorimetri untuk penentuan kadar kolesterol cairan biologis. Metode klasik Lieberman-Burchard ini memakan waktu banyak dan kekurangan lain dari metode ini ialah karena kolesterol ester dan kolesterol bebas tidak menghasilkan intensitas warna yang sama (21).

Kolesterol dan sterol-sterol lain dalam jaringan terdapat sebagai campuran alkohol bebas dan ester asam lemak rantai panjangnya. Prosedur penentuan kandungan kolesterol dalam suatu sampel meliputi pengukuran kedua senyawa tersebut secara terpisah atau kolesterol total. Umumnya dilakukan ekstraksi dengan pelarut-pelarut organik, seperti petroleum eter, kloroform, atau isopropil alkohol, dapat pula dilakukan pengendapan kolesterol bebas dengan penambahan volume yang sama digitonin (1g/l dalam etanol 95%), endapan dapat dicuci dengan aseton sebelum kolesterol dipecah dari kompleksnya dengan penambahan asam asetat glasial, asam asetat anhidrat atau piridin. Meskipun metode kuantitatif untuk penentuan kolesterol akan mengukur kolesterol total dan dapat dilakukan secara langsung terhadap ekstrak pelarut organik, diperlukan tahap hidrolisis ester baik dengan cara merefluks dengan 1,0 mol/L KOH dalam etanol 95% atau dengan pemutusan secara enzimatik menggunakan kolesterol ester hidrolase. Tetapi tidak semua tahap tersebut dilakukan dalam semua prosedur. Penentuan kolesterol total dan

kolesterol bebas dengan pereaksi besi (III) klorida dilakukan dengan mereaksikan kolesterol dalam alikuot pelarut ekstraksi (22).

Pereaksi 0-ftaldehid untuk pemeriksaan kolestreol dpat pula digunakan untuk sampel-sampel biologi dan mempunyai bebrapa keuntungan dibandingkan dengan pemakaian pereaksi besi (III) klorida, yaitu lebih mudah dibuat, pembentukan warnanya lebih cepat dan sempurna, serta warna tersebut stabil dan tidak sensitif terhadap cahaya. Keuntungan lainnya ialah pereaksi tersebut relatif lebih spesifik untuk kolesterol (23).

Pengukuran kolesterol dapat pula dilakukan dengan metode reaksi enzimatik. Prinsip penentuannya adalah hidrolisa terhadap kolesterol dalam bentuk ester dengan bantuan enzim kolesterase mementuk kolesterol bebas dan asam lemak bebas. Selanjutnya oksidasi kolesterol bebas yang dikatalisis oleh enzim kolesterol oksidase membentuk 4-kolestan-3-on dan hydrogen peroksida, dan dengan adanya indikator akan embentuk senyawa berwarna yang dapat ditentukan secara fotometri (22).

BAB IV

PELAKSANAAN PENELITIAN

IV.1 Alat dan Bahan

IV.1.1 Alat-alat yang digunakan

1. Blender
2. Freeze dryer
3. Gelas ukur
4. Gelas piala
5. Inkubator
6. Kompor Listrik
7. Labu Erlenmeyer 50 ml
8. Mikropipet (Soccorex)
9. Neraca Analitik (Chyo)
10. Penangas air
11. Rak tabung
12. Sentrifus
13. Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu UV)
14. Tabung reaksi
15. Termometer
16. Vibrator

IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan

1. Air Suling
2. Asam asetat Glasial p.a (E-merck)
3. Asam sulfat pekat p.a (E-merck)
4. Etanol 98% p.a (E-merck)
5. Hexan p.a (E-merck)
6. Kacang kedelai
7. Kalium Hidroksida (E-merck)
8. Kolesterol p.a (E-merck)
9. O-ftaldehid (E-merck)
10. Ragi Tempe (LIPI, Bandung)
11. Minyak Goreng Curah
12. Minyak Goreng Kemasan

IV.2 Penyiapan Alat dan Bahan

IV.2.1 Penyiapan Alat

Alat-alat yang digunakan dicuci dengan detergen lalu dibilas dengan air suling, kemudian dikeringkan.

IV.2.2 Pembuatan Tempe (8)

Kedelai bersih direbus selama 30 menit, kemudian direndam dalam air rebusan selama 22 jam, dicuci dan kulit dipisahkan, kemudian direbus lagi selama 40 menit. Setelah direbus, ditiriskan dan didinginkan. Selanjutnya diinokulasikan dengan ragi tempe produksi

Koperasi Bina Kimia, LIPI Bandung, lalu dibungkus dengan kain saring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar. Setelah diinkubasi, dipindahkan kedalam kantong plastik berlubang dan diinkubasi selama 14 sampai 16 jam.

IV.2.3 Pengolahan sampel

Tempe yang telah jadi diiris-iris kemudian dibagi untuk dua perlakuan. Perlakuan pertama digoreng menggunakan minyak goreng curah biasa, di mana minyak digunakan untuk tiga kali penggorengan. Perlakuan kedua digoreng menggunakan minyak goreng kemasan, yang juga digunakan untuk tiga kali penggorengan.

IV.2.4 Liofilisasi sampel

Tempe yang telah digoreng sebanyak 150 g dihaluskan (diblender) dengan air suling perbandingan 1 : 1 kemudian disaring untuk memisahkan filtrat dan residunya. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian dibekukeringkan (diliofilisasi) dengan Freeze dryer, menghasilkan serbuk hasil liofilisasi tempe goreng sebanyak $\pm 4,4$ g.

