

**LAPORAN AKHIR TAHUN  
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



**AKTIVITAS ANTIHIPERTENSI TEMPE: TELAAH SECARA *IN VITRO***

**Tahun ke -1 dari rencana 2 tahun**

**KETUA DAN ANGGOTA TIM**

**Dr. Badrut Tamam, STP, M.Biotech (NIDN 4017127001)**

**I Gst. Putu Sudita Puryana, STP, MP (NIDN 4010117401)**

**Dr. Ni Ketut Sutiari, SKM, MSi (NIDN 0026127703)**

**POLTEKKES KEMENKES DENPASAR**

**OKTOBER 2021**

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**PENELITIAN PEMULA/PKPT/PDUPT/PTUPT/PPUPT**

**Judul** : Aktivitas Antihipertensi Tempe: Telaah secara *In Vitro*  
**Peneliti** :  
Nama Lengkap : Dr. Badrut Tamam, STP, M.Biotech  
NIDN : 4017127001  
Jabatan Fungsional : Lektor  
Program Studi : Prodi Sarjana Terapan (STr) Gizi  
Nomor Hp : 083114154698  
Alamat Surel (email) : Badruttamam\_70@yahoo.com  
**Anggota Peneliti (1)**  
Nama Lengkap : I Gst. Putu Sudita Puryana, STP, MP  
NIDN : 4010117401  
Program Studi : Prodi Sarjana Terapan (STr) Gizi  
Perguruan Tinggi : Poltekkes Kemenkes Denpasar  
**Anggota Peneliti (2)**  
Nama Lengkap : Dr. Ni Ketut Sutiari, SKM, MSi  
NIDN : 0026127703  
Program Studi : Ilmu Kesehatan Masyarakat  
Perguruan Tinggi : Universitas Udayana Denpasar  
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke-1 dari rencana 2 tahun  
Biaya Tahun Berjalan : Rp 64.000.000  
Biaya Keseluruhan : Rp 150.000.000

Mengetahui,  
Kepala Pusat Penelitian dan Pengabmas  
Poltekkes Kemenkes Denpasar,

Denpasar, 30 Agustus 2021

Ketua,

Dr. Badrut Tamam, STP, M.Biotech  
NIP. 197012171992031001

Dr. I Putu Suiraoka, S.ST., M.Kes.  
NIP. 197301241995031001

Mengesahkan,  
Direktur Poltekkes Kemenkes Denpasar,

Anak Agung Ngurah Kusumajaya, SP., MPH  
NIP. 196911121992031003

## ABSTRACT

Soybean (*Glycine max L*) is a type of legumes that is rich in protein, fat, vitamins, minerals and fiber. Soybeans can be processed into various processed foods, including soy milk, tofu, Tempe, soy cheese, soy yogurt, miso and others. Various soybean varieties such as black soybeans, local and imported soybeans are often to become a subject of attention. The nutritional value of soybeans and the amino acid profiles of the processed product of fermented soybean (Tempe) need to be studied. Soybean and Tempe flour from black soybean, local soybean (Anjasmoro variety) and imported soybean (USA soybean) were analized proximately including carbohydrates (spectrophotometric method), protein (Kjeldahl method), fat (Soxletation method), fiber (gravimetric method), and water content (gravimetric method). The amino acid profile of Tempe flour was measured by UPLC and LC/MS/MS methods. Local soybeans had the highest protein content (45.19%), followed by black soybeans and imported soybeans (36.87% and 35.95%, respectively). The protein content of local soybean Tempe flour was the highest (45.83%) compared to other soybean Tempe flour, although statistically not different from black soybean Tempe flour and imported soybean Tempe (43.81% and 43.65%, respectively). The fiber content of local and black soybean Tempe flour (14.79% and 13.81%, respectively) was higher than that of imported Tempe. Amino acid profiles test of black soybean Tempe flour, local soybean and imported soybean showed that the amino acids L-Glutamic Acid, L-Arginine, L-Leucine and L-Aspartic Acid had the highest amounts compared to other amino acids, ranging from 30-75 thousand ppm. Meanwhile, amino acids of L-methionine and L-cystine have the lowest content compared to other types of amino acids over three Tempe flour, ranging from 3-13 thousand ppm. This shows that various soybeans determine the genotype of each variety, thus the genotype differences between soybean varieties affect the amino acid composition of the soybean protein.

Keywords: amino acid profiles, proximate, soybean varieties

## **DAFTAR ISI**

Halaman Sampul .....	i
Halaman Pengesahan .....	ii
Ringkasan .....	iv
Daftar Isi .....	v
Daftar Tabel .....	vii
Daftar Gambar .....	vii
Daftar Lampiran .....	viii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	6
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	7
BAB 4 METODE PENELITIAN .....	13
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN .....	16
BAB 6 RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA .....	19
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN .....	18
DAFTAR PUSTAKA .....	20
LAMPIRAN .....	23

## DAFTAR TABEL

No	Nama Tabel	Hal
1		4
1		14

## DAFTAR GAMBAR

No	Jenis Gambar	Hal
1		6
2	Contoh struktur primer peptida antihipertensi ( <i>Tyr-Val-Val-Phe-Lys</i> ) dari protein kedelai <i>glycinin</i> ( <a href="http://www.tulane.edu/~biochem/WW/PepDraw/">http://www.tulane.edu/~biochem/WW/PepDraw/</a> )	8
3	Kerangka Penelitian	13
4	Diagram Alir Penelitian	17

## DAFTAR LAMPIRAN

No	Jenis Lampiran	Hal
1	SK Penelitian .....	23
2	Kontrak Penelitian .....	26
3	SK Tim Peneliti .....	27
4	Surat Ijin Penelitian .....	29
5	Persetujuan kaji etik .....	41
6	Persetujuan Setelah penjelasan (PSP) .....	

7	Instrumen Penelitian .....	
8	Hasil Pengolahan data akhir .....	
9	Luaran penelitian .....	
10	Susunan organisasi tim peneliti dan pembagian Tugas .....	
11	Biodata ketua dan anggota penelitian .....	
12	Saran Penyempurnaan dari tim pakar/reviewer .....	

