

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



OLEH :
MARINI S.
H51198039

PERPUSTAKAAN FISIK UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	09 - 08 - 2004
Asal Dari	Fakult MIPA
Banyaknya	(satu) E.P.
Harga	Sumbangan
No. Inventaris	0408090105
No. ...	23423

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2003

SKRIPSI



OLEH :

MARINI S.

H51198039

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2003

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

**OLEH :
MARINI S.
H51198039**



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

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

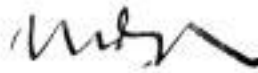
UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2003

**UJI IN VITRO PENURUNAN KADAR KOLESTEROL
OLEH TEMPE REBUS HASIL FERMENTASI RAGI (LIP1)**

Disetujui Oleh
Pembimbing Utama :



Drs. M. Natsir Djide, MS

NIP. 130 785 083



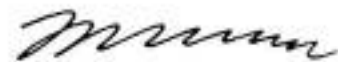
Pembimbing Pertama,



DR. Elly Wahyudin, DEA

NIP. 130 580 783

Pembimbing Kedua,



Drs. Andrew Ollich

NIP. 131 287 214

UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah segala puji penulis panjatkan kehadiran Allah SWT, atas segala Rahmat, Taufiq dan Hidayah-Nya yang begitu besar, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam menyelesaikan program pendidikan sarjana pada Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini melalui proses yang panjang serta penuh dengan perjuangan namun masih jauh dari kesempurnaan. Walaupun demikian penulis sangat mengharapkan sedikitnya skripsi ini dapat menghasilkan sumbangan dan nilai bermanfaat bagi seluruh pembaca, Amin.

Daya upaya penulis tidak akan terwujud tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, untuk itu tak lupa penulis menghaturkan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang tulus kepada :

- Bapak **Drs. M. Natsir Djide, MS** selaku pembimbing utama,
- Ibu **Dr. Elly Wahyudin, DEA** selaku pembimbing pertama
- Bapak **Drs. Andrew Ollich** selaku pembimbing kedua

yang dengan ikhlas telah meluangkan waktunya untuk memberikan perhatian dan bimbingan mulai dari perencanaan, penyusunan, hingga selesainya penelitian ini. Terima kasih pula dengan tulus penulis sampaikan kepada Bapak **Dr. Amran Ilyas Tandjung, M.Sc.**, atas segala perhatian dan nasehatnya selaku orang tua wali selama perkuliahan.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Bapak Dekan Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
3. Bapak dan Ibu Dosen di Fakultas MIPA, Universitas Hasanuddin, khususnya di jurusan Farmasi.
4. Seluruh staf dan karyawan Fakultas MIPA khususnya jurusan Farmasi.

Akhirnya, dengan rasa hormat dan terima kasih yang tak terhingga pantaslah kiranya penulis haturkan kepada :

- ❖ Yang tersayang **Ayah** dan **Bundaku** atas segala cinta, kasih sayang dan doanya yang tiada henti-hentinya yang senantiasa mengiringi perjalanan penulis, dan ananda persembahkan sajian kecil ini, dengan berjuta syukur dan takjub telah dikaruniai orang tua seperti kalian.
- ❖ Kakak-kakakku, **Mini**, **Anto** dan **Patto** atas segala perhatian dan dukungannya .
- ❖ Sahabat-sahabat terbaikku, **Noni**, **Uni**, **Fido**, **Nitha**, **Santi**, **Ode**, **Yuyun**, serta rekan-rekan mahasiswa Farmasi khususnya **angkatan 98'**.

Keberhasilan menuntut kerja keras, tetapi kerja keras saja tidak menjamin keberhasilan (John C. Maxwell), karena adanya keterbatasan tenaga dan kemampuan. Untuk itu saran, kritik dan masukan yang membangun akan selalu penulis harapkan. agar skripsi ini menjadi sesuatu yang berarti bagi pengembangan ilmu farmasi.

Makassar, Juli 2003

Penulis



ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji in vitro pengaruh lama perebusan tempe terhadap penurunan kadar kolesterol dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan tempe yang telah mengalami pemanasan berupa perebusan dalam menurunkan kadar kolesterol secara in vitro. 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 berupa perebusan menyebabkan berkurangnya kemampuan tempe dalam menurunkan kadar kolesterol secara signifikan. Persentase penurunan kolesterolnya adalah sebagai berikut : 10 menit perebusan sebanyak 62,14%, 15 menit perebusan sebanyak 53,49%, dan 20 menit perebusan sebanyak 45,58%. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa kemampuan penurunan kadar kolesterol akan berkurang sesuai dengan lamanya perebusan.