IV.3 Pembuatan Kurva Standar Kadar Kolesterol

Dibuat larutan stok standar dengan cara memipet 0,2 ml larutan kolesterol (dibuat dengan cara melarutkan 2 mg kolesterol dalam 2 ml etanol 96%) dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup, kemudian ditambahkan

0,6 ml KOH 33% dan 6 ml etanol 96% dan tabung ditutup, kemudian dikocok dan disimpan dalam tangas air suhu 60°C selama 15 menit, setelah didinginkan ditambahkan 5 ml heksan kedalam tabung dan dikocok. Ditambahkan 3 ml air suling kemudian tabung ditutup dan dikocok kembali selama 2 menit sampai tercampur sempurna. Lapisan heksan yang diperoleh digunakan sebagai larutan standar. Dipipet masing-masing 100 µl, 150 µl, 200 µl, 250 µl, 300 µl, dan 350 µl lapisan heksan dan dimasukkan kedalam tabung uji, kemudian pelarut diuapkan. Setelah menguap ditambahkan 2 ml larutan O-ftaldehid (larutan 0,05% O-ftaldehid dalam asam asetat glasial). Larutan dikocok hingga tercampur sempurna. Setelah 10 menit ditambahkan 1 ml H₂SO₄ pekat dan larutan dikocok dengan vibrator tabung. Setelah 90 menit penambahan H₂SO₄ pekat, lalu dilakukan pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS dan absorbansi dibaca pada 580 nm, kemudian dibuat kurva standar, dimana absis adalah jumlah kolesterol dan ordinat adalah nilai absorbansi.

IV.4 Penentuan Kondisi Penurunan Kadar Kolesterol

Serbuk hasil liofilisasi sebanyak 45 mg, disusupensikan ke dalam 2 ml larutan kolesterol etanol (dibuat dengan melarutkan 1mg kolesterol dalam 10 ml etanol 60%). Campuran tersebut dikocok dan diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1 jam, kemudian disentrifus pada 4000 rpm selama 5 menit. Kolesterol yang tidak terikat oleh tempe dalam supernatan ditentukan berdasarkan metode Rudel Morris.

IV.5 Pengukuran Sampel

Penentuan kolesterol yang tidak terikat ditentukan dengan metode Rudel Morris, yaitu 0,2 ml supernatan ditambahkan 0,6 ml KOH 33% dan 6 ml etanol 96% dalam tabung tertutup dan dicampur sempurna. Tabung ditutup kemudian disimpan dalam tangas air suhu 60°C selama 15 menit. Setelah didinginkan, ditambahkan 5 ml heksan ke dalam tabung dan dikocok sampai tercampur sempurna, kemudian ditambah 3 ml air suling, dan dikocok kembali selama 2 menit sampai tercampur sempurna. Lalu 2 ml lapisan heksan dipipet ke dalam tabung uji, pelarut diuapkan. Ditambahkan 2 ml larutan O-ftaldehid (larutan 0,05% O-ftaldehid dalam asam asetat glasial). Larutan dikocok hingga tercampur sempurna. Setelah 10 menit ditambahkan 1 ml H₂SO₄ pekat dan larutan dikocok dengan vibrator tabung. Absorbansi dibaca pada 580 nm setelah 90 menit penambahan H₂SO₄ pekat. Digunakan kurva standar untuk menentukan konsentrasi kolesterol yang tidak terikat.

IV.6 Perhitungan Persentase Penurunan Kolesterol

Perhitungan ditentukan dengan menggunakan rumus :

$$A = \frac{C - B}{C} \times 100\%$$

Dimana A = % penurunan kolesterol

B = Jumlah rata-rata kolesterol dalam supernatan setelah perlakuan

C = Jumlah rata-rata koesterol awal (dalam supernatan pada kontrol)

IV.7 Analisa data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan rancangan acak lengkap (faktorial).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1 Hasil Penelitian

Dari hasil pengukuran pengaruh variasi jenis minyak goreng terhadap penurunan kadar kolesterol diperoleh data sebagai berikut :

Jumlah Kolesterol Awal (μg)	Penggunaan Minyak Goreng		Jumlah Penurunan	
			(μg)	(%)
200	Kemasan	Pemakaian I	149,263	56,95
200		Pemakaian II	133,713	51,01
200		Pemakaian III	115,739	44,16
200	Curah	Pemakaian I	135,238	51,59
200		Pemakaian II	122,05	44,66
200		Pemakaian III	104,413	39,85

V.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan uji in vitro penurunan kadar kolesterol oleh tempe goreng hasil fermentasi ragi (LIPI). Tempe, merupakan makanan khas Indonesia. Hasil fermentasi *Rhizopus oligosporus* itu, kini semakin banyak diminati orang. Senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam tempe, sangat baik untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah.

Kedelai merupakan bahan dasar dalam fermentasi tempe, di mana kedelai yang mengandung zat yang disebut beta sitosterol dan niasin mampu menurunkan kolesterol total dan LDL serta menaikkan HDL (Baraas,1994).

Selain itu protein kedelai yang kaya akan isoflavon dapat meningkatkan aktivitas reseptor –LDL kolesterol (Abbey,2000).

Mekanisme kerja sitosterol dan niasin adalah dengan membentuk molekul dengan kolesterol yang tidak dapat diserap oleh pencernaan, juga mengurangi kolesterol yang bersifat endogen dengan jalan mengikatnya dan diekskresikan melalui alat pencernaan. Penelitian Zilliken menemukan bahwa isoflavon mempunyai sifat anti oksidan, anti adrenalin, anti inflamasi, dan anti aritmia yang mencegah terjadinya denyut jantung yang tidak teratur dan mencegah terjadinya luka endotel dan mampu mengikis endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah koroner (Sitopoe, 1993).