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Hipertensi adalah salah satu faktor pencetus utama terjadinya penyakit jantung koroner, stroke dan penyakit ginjal tahap akhir (Zhang *et al.*, 2006). Hipertensi diindikasikan sebagai peningkatan tekanan darah di atas normal (140/90 mmHg). Di antara proses yang terkait dengan hipertensi, *angiotensin I converting enzyme* (ACE) memiliki peran penting dalam mengatur tekanan darah. Peran pengaturan tekanan darah dari ACE adalah karena ACE memicu perubahan angiotensin I menjadi angiotensin II yang merupakan agen penyebab penyumbatan pembuluh darah (*vasoconstrictor*) dan sekaligus menginaktivasi bradykinin yang merupakan agen pembuka pembuluh darah (*vasodilator*). Kondisi inilah yang menyebabkan peningkatan tekanan darah dan pencetus penyakit jantung koroner.

Kedelai (*Glycine max*) adalah jenis kacang-kacangan yang kaya akan protein, lemak, vitamin, mineral dan serat. Kedelai dapat diolah menjadi berbagai olahan pangan, diantaranya susu kedelai, tahu, tempe, keju kedelai, yogurt kedelai, miso dan lain-lain (Cappriotti *et al.* 2015). Beberapa penelitian mengungkap bahwa penduduk Asia yang terbiasa mengkonsumsi kedelai dan produknya dapat menurunkan resiko osteoporesis dan beberapa penyakit kronis seperti penyakit jantung dan kanker (Menacho *et al.* 2010).

Salah satu produk fermentasi asli Indonesia yang akhir-akhir ini banyak diteliti dan memiliki bioaktivitas antihipertensi adalah Tempe. Fermentasi kedelai menjadi Tempe memiliki peran esensial dalam menghasilkan senyawa bioaktif. Jenis kapang yang dilaporkan hadir dalam produksi Tempe, di antaranya *Rhizopus oligosporus*, *R. oryzae*, *R. arrhizus*, *R. stolonifer*, *R. microsporus*, *R. rhizopodiformis*, *R. chinensis* dan terkadang *Mucor sp.* (Astuti *et al.*, 2000; Nout and Kiers, 2005). Di samping kapang, mikroorganisme lain seperti bakteri asam laktat dan khamir ikut terlibat dalam proses fermentasi kedelai menjadi Tempe (Nurdini *et al.*, 2015). Selama fermentasi kedelai tersebut, terjadi perubahan-perubahan fisik, dan biokimia di dalam Tempe. Beberapa perubahan biokimia yang terjadi adalah peningkatan beberapa senyawa gizi dan bioaktif yaitu protein terlarut, folat, vitamin B<sub>12</sub>, *tocopherol* (vitamin E), isoflavon bebas, *superoxide dismutase* (SOD) dan peptida bioaktif. Di samping itu, terjadi penurunan zat anti gizi di antaranya adalah asam fitat,

oligosakarida, *trypsin inhibitor* dan tannin (Egounlety and Aworh, 2003; Mo *et al.*, 2013).

Senyawa di dalam Tempe yang memiliki peran penting dalam proses penghambatan ACE (ACE *inhibitor*) adalah peptida bioaktif. Peptida bioaktif merupakan fragmen protein yang terdiri atas 2-20 asam amino hasil hidrolisis enzim proteolitik, yang memiliki bioaktivitas tertentu diantaranya sebagai antihipertensi, antidiabetik, anticancer, antihiperkolesterol, antimikroba, antitrombotik, *immunomodulatory* dan lain-lain. Pembentukan peptida bioaktif pada Tempe merupakan hasil fermentasi kedelai (*Glycine max L*) dengan memanfaatkan berbagai mikroorganisme (kapang, terutama jenis *Rhizopus sp.*, bakteri dan khamir). Beberapa peptida bioaktif berberat molekul rendah (< 1 kDa) pada Tempe telah diprediksi sekuen peptidanya dan diduga memiliki aktivitas antihipertensi melalui analisis *in silico* (Tamam *et al.*, 2019). Penelitian sebelumnya juga telah membuktikan bahwa Tempe yang diproduksi memanfaatkan mikroorganisme jenis kapang *Rhizopus oligosporus* sifat fungsional peptida tempe hasil hidrolisis enzim *endopeptidase (pronase, trypsin, Glu C. protease, protease plasma dan protease membran kidney)* dari *R. oligosporus* NRRI, 2710 menghasilkan peptida antihipertensi, antitrombotik, aktif permukaan, dan antioksidan (Gibbs *et al.*, 2004). Beberapa produk fermentasi kedelai yang lain juga telah dilaporkan memiliki sifat antihipertensi adalah *doenjang* (Korea), *douchi* (China), *natto* (Japan), dan *thua nao* (Thailand) (Dajanta *et al.*, 2011; Shin and Jeong, 2015; Wang *et al.*, 2016). Produk kecap yang difermentasi oleh *Aspergillus sojae* menghasilkan peptida antihipertensi *Gly-Tyr, Ala-Phe, Val-Pro, Ala-Ile, dan Val-Gly*. Fermentation of miso using *Aspergillus oryzae* produced two antihypertensive peptides: Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro (24).