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL.....	i
UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II POLA PENELITIAN	4
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	6
III.1 Kolesterol	6
III.1.1 Biosintesis Kolesterol	7
III.1.2 Pengangkutan Kolesterol	7
III.1.3 Ekskresi kolesterol	9
III.2 Hubungan Antara Kolesterol dan Aterosklerosis	9
III.3 Faktor-faktor Resiko Terjadinya Aterosklerosis	11
III.4 Kedelai	13
III.5 Tempe Sebagai Makanan fermentasi	14

III.5.1 Proses Fermentasi Tempe	15
III.5.2 Kandungan Gizi Tempe	16
III.6 Analisis Kolesterol	19
BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN	21
IV.1 Alat dan Bahan	21
IV.1.1 Alat-Alat yang Digunakan.....	21
IV.1.2 Bahan-Bahan yang Digunakan	22
IV.2 Penyiapan Alat dan Bahan	22
IV.2.1 Penyiapan Alat	22
IV.2.2 Pembuatan Tempe	22
IV.2.3 Perebusan sampel	23
IV.2.4 Liofilisasi Sampel	23
IV.3 Pembuatan Kurva Standar Kolesterol	23
IV.4 Penentuan Kondisi Penurunan Kadar Kolesterol	24
IV.5 Pengujian Penurunan Kadar Kolesterol secara In Vitro ...	24
IV.6 Pengukuran Sampel	24
IV.7 Perhitungan Persentase Penurunan Kolesterol.....	25
IV.8 Analisa Data	25
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	26
V.1 Hasil Penelitian	26
V.2 Pembahasan	26

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	30
VI.1 Kesimpulan	30
VI.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	



DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 1	Jumlah Penurunan Kadar Kolesterol oleh Tempe	26
Tabel 2	Nilai pengukuran serapan Kolesterol oleh Tempe pada Beberapa variasi lama Perebusan.....	35
Tabel 3	Perhitungan Statistik Penurunan Kadar Kolesterol oleh Tempe Rebus pada Berbagai Lama Perebusan	36
Tabel 4	Hasil Perhitungan Kurva Standar Analisis Kolesterol dengan Menggunakan Persamaan Kurva baku	39
Tabel 5	Hasil Perhitungan persentase Penurunan kadar Kolesterol..	40

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Skema Kerja Pembuatan tempe	33
Gambar 2 Skema Kerja Uji In Vitro Penurunan kadar Kolesterol oleh Tempe Rebus	34
Gambar 3 Kurva Hubungan antara Lama Perebusan (menit) dengan Persentase Penurunan Kadar Kolesterol	35
Gambar 4 Kurva Standar Analisis Kolesterol	39
Gambar 5 Foto Sampel	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Skema Kerja Pembuatan Tempe	32
Skema Kerja Uji In Vitro Penurunan Kadar Kolesterol oleh Tempe Rebus	33
Lampiran I Pengukuran Absorban	34
Lampiran II Perhitungan Statistik	35
Lampiran III Kurva Standar Analisis Kolesterol	38
Lampiran IV Contoh Perhitungan Persentase Penurunan Kadar Kolesterol.....	40

BAB I

PENDAHULUAN

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 (1). 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 (2,3).

Penyakit jantung koroner adalah suatu gangguan jantung sebagai akibat kurangnya aliran darah untuk mencukupi kebutuhan otot jantung. Salah satu penyebabnya adalah aterosklerosis atau pengerasan pembuluh darah arteri koroner (20). Pengerasan ini terjadi sebagai akibat penimbunan lemak pada dinding arteri sehingga menyebabkan dinding arteri tersebut mengalami kerusakan (21).

Atherosclerosis (Yunani, *athere* :bubur, *scler* : keras) adalah suatu gangguan dimana arteri-arteri menyempit karena adanya endapan lipida dan kalsium pada bagian dalamnya (ateroma) yang setelah beberapa waktu menyebabkan pengerasan pada dinding arteri tersebut (22).

Pemakaian obat-obatan tidak terlepas dari efek samping. 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 (7,8).

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 (9). Tempe banyak mengandung protein nabati dan juga rendah kolesterol. Suatu zat yang disebut beta sitosterol dalam kacang kedelai mempunyai efek hipokolesterolemik. Mikroorganisme 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 dibanding kacang kedelai. Niasin ini dapat menekan enzim lipoprotein lipase, sehingga produksi VLDL dihati terhambat. Kolesterol total LDL, dan trigliserida pun menurun, sebaliknya HDL justru meningkat (7).