Tempe mengandung beberapa komponen kimia yang mampu menurunkan kadar kolesterol, yaitu kandungan niasin, beta-siosterol, isoflavon, dan asam lemak omega-3 (Baraas,1994; Afia,2000; Stihati,2001), dan dengan adanya pemanasan berupa penggorengan akan menyebabkan terurainya ataupun rusaknya komponen kimia khususnya komponen kimia yang berperan dalam menurunkan kadar kolesterol dan hal ini ditunjukkan oleh berkurangnya kemampuan tempe goreng dalam menurunkan kadar kolesterol.

Pada penelitian ini digunakan dua jenis minyak goreng yang beredar di pasaran, yaitu minyak goreng curah dan minyak goreng kemasan. Masing-masing minyak goreng ini digunakan untuk tiga kali pemakaian. Dari hasil penelitian diperoleh data penurunan kadar kolesterol yaitu untuk tempe yang digoreng menggunakan minyak goreng kemasan pemakaian pertama 56,95 %;

kedua 51,01 %; dan ketiga 44,16 %. Sedangkan untuk tempe yang digoreng menggunakan minyak goreng curah pemakaian pertama diperoleh penurunan kadar kolesterol sebesar 51,59 %; kedua 44,66 %; dan ketiga 39,85 %. Menurut penelitian Herlyna (2002) tempe tanpa pemanasan sebanyak 45 mg memberikan penurunan kadar kolesterol sebesar 99,15%. Dengan demikian terlihat bahwa ada pengaruh penggunaan minyak goreng yang bervariasi dan pengulangan pemakaian minyak goreng terhadap kemampuan tempe dalam menurunkan kolesterol.

Data tersebut di atas menunjukkan bahwa tempe yang digoreng menggunakan minyak goreng yang telah digunakan berulang kali akan menyebabkan berkurangnya kemampuan tempe dalam menurunkan kadar kolesterol. Minyak yang telah dipanaskan secara berulang, maka proses destruksi minyak akan bertambah cepat. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya kadar peroksida pada tahap pendinginan dan akan mengalami dekomposisi jika minyak tersebut dipanaskan kembali. Peroksida akan membentuk persenyawaan lipoperoksida secara non enzimatis dalam otot usus dan mitokondria. Lipoperoksida dalam aliran darah mengakibatkan denaturasi lipoprotein yang mempunyai kerapatan rendah. Lipoprotein dalam keadaan normal mempunyai fungsi aktif sebagai alat transportasi trigliserida; dan jika lipoprotein mengalami denaturasi, akan mengakibatkan deposisi lemak dalam pembuluh darah (aorta) sehingga menimbulkan gejala atherosklerosis (S. Ketaren;1986). Hasil analisa

statistik dan hasil uji Beda Nyata Terkecil menunjukkan perbedaan secara signifikan antara minyak goreng yang digunakan pertama kali dan minyak goreng pemakaian ketiga yaitu F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel} pada taraf 5 %. Sedangkan minyak goreng pemakaian pertama dan pemakaian kedua tidak memberikan hasil yang berbeda nyata.

Dari hasil analisis secara statistik terlihat penurunan kadar kolesterol secara signifikan pada taraf 5% dimana F_{hitung} lebih besar daripada F_{tabel} , maka H_0 ditolak dan H_1 diterima, artinya ada perbedaan yang signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol oleh tempe yang digoreng dengan variasi minyak goreng yang digunakan. Minyak goreng kemasan diproses dari inti kelapa sawit sedangkan minyak goreng curah diproses dari kopra sehingga kandungan gliserida, kandungan asam lemak bebas, kandungan air dan kotoran, kejernihan dan bilangan peroksida dari dua jenis minyak goreng tersebut juga berbeda. Hal ini mempengaruhi kemampuan tempe yang digoreng menggunakan jenis minyak yang bervariasi dalam menurunkan kolesterol.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, analisa statistik dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Proses pemanasan berupa penggorengan pada tempe mempengaruhi kemampuan tempe dalam menurunkan kadar kolesterol secara *in vitro*, dimana pada penggunaan minyak goreng kemasan pemakaian pertama, kedua dan ketiga masing-masing memberikan persentase penurunan sebesar 56,95 %; 51,01 % dan 44,16 %. Sedangkan penggunaan minyak goreng curah pemakaian pertama, kedua dan ketiga masing-masing memberikan persentase penurunan sebesar 51,59 %; 44,66 % dan 39,85 %.
2. Perbedaan jenis minyak goreng yang digunakan memberikan hasil yang berbeda nyata terhadap kemampuan tempe dalam menurunkan kadar kolesterol secara *in vitro*.
3. Penggunaan minyak goreng yang telah digunakan tiga kali penggorengan memberikan hasil yang berbeda nyata, sedangkan penggunaan minyak goreng yang telah digunakan dua kali penggorengan memberikan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap kemampuan tempe dalam menurunkan kadar kolesterol secara *in vitro*.