Genotipe berbagai varietas kedelai berbeda-beda. Perbedaan genotipe antar varietas kedelai berpengaruh terhadap komposisi asam amino penyusun protein kedelai tersebut (Herman, 2014). Ragam varietas kedelai seperti kedelai hitam, kedelai lokal dan impor sering menjadi bahan perhatian. Kedelai impor umumnya memiliki biji yang lebih besar dan memiliki warna pucat keputihan diduga sebagai komoditi yang yang telah berubah secara genetik (*genetically modified organism*). Adapun kedelai lokal adalah kedelai asli Indonesia yang berukuran lebih kecil dan tidak ada proses modifikasi genetik. Sedangkan kedelai hitam masih jarang dibuat tempe, dibandingkan jenis kedelai lainnya. Penelitian tentang aktivitas peptida

bioaktif pada Tempe kedelai dari kedelai yang berbeda sifat genotipenya masih belum ada yang mengungkap, khususnya terkait aktivitas hipertensi. Hal ini seiring dengan renstra Poltekkes Denpasar dalam pengembangan produk pangan yang bergizi dan berfungsi bagi peningkatan derajat kesehatan manusia.

d. Rumusan Masalah

Dari uraian di atas, permasalahan yang akan dijawab melalui penelitian ini adalah:

1. Bagaimana profil asam amino ekstrak Tempe dari kedelai lokal dan impor?
2. Bagaimana aktivitas antihipertensi peptida bioaktif Tempe dari kedelai lokal dan impor secara *in vitro* (pada tahun pertama)?
3. Bagaimana aktivitas antihipertensi peptida bioaktif Tempe dari kedelai lokal dan impor secara *in vivo* (pada tahun kedua)?

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

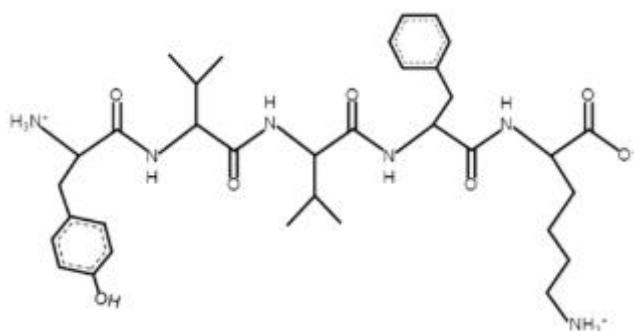
#### A. Peptida Bioaktif

Peptida adalah rantai asam amino yang terjalin melalui ikatan kovalen yaitu ikatan peptida. Ikatan peptida terbentuk dengan cara pelepasan molekul air (proses dehidrasi) dari gugus-karboksil suatu asam amino dan gugus amino dari asam amino yang lain. Pembentukan ikatan peptida ini adalah salah satu contoh dari reaksi kondensasi di dalam mahluk hidup. Setiap unit asam amino di dalam suatu peptida disebut sebagai residu karena merupakan bagian yang tertinggal setelah kehilangan atom hidrogen dari gugus aminonya dan ion hidroksil dari gugus karboksilnya. Dua residu asam amino yang terjalin dengan ikatan peptida membentuk dipeptida. Jika tiga residu asam amino yang terjalin dengan dua ikatan peptida membentuk tripeptida, demikian juga apabila ada empat atau lima asam amino penyusunnya maka disebut tetrapeptida atau pentapeptida. Seringkali apabila beberapa asam amino berikatan melalui ikatan peptida disebut sebagai oligopeptida, sedangkan apabila asam amino berjumlah banyak saling berikatan melalui ikatan peptida disebut sebagai polipeptida (Nelson and Cox 2000).

Peptida bioaktif didefinisikan sebagai fragmen protein dengan sekuen asam amino yang memiliki aktifitas biologis, seperti antioksidan, antihipertensi, antitrombotik, anti-adipogenik, antimikroba, anti-inflamasi, dan efek immunomodulator (de Castro and Sato, 2015). Peptida bioaktif tersebut memiliki 2-20 residu asam amino, meskipun ada juga yang melaporkan lebih dari 20 residu asam amino (Ryan *et al.*, 2011), dengan berat molekul kurang dari 6.000 Da. Bioaktifitas peptida bioaktif ditentukan terutama didasarkan atas komposisi dan sekuen asam aminonya (de Castro and Sato, 2015).

Mellander di tahun 1950 dianggap yang pertama kali berperan dalam mempelajari peptida bioaktif saat Mellander berhasil menghidrolisis protein kasein menjadi peptida bioaktif untuk meningkatkan kalsifikasi tulang bagi bayi baru lahir yang menderita *rachitis* (de Castro and Sato, 2015). Sejak saat itu, beragam bioaktifitas peptida bioaktif mulai diidentifikasi. Menurut database yang terdapat pada

*Biopep* dan *BioPD* (*Bioactive Peptida Databases*), jumlah peptida bioaktif telah tercatat lebih dari 1200 (Singh, Vij and Hati, 2014).



Gambar 1: Contoh struktur primer peptida antihipertensi  
(*Tyr-Val-Val-Phe-Lys*) dari protein kedelai *glycinin*  
(<http://www.tulane.edu/~biochem/WW/PepDraw/>)

Peptida bioaktif dapat diperoleh dari sumber protein nabati maupun hewani. Dari sumber protein nabati, umumnya peptida bioaktif berasal dari biji-bijian seperti gandum, beras, jagung, oat, dan rye, serta dari kacang-kacangan seperti kedelai, *peas* dan *chickpeas*. Di antara sumber protein nabati tersebut, kedelai adalah bahan yang paling banyak dipelajari sebagai sumber peptida bioaktif (Ortiz-Martinez, Winkler and Garcia-Lara, 2014). Beberapa peptida bioaktif dari kedelai telah berhasil diisolasi dan telah menunjukkan sifat fungsional dan aktifitas fisiologis yang potensial seperti antihipertensi, hipokolesterolmia, antiobesitas, antioksidan, dan antikanker (Wang and De Mejia, 2006). Adapun yang berasal dari sumber protein hewani, daging, susu, telur dan ikan juga sudah banyak yang dipelajari sebagai penghasil peptida bioaktif (de Castro and Sato, 2015).

Menurut Sanjukta and Rai (2016), peptida bioaktif itu tidak aktif di dalam sekuen *parent* protein. Peptida tersebut akan aktif jika dikeluarkan dari *parent* proteinnya melalui hidrolisis enzimatik selama fermentasi dan pencernaan gastrointestinal. Dibandingkan dengan protein, peptida memiliki keunggulan dalam pencernaan maupun pemanfaatannya. Menurut penelitian ilmu gizi modern, sebagian besar protein yang dicerna oleh tubuh manusia terdekomposisi menjadi peptida-peptida kecil, terdiri atas 2-7 residu asam amino di dalam saluran pencernaan, kemudian peptida-peptida tersebut diserap secara langsung. Jumlah protein yang diubah menjadi asam amino di dalam saluran pencernaan sangat sedikit (Clemente,

2000). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa laju absorpsi peptida yang berasal dari hidrolisat protein lebih cepat dibandingkan dengan asam amino bebas, dan konsumsi energi dalam mengasimilasi peptida lebih rendah dibandingkan mengasimilasi asam amino (Schaafsma, 2009).