Berdasarkan pada hasil penelitian Herlyna, (2002); tempe mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar kolesterol. Konsentrasi optimum dari tempe untuk menurunkan kadar kolesterol adalah 45 mg sebanyak 99,15%, namun yang menjadi permasalahan, apakah tempe yang telah mengalami pengolahan berupa perebusan masih memberikan efek penurunan kolesterol, mengingat tempe dalam pengolahannya sebagai masakan mengalami proses pemanasan diantaranya berupa perebusan. Sehubungan dengan hal tersebut, maka telah dilakukan penelitian tentang

efek penurunan kolesterol oleh tempe yang telah mengalami proses perebusan dengan beberapa variasi lama perebusan.

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui efek tempe yang telah direbus terhadap penurunan kadar kolesterol secara *in vitro* dengan tujuan memperoleh data ilmiah uji *in vitro* penurunan kadar kolesterol.

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 Freezer drayer.

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 lama perebusan.

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

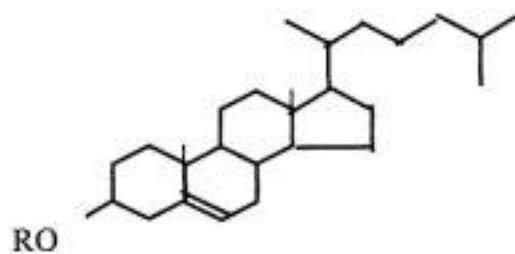
Dari pembahasan hasil diperoleh kesimpulan efek lama perebusan tempe terhadap kemampuannya dalam menurunkan kolesterol.

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 (2).



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 (2).

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 (2).

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 (2,11).

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

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 (4).

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 elemem-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 (5,10).



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 (10).

III.3 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 perilaku 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 konstiksi pembuluh darah perifer. Pada beberapa penelitian rokok juga dapat meningkatkan kadar kolesterol LDL dan menekan HDL.

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

Sters 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 (5,13).

III.4 Kedelai

Kedelai dikenal sebagai sumber protein dan lemak yang murah. Namum 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 (15).

III.5 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 (9).

III.5.1 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 (14).

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 (9).

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 (9).

III.5.2 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% (14).

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 (14).

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 (14).

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 piridoksin ialah dalam metabolisme amino dan pembentukan protein termasuk hemoglobin. Peranan niasin ialah untuk metabolisme glukosa dan metabolisme energi (14). 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 (6). 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 (14).

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) (14).

Secara keseluruhan zat aktif yang terdapat dalam tempe yang berperan dalam memerangi kolesterol jahat ialah asam lemak omega-3, omega-6, serat, niasin (14). 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 aterogenesis 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 (5,16).

III.6 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 (17).

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 ml/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 (18).

Pereaksi 0-ftaldehid untuk pemeriksaan kolesterol dapat pula digunakan untuk sampel-sampel biologi dan mempunyai beberapa 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 (19).

Pengukuran kolesterol dapat pula dilakukan dengan metode reaksi enzimatik. Prinsip penentuannya adalah hidrolisa terhadap kolesterol dalam bentuk ester dengan bantuan enzim kolesterase membentuk 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 membentuk senyawa berwarna yang dapat ditentukan secara fotometri (18).

BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN

IV.1 Alat dan Bahan

IV.1.1 Alat-alat yang digunakan

1. Blender
2. Freezer dryer
3. Gelas ukur
4. Gelas piala
5. Inkubator
6. Kompor Listrik
7. Labu Erlenmeyer 50 ml
8. Mikropipet (Soccores)
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 Glisial 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)

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 (9)

Kedelai bersih direbus selama 30 menit, kemudian direndam dalam air rebusan selama 22 jam, dicuci dan kulit dipisahkan, lalu direbus lagi selama 40 menit. Setelah direbus, ditiriskan dan didinginkan. Kemudian 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 Perebusan Sampel

Tempe dipotong-potong dadu dengan ukuran 5 cm kemudian dimasukkan kedalam panci yang telah berisi air mendidih lalu direbus dengan variasi waktu 10, 15 dan 20 menit.

IV.2.4 Liofilisasi sampel

Tempe dihaluskan (diblender) dengan air suling kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam cawan petri kemudian dibekukeringkan (diliofilisasi) dengan Freezer dryer.