VI.2 Saran

Dengan melihat besarnya pengaruh pengolahan menggunakan pemanasan terhadap kemampuan tempe dalam menurunkan kolesterol maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang cara pengolahan yang baik untuk memperoleh hasil yang maksimal.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sitopoe, M., (1993), "Kolesterol Fobia", Keterkaitannya dengan Penyakit Jantung", PT. Gramedia, Jakarta, 80
2. Djaya,Z., (2000), "Rahasia Kekayaan Alam Untuk Kesehatan", Edisi II, Billionaires Production, Jakarta, 76
3. Suyatna, F.D., dan Handoko T., (1995), "Hipolipidemik", Dalam Farmakologi dan Terapi, Edisi IV, Editor Ganiswara, S.G., dkk., Bagian Farmakologi, Fak. Kedokteran UI, Jakarta, 364, 371-375
4. Baraas, F., (1994), "Menekan Serangan Jantung dengan Menekan Kolesterol", PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 119
5. Sihombing, J., (1999), "Makanan Enak dan Tetap Sehat", www.kompascybermedia, Jakarta
6. Mayes, P.A., dkk., (1997), "Biokimia Harper", Edisi 24, Diterjemahkan oleh Andry Hartono, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta 26,158, 271, 277
7. Astuti, N.H., (2000), "Mengenal Lipid, Menyiasati Penyakit", www.pdat.co.id/medika
8. Tan, (1990), "Obat-obat Penting dan Khasiatnya", Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 415
9. Pikiran Rakyat Cyber Media, (2002), "Tempe, Makanan Sehat Anti Kolesterol", www.google.com.
10. Speight, T.M., (1987), "Avery's Drug Treatment Principles and Practice of Clinical Pharmacology and Therapeutics", Third Edition, ADIS Press, Aucland, 594-597.
11. Anderson J.W., (1998), "Soy Protein and Risk For Coronary Heart Disease", www.soyfood.com
12. Rahman, A., (1992), "Teknologi Fermentasi", Penerbit Arcan, Jakarta 4, 8,11.
13. Guyton, A.C., (1994), "Buku Ajar Fisiologi Kedokteran", Bagian III, Edisi 7, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 152-154

14. Murray, R.K., dkk., (1987), "Biokimia Harper", Edisi 20, Diterjemahkan oleh Darmawan, Penerbit Buku Kedokteran EGC, 216-230
15. Taylor, K.B.,(1983), "Clinical Nutrition", Mc Graw Hill Book Company, Pennsylvania, 231-240
16. Afia, A., (2000), "Tempe Membuat Awet Muda", www.google.com
17. Tangenjaya, B., (2000), "Teknologi Baru Memenuhi Kebutuhan Kedelai Saat Ini dan Masa Depan", Dalam Prosiding Seminar Manfaat Kesehatan Kedelai, Jakarta, 14
18. Stihati, D.P., "Isoflavon dalam Kedelai Berguna Sebagai Antioksidan", *Kardiovaskuler*, Nomor 71, Tahun VII, Juli 2001, 10
19. Anderson, S.C., (1993), "Clinical Chemistry Concepts and Application", W.B. Saunders Company, Philadelphia, 173, 174
20. Baginski, E.S., and Zak, B., (1970), , "Blood Lipids", In *Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis*, Vol. 1, Edited by Frankel, S., Retman,S., and Sonnenwirth, A.C., The C.V. Mosby Company, St. Louis, 233-244
21. Rudel, L.L., and Morris, M.D., (1973), "Determination of Cholesterol Using o-phtalaldehyde", *Journal of Lipid Research* 14:364-366
22. Iman Soeharto, (2002), "Serangan Jantung dan Stroke", PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
23. Jihan, F. L., (2002), "Tempe", www.satumed.com
24. Winarno, F.G., (1999), "Minyak Goreng Dalam Menu Masyarakat", PT. Balai Pustaka, Jakarta, 32-36, 42-44, 118
25. Koswara, S., (1995), "Teknologi Pengolahan Kedelai menjadi Makanan Bermutu", Pustaka Sinar Harapan, Jakarta, 75 – 76
26. Ketaren, S., (1986), "Minyak dan Lemak Pangan", UI-Press, Jakarta, 250

LAMPIRAN I
KURVA STANDAR ANALISIS KOLESTEROL

Tabel 2. Hasil Perhitungan Kurva Standar Analisis Kolesterol dengan Menggunakan Persamaan Kurva Baku.