#### e. Sifat Biologis Peptida Bioaktif

Beberapa peptida memiliki aktifitas biologis yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Peran fungsional dari peptida tersebut antara lain adalah antihipertensi, antioksidan, antimikroba, antitrombotik, antiadipogenik (antiobesitas), antikanker, aktifitas opioid, antihiperkolesterol, *immunomodulator* dan antidiabet (kencing manis) (Nakahara *et al.*, 2010; Capriotti *et al.*, 2015). Beberapa kondisi penyakit yang dapat diatasi oleh peptida bioaktif antara lain adalah penyakit jantung koroner (iskemik), stroke, hipertensi, kanker, obesitas dan osteoporosis (Gilani, Xiao and Lee, 2008; Boelsma and Kloek, 2009).

Hipertensi adalah penyakit yang berhubungan dengan penyakit kardiovaskuler, seperti aterosklerosis, kardio infark dan stroke. *Angiotensin I converting enzyme* (ACE) berperan penting dalam regulasi tekanan arteri karena enzim tersebut mengkatalisis perubahan *angiotensin* I (bentuk inaktif) menjadi *angiotensin* II (*vasococonstrictor*) dan menginaktifasi bradykinin (*vasodilator*). Penghambatan terhadap ACE dapat menyebabkan penurunan tekanan darah. ACE *inhibitor* sintetis seperti *captopril* dan *enalapril* sering digunakan untuk mengatasi hipertensi dan penyakit lainnya yang berkaitan dengan penyakit jantung. Hanya saja, ACE *inhibitor* sintetis tersebut ternyata menimbulkan berbagai efek samping antara lain batuk, pengecapan yang berubah, gatal, dan angiodema (Sheih *et al.* 2009).

Beberapa jenis peptida bioaktif yang mampu menghambat ACE telah diisolasi dari hidrolisat protein dan produk fermentasi. Dua jenis peptida yaitu *Ala-Pro* dan *Phe-Ala-Pro* memiliki struktur yang analog dengan *captopril* dan *enalapril* (Castro and Sato, 2015). Protein telur (ovalbumin) setelah pencernaan pepsin menghasilkan ovokinin yaitu oktapeptida (*Phe-Arg-Ala-His-Pro-Phe-Leu*) yang memiliki kemampuan menghambat ACE. Setelah pencernaan dengan kemotrypsin pada ovalbumin, dapat menghasilkan 2-7 fragmen dari ovokinin (Matoba *et al.* 1999).

Mekanisme aksi dari peptida antihipertensi terkait dengan kehadiran asam amino aromatik dan alifatik seperti *Pro*, *Phe* dan *Tyr* pada C-terminal dan *Val* dan *Ile* pada N-terminal (Wijesekara, *et al.* 2011). Keberadaan asam amino hidrofobik (*Tyr*, *Phe*, *Trp*, *Ala*, *Ile*, *Val*, *Met*) atau asam amino bermuatan positif (*Arg* dan *Lys*) dan juga *Pro* pada posisi C terminal dari peptida penghambat ACE menunjukkan afinitas yang lebih baik dengan ACE (Haque and Chand, 2008; Sanjukta and Rai (2016).

#### f. Peptida Bioaktif dari Pangan Fermentasi Kedelai

Fermentasi adalah cara yang efisien untuk memproduksi peptida bioaktif. Peptida bioaktif dapat dihasilkan oleh aktifitas mikroorganisme dari pangan terfermentasi atau melalui enzim yang berasal dari mikroorganisme tersebut (Korhonen and Pihlanto, 2003).

Mikroorganisme yang terlibat dalam fermentasi kedelai, kacang-kacangan, beras dan gandum berasal dari spesies kapang seperti *Aspergillus oryzae* dan *Aspergillus sojae* yang merupakan tradisi lama dalam menghasilkan produk fermentasi. Enzim protease dan peptidase dari strain *Bacillus* dan *Rhizopus* telah menunjukkan kemampuan hidrolisis protein kedelai menjadi peptida aktif. Peptida-peptida yang dihasilkan umumnya memiliki aktifitas biologis seperti antioksidan dan antihipertensi (Hati *et al.* 2014).

Peptida antihipertensi yang mengandung asam amino *Ala*, *Phe* dan *His* telah diisolasi dari kedelai yang difermentasi oleh *Bacillus natto* (produk *natto* dari Jepang) dan produk *chunggugjang* (dari Korea) yang difermentasi oleh *Bacillus subtilis* (Korhonen and Pihlanto 2003). Peptida antihipertensi (peptida *His-His-Leu*) juga ditemukan di pasta kedelai (Shin *et al.* 2001) dan kecap (Okamoto *et al.* 1995). Nakahara *et al.* (2010) melaporkan kecap kedele yang difermentasi *Aspergillus sojae* telah menghasilkan peptida antihipertensi yaitu *Gly-Tyr*, *Ala-Phe*, *Val-Pro*, *Ala-Ile* dan *Val-Gly*. Demikian juga Inoue *et al* (2009) melaporkan fermentasi *miso* menggunakan kapang *Aspergillus oryzae* yang menghasilkan dua peptida antihipertensi yaitu peptida *Val-Pro-Pro* dan *Ile-Pro-Pro*. Wang *et al.* (2005) telah mengidentifikasi beberapa peptida antihipertensi, seperti *Val-Ala-His-Ile-Asn-Val-Gly-Lys* atau *Tyr-Val-Trp-Lys* dari kedelai yang difermentasi dengan *Bifidobacterium natto* atau *Bacillus subtilis*. Tsai *et al.* (2006) telah memfermentasi susu kedelai dengan beberapa strain bakteri asam laktat seperti *Lb.*

*casei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. bulgaricus*, *Str. thermophilus* and *B. longum*. Peptida yang dihasilkan memiliki sifat fungsional antihipertensi. Vallabha and Tiku (2014) mengungkapkan bahwa peptida *Leu-Ile-Val-Thr-Lys* dan *Leu-Ile-Val-Thr* yang dihasilkan oleh protein kedelai yang difermentasi *Lactobacillus casei spp. pseudoplantarum* telah menunjukkan aktivitas penghambatan ACE 1 sebagai antihipertensi.