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 100,150 μ l, 200 μ l, 250 μ l, 300 μ l, dan 350 μ l 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 H_2SO_4 pekat dan larutan dikocok dengan vibrator tabung. Setelah 90 menit penambahan H_2SO_4 pekat, lalu dilakukan pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS dan absorbansi dibaca pada 552 nm, kemudian dibuat kurva standar, dimana absis adalah jumlah kolesterol dan ordinat adalah nilai absorbansi.

IV.4 Penentuan Kondisi Penurunan Kadar Kolesterol

Tempe yang telah dibekukeringkan, disusupensikan ke dalam 2 ml larutan kolesterol etanol (dibuat dengan melarutkan 1mg kolesterol dalam 10 ml etanol 60%). Berat tempe yang digunakan untuk pengujian 45 mg dengan berbagai variasi lama perebusan. Campuran tersebut dikocok dan diinkubasikan pada suhu $37^{\circ}C$ selama 1 jam.

IV.5 Pengujian Penurunan Kadar kolesterol secara In Vitro

Tempe dengan berat 45 mg masing-masing disentrifus pada 4000 rpm selama 5 menit. Kolesterol yang tidak terikat oleh tempe dalam supernatan ditentukan berdasarkan metode Rudel Morris.

IV.6 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 $60^{\circ}C$ 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 552 nm setelah 90 menit penambahan H₂SO₄ pekat. Digunakan kurva standar untuk menentukan konsentrasi kolesterol yang tidak terikat.

IV.7 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.8 Analisa data

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

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.1 Hasil Penelitian

Dari hasil penelitian diperoleh efek lama perebusan terhadap penurunan kadar kolesterol seperti pada tabel di bawah ini :

Perlakuan	Jumlah Penurunan Kadar Kolesterol	
	($\mu\text{g/ml}$)	%
Perebusan selama 10 menit	204,167	62,14
Perebusan selama 15 menit	175,733	53,49
Perebusan selama 20 menit	149,758	45,58

V.2 Pembahasan

Peningkatan kadar kolesterol pada tubuh manusia merupakan faktor resiko yang paling utama untuk terjadinya aterosklerosis, sehingga usaha-usaha untuk menurunkan kadar kolesterol perlu dilakukan diantaranya dengan mengkonsumsi tempe yang merupakan salah satu produk olahan kedelai yang dapat digunakan sebagai bahan pengobatan alternatif yang lebih alamiah.

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)

Dari hasil penelitian dapat dilihat penurunan kadar kolesterol yang terbesar adalah pada tempe dengan lama perebusan 10 menit yaitu 204,167 μ g/ml atau sebanyak 62,14 % dan penurunan kadar kolesterol yang terkecil yaitu pada 20 menit perebusan, yaitu sebanyak 149,758 μ g/ml atau sebanyak 45,58%. Sedangkan tempe tanpa pemanasan berdasarkan data penelitian Herlyna (2002) memberikan penurunan sebesar 99,15% pada konsentrasi 45 mg.

Tempe mengandung beberapa komponen kimia yang mampu menurunkan kadar kolesterol, yaitu kandungan niasin, beta-sitosterol, isoflavon, dan asam lemak omega-3 (Baraas,1994;Afia,2000;Stihati,2001), dan dengan adanya pemanasan berupa perebusan akan menyebabkan terurainya ataupun rusaknya komponen kimia khususnya komponen kimia yang berperan dalam

menurunkan kadar kolesterol, diantaranya niasin. Walaupun niasin tidak mudah rusak oleh adanya pemanasan, namun kenyataan bahwa niasin larut dalam air, sehingga jika bahan pangan yang mengandung niasin direbus maka sebahagian niasin akan hilang (Suhardjo, 1985), sedangkan isoflavon yang terdapat dalam tempe cenderung stabil (Patterson, 1998).

Dari hasil analisis secara statistik diperoleh F_{hitung} lebih besar daripada F_{tabel} pada taraf 5%, tetapi lebih kecil daripada F_{hitung} pada taraf 1%, ini berarti bahwa secara statistik terlihat penurunan kadar kolesterol secara signifikan. Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$ pada taraf 5% maka diputuskan untuk menolak H_0 dan H_1 diterima yang berarti pada perlakuan memberikan hasil yang berbeda nyata dalam menurunkan kadar kolesterol. Dari hasil uji lanjutan beda nyata terkecil (BNT) menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (α 5%) pada perebusan selama 20 menit dibandingkan dengan perebusan selama 10 menit. Hal ini berarti bahwa kemampuan tempe yang telah direbus dalam menurunkan kadar kolesterol secara *in vitro* semakin berkurang secara signifikan seiring dengan semakin lamanya dilakukan perebusan. Selisih antara perebusan selama 10 menit dengan perebusan selama 20 menit menunjukkan hasil yang berbeda nyata (α 5%) sedangkan perebusan selama 10 menit dengan perebusan selama 15 menit tidak menunjukkan hasil yang berbeda nyata (α 5%). Hal ini berarti antara perebusan selama 10 menit dengan perebusan selama 15 menit tidak memberikan pengaruh yang berarti dalam kemampuannya menurunkan kadar

kolesterol secara *in vitro* sedangkan selisih antara 10 menit dan 20 menit memberikan pengaruh yang berarti.