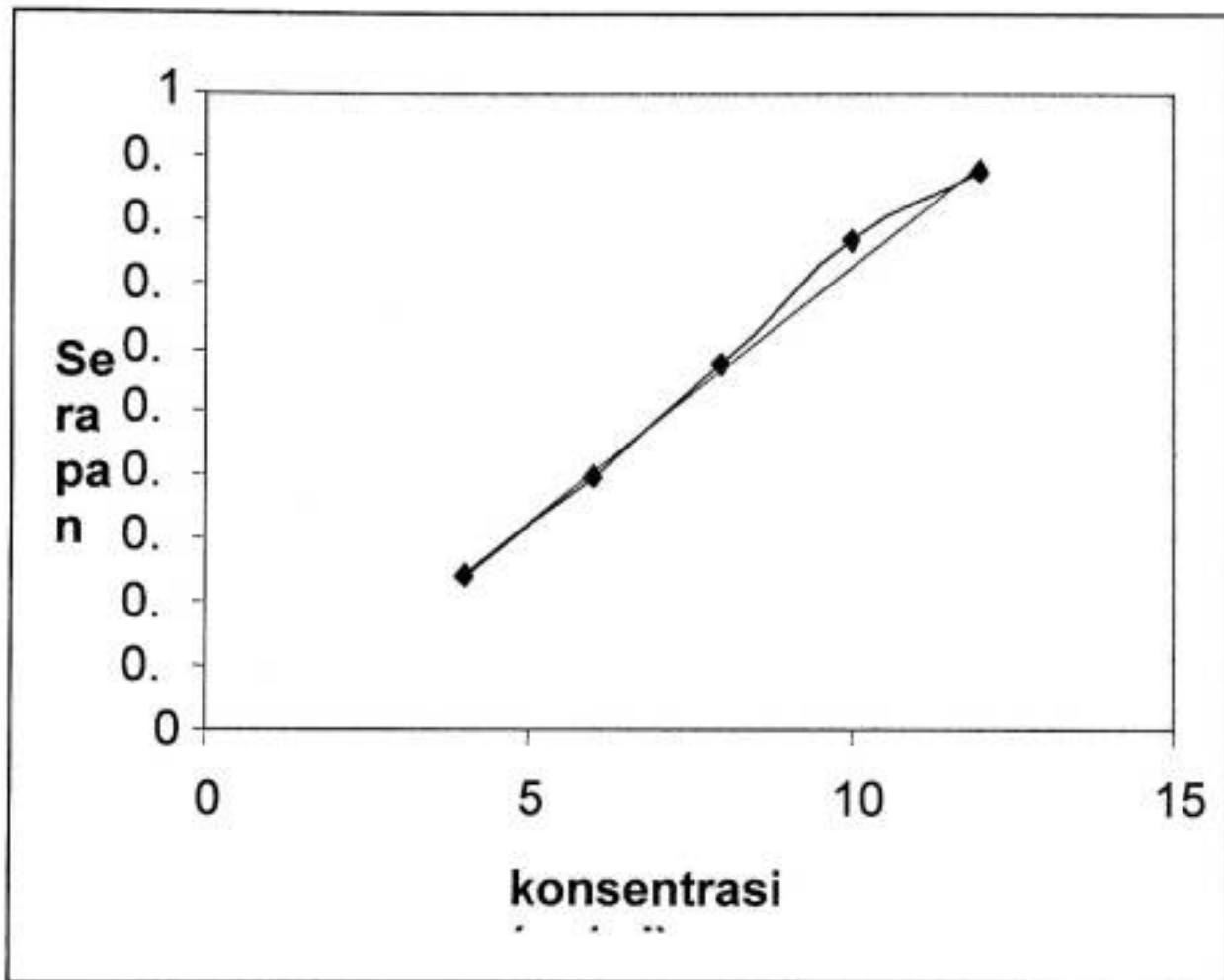
Konsentrasi (μg)	Serapan (A)
4	0,241
6	0,396
8	0,574
10	0,771
12	0,876

Hasil Regresi :

$$y = a + bx$$

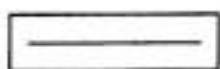
$$y = -0,086 + 0,082 x$$

$$r = 0,996$$

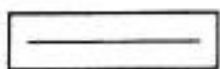


Gambar 1. Kurva Standar Analisa Kolesterol

Keterangan :



= Grafik Serapan Kurva Baku Kolesterol

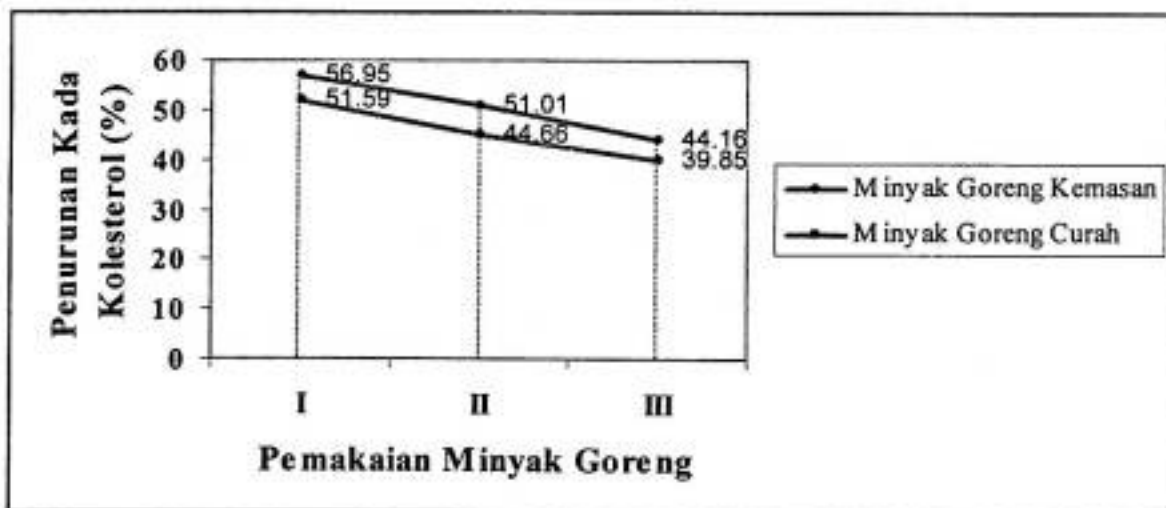


= Grafik Hasil Regresi Kurva Baku Kolesterol

LAMPIRAN II
PENGUKURAN ABSORBAN

Tabel 3. Nilai Absorbansi Penurunan Kadar Kolesterol Oleh Tempe Goreng Pada Variasi Jenis Minyak Goreng.