Nakahara *et al.* (2010) telah membuat *seasoning* yang diperkaya peptida yang disebut sebagai *fermented soybean seasoning* (FSS) dengan cara memodifikasi proses *brewing* pada pembuatan kecap. FSS memiliki konsentrasi total peptida 2,7 kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan kecap biasa, dan konsentrasi peptida antihipertensi juga lebih tinggi dibandingkan kecap biasa.

Gibbs *et al.* (2004) melaporkan telah memproduksi peptida bioaktif dari *natto* (menggunakan *Bacillus subtilis*) di dalam cawan petri dan tempe (menggunakan *Rhizopus oligosporus* NRRL 2710) di dalam cawan petri. Peptida yang dihasilkan memiliki aktifitas *ACE inhibitor*, antitrombotik, *surface tension* dan antioksidan. Kesemua peptida yang dihasilkan berasal dari *glycinin*, Adapun *-conglycinin* lebih stabil terhadap serangan enzim proteolitik bahkan dengan banyak enzim. Senyawa glikoprotein, fosfoprotein, dan senyawa termodifikasi lainnya yang mengandung jumlah ikatan disulfida tinggi diduga lebih sulit terhidrolisis. Protease di dalam *strain Bacillus* dan *Rhizopus* hanya dapat memotong protein kedelai menjadi peptida-peptida besar (Gibbs *et al.* 2004).

Fermentasi kedelai juga menghasilkan peptida dengan sifat-sifat antioksidan pada dua produk fermentasi yaitu natto dan tempe (Wang *et al.* 2008). *Natto* yang difermentasi oleh *B. Subtilis* telah menunjukkan aktifitas *radical scavenging* dan efek penghambatan terhadap oksidasi LDL (*low density lipoprotein*) secara *in vitro* (Iwai *et al.* 2002). Demikian juga *Sufu*, produk kedelai asli China yang difermentasi secara tradisional oleh *A. Oryzae* menunjukkan aktifitas DPPH *radical-scavenging* yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak *tofu* yang tidak difermentasi (Huang *et al.* 2011).

#### g. Purifikasi dan Identifikasi (Karakterisasi) Peptida Bioaktif

Beberapa metode purifikasi telah dilaporkan digunakan dalam memproduksi peptida bioaktif. Teknik kromatografi diantara yang paling banyak digunakan, seperti *high performance liquid chromatography* (HPLC) dan *ultra high pressure liquid chromatography* (UHPLC) (Singh *et al.* 2014). *Reversed phase* HPLC (RP-HPLC) dapat digunakan untuk memisahkan peptida berdasarkan hidrofobisitasnya. *Hydrophilic interaction liquid chromatography* (HILIC) digunakan untuk pemisahan substansi hidrofilik. *Gel electrophoresis* dan *ultrafiltration* digunakan sebagai teknik pendukung untuk analisis komposisi struktur dan kimia peptida (Roblet *et al.* 2012).

*Mass spectrometry* telah banyak dilaporkan untuk identifikasi profil protein dan produk hidrolisis berupa peptida. *Electrospray ionization* dan *matrix assisted laser desorption/ionization* (MALDI-TOF) adalah jenis teknik *mass spectrometry* yang sering digunakan dalam identifikasi dan karakterisasi peptida bioaktif. *Liquid chromatography-mass spectrometry* telah umum digunakan dalam identifikasi sekuen peptida (Singh *et al.* 2014).

## **BAB III**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### A. Tujuan

Tujuan umum penelitian ini adalah menelaah aktivitas antihipertensi dari peptida bioaktif yang terdapat di dalam Tempe yang diproduksi dari kedelai lokal dan impor secara *in vitro* dan *in vivo*. Secara khusus dapat dijabarkan sebagai berikut:

1. Memproduksi Tempe dari kedelai lokal, impor dan kedelai hitam.
2. Menguji proksimat tepung Tempe, meliputi karbohidrat, protein, lemak, kadar abu, kadar air dan serat.
3. Mengidentifikasi profil asam amino tepung Tempe dari kedelai lokal, impor dan kedelai hitam.
4. Melakukan ekstraksi protein pada tepung Tempe.
5. Melakukan filtrasi dengan membran regenerated N47 berukuran 0,45 µm pada ekstrak Tempe.
6. Melakukan ultrafiltrasi menggunakan Amicon Ultra-0,5 ml centrifugal filter 10 kDa.
7. Menguji aktivitas antihipertensi filtrat Tempe secara *in vitro* (tahun pertama).
8. Menguji aktivitas antihipertensi ekstrak Tempe yang telah diultrafiltrasi secara *in vivo* (tahun kedua).

#### B. Manfaat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Mengembangkan khasanah ilmu pengetahuan tentang kedelai lokal, impor dan kedelai hitam serta peptida bioaktif pada Tempe.
2. Berkontribusi dalam pengembangan potensi Tempe sebagai sebagai pangan fungsional, khususnya sebagai antihipertensi.
3. Mensosialisasikan Tempe sebagai produk asli Indonesia yang kaya akan gizi dan bioaktif, khususnya peptida bioaktif, ke taraf internasional.