Dari hasil perhitungan statistik menunjukkan bahwa semakin lama perebusan yang dilakukan yaitu pada perebusan selama 20 menit menyebabkan berkurangnya kemampuan tempe secara signifikan dalam menurunkan kadar kolesterol dibandingkan dengan perebusan selama 10 menit.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.□ Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka disimpulkan bahwa :

1. Proses pemanasan pada tempe mempengaruhi kemampuan tempe dalam menurunkan kadar kolesterol secara in vitro, dimana pada 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 penurunana kolesterol sebesar 45,58%.
2. Semakin lama proses pemanasan (perebusan selama 20 menit) pada tempe akan mengurangi kemampuan tempe dalam menurunkan kolesterol secara in vitro.

VI.2 Saran

Dengan melihat besarnya pengaruh perebusan 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. Linder, M. C., (1992), "Biokimia Nutrisi dan Metabolisme", Diterjemahkan oleh Aminuddin Parakkasi, Penerbit UI Press, Jakarta, 77
2. Mayes, P.A., dkk., (1997), "Biokimia Harper", Edisi 24, Diterjemahkan oleh Andry Hartono, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta 26,158, 271, 277
3. Astuti, N.H., (2003), "Mengenal Lipid, Menyiasati Penyakit", www.pdat.co.id/medika
4. 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
5. Baraas, F., (1994), "Menekan Serangan Jantung dengan Menekan Kolesterol", PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 119
6. Sitopoe, M., (1993), "Kolesterol Fobia", Keterkaitannya dengan Penyakit Jantung", PT. Gramedia, Jakarta, 80
7. Anderson J.W., (2002), "Soy Protein and Risk For Coronary Heart Disease", www.soyfood.com
8. Protein Technologies International, (2003), "Disease and Prevention-Cardiovascular Disease", www.solae.com
9. Rahman, A., (1992), "Teknologi Fermentasi", Penerbit Arcan, Jakarta 4, 8,11
10. Guyton, A.C., (1994), "Buku Ajar Fisiologi Kedokteran", Bagian III, Edisi 7, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 152-154
11. Speight, T.M., (1987), "Avery's Drug Treatment Principles and Practice of Clinical Pharmacology and Therapeutics", Third Edition, ADIS Press, Aucland, 594-597
12. Murray, R.K., dkk., (1987), "Biokimia Harper", Edisi 20, Diterjemahkan oleh Darmawan, Penerbit Buku Kedokteran EGC, 216-230
13. Taylor, K.B.,(1983), "Clinical Nutrition", Mc Graw Hill Book Company, Pennsylvania, 231-240

14. Afia, A., (2003), "Tempe Membuat Awet Muda", www.google.com
15. Tangenjaya, B., (2000), "Teknologi Baru Memenuhi Kebutuhan Kedelai Saat Ini dan Masa Depan", Dalam Prosiding Seminar Manfaat Kesehatan Kedelai, Jakarta, 14
16. Stihati, D.P., "Isoflavon dalam kedelai berguna Sebagai Antioksidan", *Kardiovaskuler*, Nomor 71, Tahun VII, Juli 2001, 10
17. Anderson, S.C., (1993), "Clinical Chemistry Concepts and Application", W.B. Saunders Company, Philadelphia, 173, 174
18. 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
19. Rudel, L.L., and Morris, M.D., (1973), "Determination of Cholesterol Using o-phthalaldehyde", *Journal of Lipid Research* 14:364-366
20. Suyono, S., dkk., (1987), "Pengalaman Pengobatan Hiperlipidemia Primer dengan Gemfibrosifi FKUI/RS,DR.Ciptomangunkusumo Jakarta ", *Medika*, 876-877
21. Kaplan, N.M., and Stamler, J., (1994), "Pencegahan Penyakit Jantung Koroner", Diterjemahkan oleh Sukwan Handali, Penerbit Buku Kedokteran EGC, 33
22. Tan, (1990), "Obat-obat Penting dan Khasiatnya", Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 415