Perlakuan		Minyak Goreng Kemasan	Minyak Goreng Curah	Total	Rata-rata
Pemakaian I	Replikasi I	0,2717	0,3058	1,2286	0,3072
	Replikasi II	0,2966	0,3545		
Pemakaian II	Replikasi I	0,3257	0,3768	1,4499	0,3625
	Replikasi II	0,3446	0,4028		
Pemakaian III	Replikasi I	0,3672	0,4210	1,6507	0,4127
	Replikasi II	0,4210	0,4415		



Gambar 2. Kurva Hubungan antara Penurunan Kadar Kolesterol oleh Tempe Goreng dengan Variasi Minyak Goreng dengan pemakaian berulang

LAMPIRAN III

PERHITUNGAN PENURUNAN KADAR KOLESTEROL

Tabel 4. Hasil Perhitungan Penurunan Kadar Kolesterol

Perlakuan	ABSORBAN		Xa (µg)	Xk (µg)	Xa x 25 B	Xk x 25 C	X(µg) (C - B)	B _{rata-rata}	C _{rata-rata}
	sampel	Kontrol							
Kemasan I	0,2717	0,7770	4,362	10,524	109,05	263,1	154,05	112,85	262,113
	0,2966	0,7705	4,666	10,445	116,65	261,125	144,475		
Kemasan II	0,3257	0,7770	5,021	10,524	125,525	263,1	137,575	128,4	262,113
	0,3446	0,7705	5,251	10,445	131,275	261,125	129,85		
Kemasan III	0,3672	0,7770	5,527	10,524	138,175	263,1	124,925	146,375	262,113
	0,4210	0,7705	6,183	10,445	154,575	261,125	106,55		
Curah I	0,3058	0,7770	4,778	10,524	119,45	263,1	143,65	126,875	262,113
	0,3545	0,7705	5,372	10,445	134,3	261,125	126,825		
Curah II	0,3768	0,7770	5,644	10,524	141,1	263,1	122,0	145,063	262,113
	0,4028	0,7705	5,961	10,445	149,025	261,125	112,1		
Curah III	0,4210	0,7770	6,183	10,524	154,575	263,1	108,525	157,7	262,113
	0,4415	0,7705	6,433	10,445	160,825	261,125	100,3		
Total								817,263	

Persentase Penurunan Kolesterol Oleh Tempe Goreng

$$A = \frac{C - B}{C} \times 100\%$$

Dimana A = % penurunan kolesterol

B = Jumlah rata-rata kolesterol dalam supernatan setelah perlakuan

C = Jumlah rata-rata koesterol awal (dalam supernatan pada kontrol)

Dari Persamaan regresi diperoleh :

$$y = a + bx$$

$$y = -0,086 + 0,082 x$$

- Minyak goreng kemasan pemakaian I

$$A = \frac{262,113 - 112,85}{262,113} \times 100\% = 56,95\%$$

- Minyak goreng kemasan pemakaian II

$$A = \frac{262,113 - 128,4}{262,113} \times 100\% = 51,01\%$$

- Minyak goreng kemasan pemakaian III

$$A = \frac{262,113 - 146,375}{262,113} \times 100\% = 44,16\%$$

- Minyak goreng curah pemakaian I

$$A = \frac{262,113 - 128,875}{262,113} \times 100\% = 51,59\%$$

- Minyak goreng curah pemakaian II

$$A = \frac{262,113 - 145,063}{262,113} \times 100\% = 44,66\%$$

- Minyak goreng curah pemakaian III

$$A = \frac{262,113 - 157,7}{262,113} \times 100\% = 39,85\%$$

LAMPIRAN IV
PERHITUNGAN STATISTIK

Tabel 5. Perhitungan Statistik Penurunan Kadar Kolesterol (μg) oleh Tempe Goreng Pada Variasi Minyak Goreng dengan Rancangan Acak Lengkap

Perlakuan Replikasi	Jumlah Penurunan (μg)						Jumlah	Rata-rata umum
	Minyak Goreng Kemasan			Minyak Goreng Curah				
	A	B	C	A	B	C		
I	154,05	137,575	124,925	143,65	122,0	108,525		
II	144,475	129,85	106,55	126,825	112,2	100,3		
Total	298,525	267,425	236,475	270,475	234,1	208,825	1515,825	
Rata-rata	149,263	133,713	115,738	135,238	117,05	104,413		126,736

Keterangan :

A = Minyak Goreng Pemakaian Pertama

B = Minyak Goreng Pemakaian Kedua

C = Minyak Goreng Pemakaian Ketiga

Sumber Keragaman (SK) adalah :

1. Perlakuan A (jenis minyak goreng)
2. Perlakuan B (pemakaian berulang minyak goreng)
3. Interaksi A dan B
4. Kesalahan atau galat
5. Total percobaan

Perhitungan Derajat Bebas (DB)

1. DB Perlakuan A = $2 - 1 = 1$
2. DB Perlakuan B = $3 - 1 = 2$
3. DB Interaksi A dan B = 2
4. Kekeliruan / galat = $(2 \times 3) \times (2 - 1) = 6$
5. DB Total = $12 - 1 = 11$

Perhitungan Jumlah Kuadrat (JK)

1. Faktor koreksi

$$F_k = \frac{(1515,825)^2}{12} = 191477,12$$

2. Jumlah Kuadrat Perlakuan A (jenis minyak goreng)

$$\begin{aligned} JK_A &= \frac{\{(298,525 + 267,425 + 236,475)^2 + (270,475 + 234,1 + 208,825)^2\}}{6} - 191477,12 \\ &= 660,45 \end{aligned}$$