## **BAB IV**

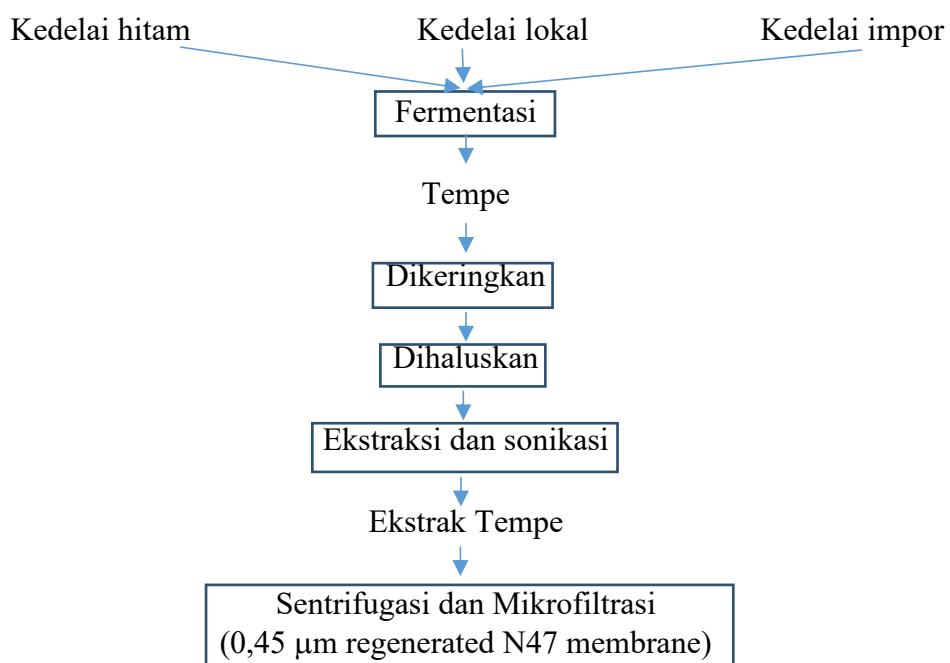
### **METODE PENELITIAN**

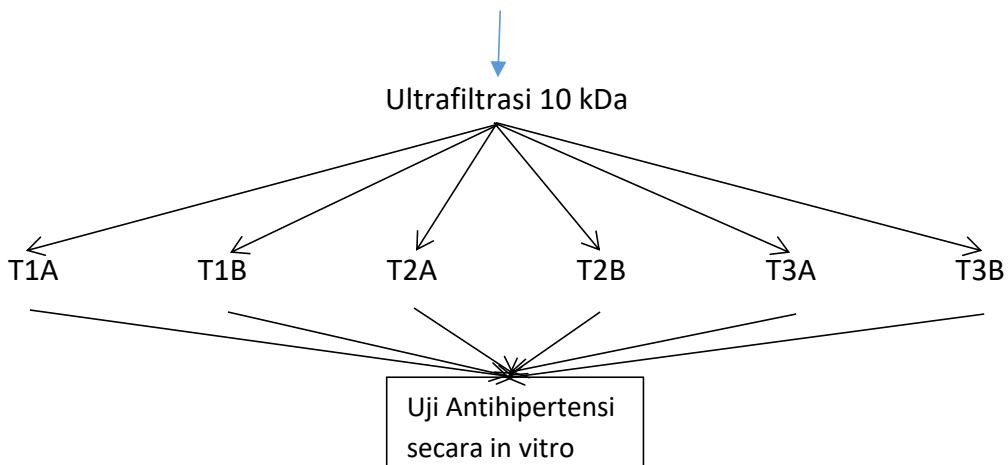
#### A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan percobaan menggunakan rancangan acak kelompok (RAK). Penelitian ini memiliki tiga perlakuan yaitu filtrat Tempe hasil ultrafiltrasi dengan 10 kDa dari kedelai organik, non organik dan kedelai hitam dengan tiga kali ulangan.

Perlakuan	Deskripsi
T1A	Filtrat Tempe kedelai hitam >10 kDa
T1B	Filtrat Tempe kedelai hitam <10 kDa
T2A	Filtrat Tempe kedelai lokal >10 kDa
T2B	Filtrat Tempe kedelai lokal <10 kDa
T3A	Filtrat Tempe kedelai impor >10 kDa
T3B	Filtrat Tempe kedelai impor <10 kDa

#### B. Bagan Alir Penelitian





Keterangan:

T1A : Filtrat Tempe kedelai hitam >10 kDa

T1B : Filtrat Tempe kedelai hitam <10 kDa

T2A : Filtrat Tempe kedelai lokal >10 kDa

T2B : Filtrat Tempe kedelai lokal <10 kDa

T3A : Filtrat Tempe kedelai impor >10 kDa

T3B : Filtrat Tempe kedelai impor <10 kDa

Gambar 2. Diagram alir penelitian

### C. Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian di laboratorium Pengolahan Pangan di Jurusan Gizi, Politeknik Kesehatan Denpasar, Laboratorium Analisis Pangan Fakultas Teknologi Pangan dan Fakultas Kedokteran, Lab. Biokimia Universitas Udayana, Bali. Waktu pelaksanaan penelitian Periode I: Maret-Oktober 2021.

### D. Populasi dan Sampel

Populasi dari penelitian ini adalah kacang kedelai. Sampel penelitian ini adalah Ekstrak Tempe yang dihasilkan dari kedelai impor, lokal dan kedelai hitam. Tempe yang berasal dari bahan kedelai impor, lokal dan kedelai hitam diambil sebanyak 100 g dan diperlakukan sesuai tahapan penelitian.

## E. Instrument Penelitian dan Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan instrumen laboratorium di antaranya *waterbath*, *sonicator*, *sentrifuge* (HIMAC), Ultrafiltrasi Amicon Ultra 2 Ultra Cel 3, dan Spektrofotometer.

Uji proximat dilakukan di UPT Laboratorium Analitik Universitas Udayana, dengan beberapa metode. Kabohidrat diukur dengan metode spektrofotometri, protein dengan metode Kjeldahl, lemak dengan metode soxletasi, serat dengan metode gravimetri, dan kadar air dengan metode gravimetri.

Uji profil asam amino dilakukan di Laboratorium Saraswanti Bogor dengan metode UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) dan LC/MS/MS (Liquid Chromatography/ Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry).