3. Jumlah Kuadrat Perlakuan B (pemakaian minyak goreng)

$$\begin{aligned} JK_B &= \frac{\{(298,525 + 270,245)^2 + (267,425 + 234,1)^2 + (236,475 + 208,825)^2\}}{4} - 191477,12 \\ &= 1917,98 \end{aligned}$$

4. Jumlah Kuadrat Interaksi Perlakuan A dan B

$$\begin{aligned} JK_{AB} &= \frac{\{(298,525)^2 + (267,425)^2 + \dots + (208,825)^2\}}{2} - 191477,12 - 660,45 - 1917,98 \\ &= 5,024 \end{aligned}$$

5. Jumlah Kuadrat Total

$$\begin{aligned} JK_{\text{Total}} &= \{(154,05)^2 + (144,475)^2 + \dots + (100,3)^2\} - 191477,12 \\ &= 3156,69 \end{aligned}$$

6. Jumlah Kuadrat Kekeliruan

$$\begin{aligned} JK_{\text{Galat}} &= JK_{\text{Total}} - JK_A - JK_B - JK_{AB} \\ &= 3156,69 - 660,45 - 1917,98 - 5,024 \\ &= 573,24 \end{aligned}$$

Tabel ANAVA

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Rata-rata Kuadrat	F _h	F _t	
					1 %	5 %
Perlakuan A	1	660,45	660,45	6,91	13,7	5,9
Perlakuan B	2	1917,98	958,99	10,04	10,9	5,14
Interaksi A dan B	2	5,02	2,51	0,03	10,9	5,14
Galat	6	573,24	95,54			
Total	11	3156,69				

Keterangan :

F_{hit} > F tabel = signifikan berarti sangat berbeda nyata

F_{hit} > F tabel maka H₀ ditolak , Hipotesa (H₁) diterima, yaitu adanya penurunan kadar kolesterol oleh tempe goreng

Analisis Lanjutan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Rumus :

$$BNT = t_{\alpha/2, N-a} \sqrt{\frac{2 KR Galat}{n}}$$

Keterangan : α = Taraf uji signifikan (5% atau 1%)

N = Banyaknya data dalam rancangan acak lengkap

A = Banyaknya taraf perlakuan

n = Jumlah Perlakuan

$$\begin{aligned} BNT 5\% &= t_{0,025;6} \sqrt{\frac{2 \times 95,54}{2}} \\ &= 2,447 \times 9,7445 \\ &= 23,92 \end{aligned}$$

Hasil Uji BNT

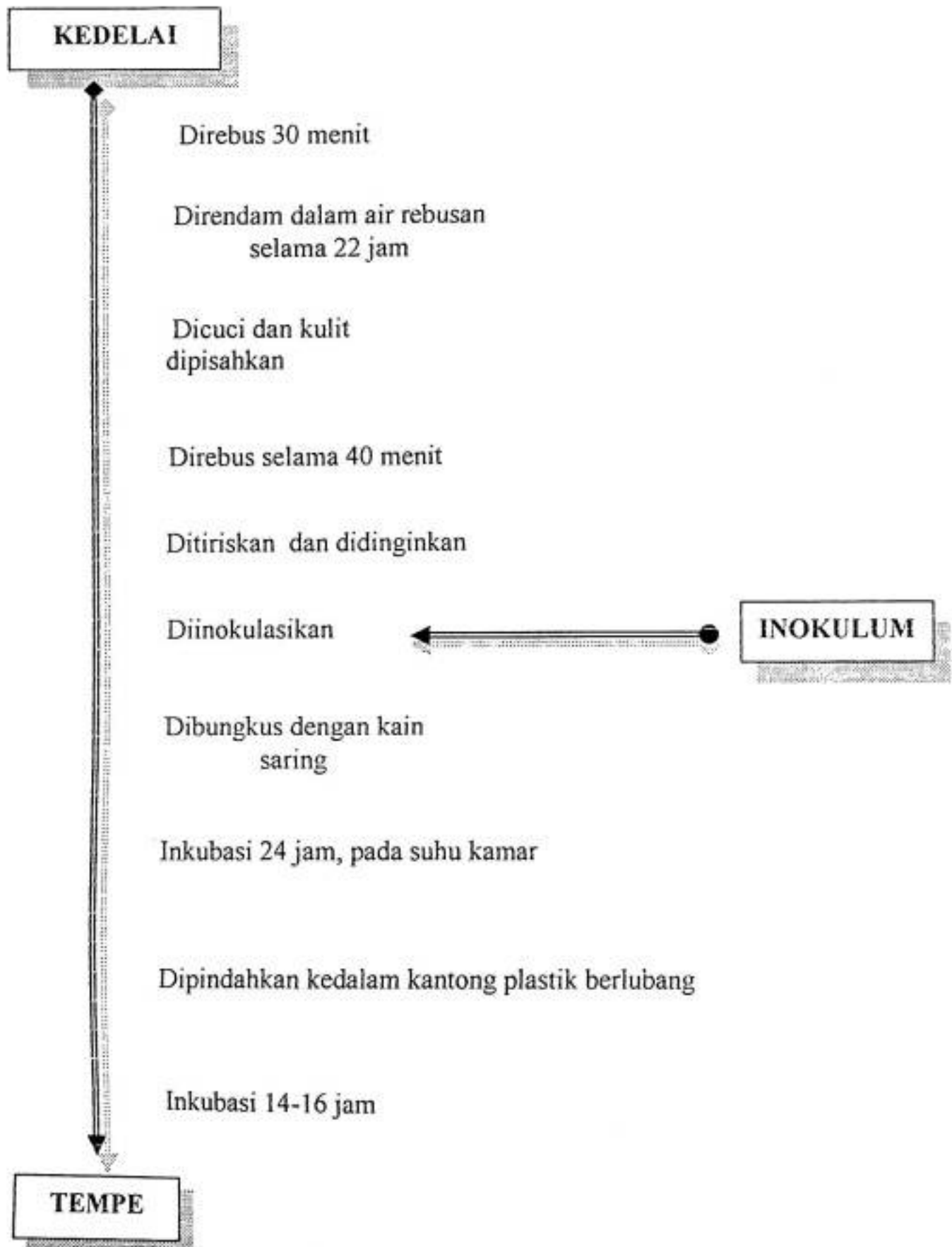
Perlakuan	Pemakaian I (A)	Pemakaian II (B)	Pemakaian III (C)
Rata-rata	142,251	127,882	110,076