Ekstraksi protein dilakukan Laboratorium Ilmu Pangan Fakultas Teknologi Pangan, IPB Bogor, dan hasil ekstrak dikirim ke Lab Biokimia FK UNUD untuk uji penghambatan ACE. Uji penghambatan enzim ACE dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar.

## F. Analisis Data

Data yang sudah terkumpul dari hasil eksperimen selanjutnya dianalisis dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA). Perbedaan  $P < 0,05$  dianggap sebagai signifikan.

## G. Etika Penelitian

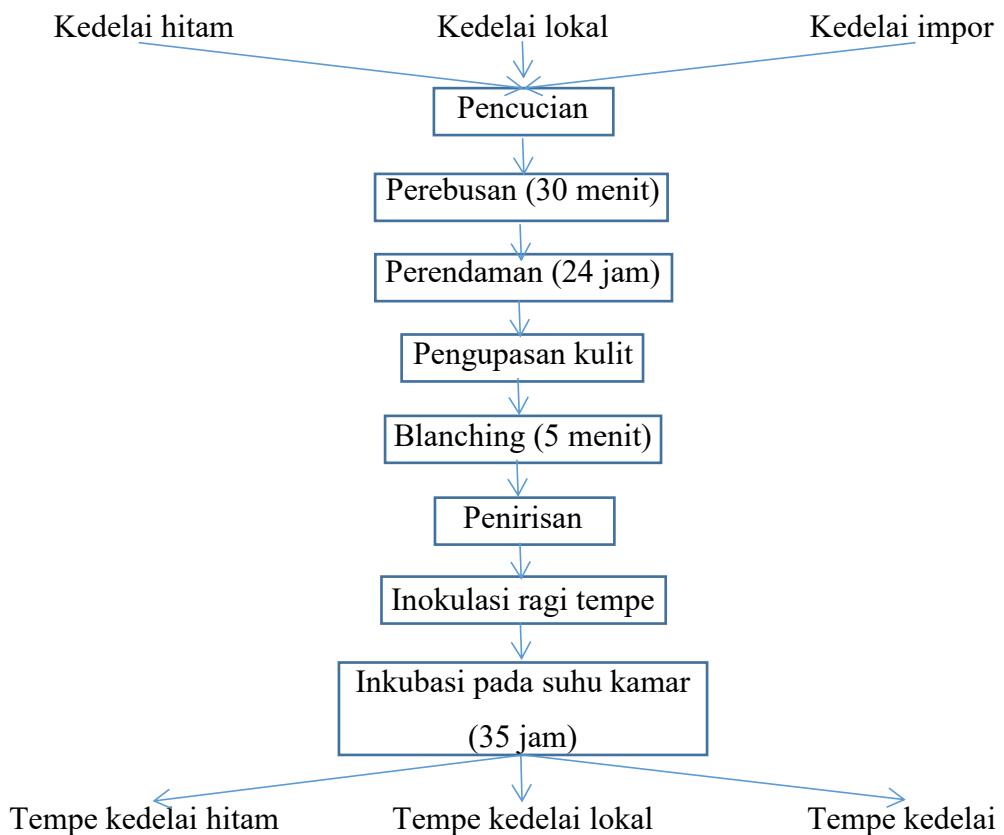
Penelitian ini memperhatikan dan menghormati prinsip-prinsip etika terhadap hak-hak subyek. Dasar etika yang diterapkan dalam penelitian ini adalah *respect for persons* (menghormati harkat dan martabat), *beneficence* (tidak merugikan) dan *justice* (adil).

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

1. Pembuatan Tempe dari kedelai hitam, lokal dan impor mengikuti prosedur berikut ini:



Gambar 3 : Cara pembuatan tempe dari kedelai hitam, kedelai lokal dan kedelai impor

Tempe adalah produk kedelai fermentasi asli Indonesia yang kaya akan komponen gizi. Tempe dapat dibuat dari berbagai bahan, tetapi yang biasa dikenal sebagai tempe oleh masyarakat pada umumnya adalah tempe yang dibuat dari kedelai. Pada dasarnya cara pembuatan tempe meliputi tahapan sortasi dan pembersihan biji, hidrasi atau fermentasi asam, penghilangan kulit, perebusan, penirisan, pendinginan, inokulasi dengan ragi tempe, pengemasan, inkubasi dan pengunduhan hasil (Rahayu et al, 2005).

Fermentasi Tempe melibatkan kapang *Rhizopus spp.* dan mikroorganisme lainnya seperti bakteri asam laktat dan ragi (Seumahu et al. 2013). Ada empat langkah

penting untuk membuat Tempe yaitu merendam, merebus kacang kedelai, inokulasi kapang menggunakan starter atau ragi (mengandung mikroorganisme, terutama *Rhizopus spp.*), dan inkubasi pada suhu kamar selama 24-36 jam. Beberapa jenis kapang yang terlibat dalam pembuatan Tempe di Indonesia termasuk *Rhizopus oligosporus*, *R. oryzae*, *R. arrhizus*, *R. stolonifer*, *R. microsporus*, *R. rhizophodiformis*, *R. chinensis*, dan *Mucor sp.* (Astuti *et al.* 2000). Produksi tempe di Indonesia mungkin berbeda antara daerah dan produsen terkait kondisi proses dan fermentasi. Singkatnya, tidak ada standar untuk membuat Tempe di Indonesia.