Perbandingan antar perlakuan	Selisih	Keterangan
		5%
A - B	14,369	NS
A - C	32,175	S
B - C	17,806	NS

Keterangan : S = Signifikan

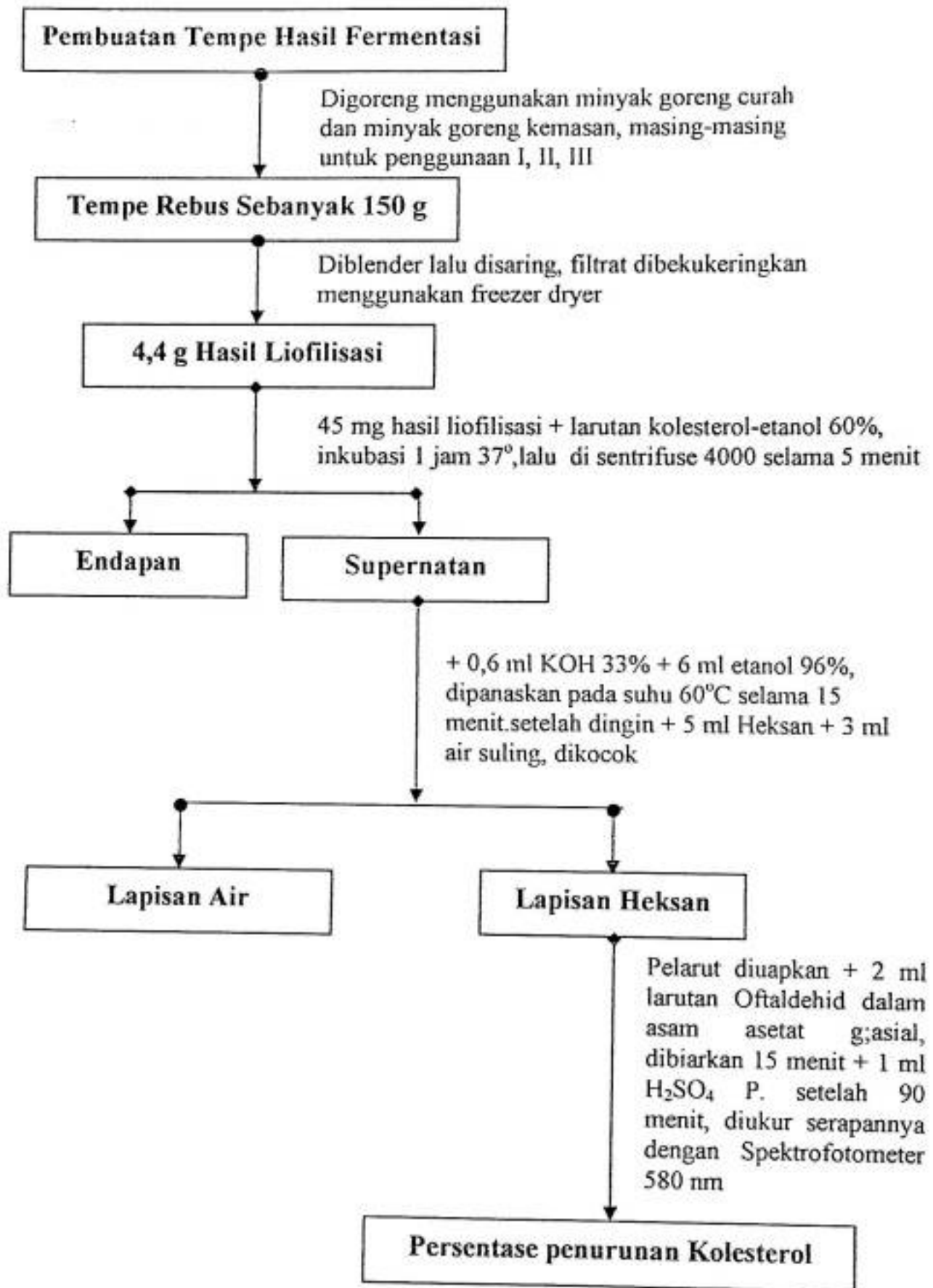
NS = Non Signifikan

SKEMA KERJA PEMBUATAN TEMPE



Gbr 3. Skema Kerja Pembuatan Tempe

SKEMA KERJA UJI IN VITRO PENURUNAN KOLESTEROL



Gbr 4. Skema Kerja Uji In Vitro Penurunan Kolesterol oleh Tempe rebus

**GAMBAR 5 : FOTO SAMPEL
TEMPE DAN TEMPE GORENG**