Selama fermentasi, mikroorganisme menghasilkan beberapa komponen bioaktif dan menurunkan senyawa anti-nutrisi. Perubahan biokimia terjadi selama fermentasi kedelai menjadi Tempe yang meningkatkan kesehatan manusia. Peningkatan gizi dan komponen bioaktif di antaranya protein terlarut, folat, vitamin B12, tokoferol, isoflavon bebas, dan superoksida dismutase (SOD). Di samping itu terdapat penurunan lipid, asam fitat, oligosakarida, penghambat trypsin, dan tanin (Nout and Kiers, 2005; Egounlety and Aworh, 2003; Mo *et al.* 2013). Dalam fermentasi tersebut, berbagai mikroorganisme mengeluarkan enzim proteolitik yang mampu mengubah protein dalam kedelai menjadi peptida (seperti dipeptida, tripeptida, dan oligopeptida) yang memiliki banyak sifat biofungsional (Singh, *et al.* 2013; Sanjukta and Rai, 2016). Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa peptida dalam produk kedelai terfermentasi seperti *doenjang* (Korea), *douchi* (Cina), *natto* (Jepang), *thua nao* (Thailand), dan Tempe (Indonesia) memiliki sifat biofungsional seperti penghambatan *angiotensin I-converting enzyme* (ACE), antioksidan, antidiabetes, antikanker, antitrombotik, hipokolesterolemia, dan aktivitas *imunomodulator* (Shin, D. and Jeong, 2015; Wang *et al.* 2016; Sato *et al.* 2018; Tamam *et al.*, 2019).

Fermentasi merupakan suatu proses metabolisme yang menghasilkan produk-produk pecahan baru dan substrat organik karena adanya aktivitas atau kegiatan mikrobia. Fermentasi kedelai menjadi tempe oleh *R. oligosporus* terjadi pada kondisi anaerob. Hasil fermentasi tergantung pada fungsi bahan pangan atau substrat mikrobia dan kondisi sekelilingnya yang mempengaruhi pertumbuhannya. Dengan adanya fermentasi dapat menyebabkan beberapa perubahan sifat kedelai tersebut (Winarno, 1995). Tempe yang baik adalah tempe yang mempunyai bentuk kompak yang terikat oleh mycelium sehingga terlihat berwarna putih dan bila diiris terlihat

keeping kedelai (Lestari, 2005). Tempe yang selama ini dianggap makanan murahan, kini telah menjadi makanan internasional karena kandungan gizinya yang tinggi.

## 2. Nilai Gizi Kacang Kedelai dan Tempe

Hasil analisa proximat terhadap ketiga macam kacang kedelai (kedelai hitam, kedelai lokal dan kedelai impor) dan tepung tempe dari ketiga macam kedelai tersebut disajikan dalam Table 1 dan 2.

Tabel 1: Kandungan zat gizi proximat dari beberapa jenis kedelai

No	Zat Gizi	Satuan	Kedelai hitam	Kedelai lokal	Kedelai impor
1	Karbohidrat	%	31,99 <sup>a</sup>	29,75 <sup>a</sup>	30,50 <sup>a</sup>
2	Protein	%	36,87 <sup>a</sup>	45,19 <sup>b</sup>	35,95 <sup>a</sup>
3	Lemak	%	29,99 <sup>a</sup>	31,41 <sup>a</sup>	31,79 <sup>a</sup>
4	Kadar abu	%	4,67 <sup>a</sup>	4,60 <sup>a</sup>	5,56 <sup>a</sup>
5	Kadar air	%	12,6 <sup>a</sup>	12,29 <sup>a</sup>	11,71 <sup>a</sup>
6	Serat	%	15,4 <sup>a</sup>	15,18 <sup>a</sup>	19,48 <sup>b</sup>

Tabel 2: Kandungan zat gizi proximat dari tepung tempe beberapa jenis kedelai

No	Zat Gizi	Satuan	Sampel		
			T1	T2	T3
1	Karbohidrat	%	28,97 <sup>a</sup>	27,07 <sup>a</sup>	33,22 <sup>b</sup>
2	Protein	%	43,81 <sup>a</sup>	45,83 <sup>a</sup>	43,65 <sup>a</sup>
3	Lemak	%	17,35 <sup>a</sup>	17,84 <sup>a</sup>	21,75 <sup>a</sup>
4	Kadar abu	%	3,66 <sup>a</sup>	2,63 <sup>a</sup>	1,81 <sup>a</sup>
5	Kadar air	%	9,52 <sup>a</sup>	11,47 <sup>a</sup>	12,56 <sup>a</sup>
6	Serat	%	13,81 <sup>b</sup>	14,79 <sup>b</sup>	11,81 <sup>a</sup>

Keterangan: T1= Tepung tempe kedelai hitam; T2= Tepung tempe kedelai lokal; T3= Tepung tempe kedelai impor

Tabel 1 menunjukkan bahwa di antara ketiga macam kacang kedelai (kedelai hitam, kedelai lokal dan kedelai impor), kedelai lokal yang memiliki kadar protein yang tertinggi dengan rerata 45,19%. Adapun, kedelai hitam dan kedelai impor memiliki kandungan protein masing-masing 36,87% dan 35,95%. Kandungan karbohidrat, lemak, kadar abu dan kadar air ketiga macam kedelai tersebut relatif sama. Kandungan serat pada kedelai impor lebih tinggi daripada kedelai lainnya, yaitu sebesar 19,48%.

Tabel 2 menunjukkan bahwa kadar protein dari tepung tempe kedelai lokal paling tinggi dibandingkan tepung tempe kedelai yang lain, yaitu sebesar 45,83%, meskipun secara statistik tidak signifikan berbeda dengan tepung tempe kedelai hitam dan tempe kedelai impor (masing-masing 43,81% dan 43,65%). Kandungan serat pada tepung tempe kedelai lokal dan hitam (masing-masing 14,79% dan 13,81%) lebih tinggi dibandingkan tempe impor. Adapun tepung tempe kedelai impor memiliki kadar lemak tertinggi, yaitu sebesar 21,75%, tapi tidak signifikan berbeda dengan tempe lainnya. Kandungan zat gizi yang lain seperti karbohidrat, kadar abu, dan kadar air relatif sama di antara tepung tempe kedelai hitam, kedelai lokal dan impor.

Tempe mempunyai kandungan gizi protein yang merupakan zat gizi potensial karena nilai gizinya sebanding dengan sumber protein hewani seperti: daging sapi, susu sapi dan telur ayam (Koswara, 1992). Tempe mempunyai banyak manfaat. Selain memiliki kandungan serat tidak larut yang tinggi dan protein, tempe juga mengandung zat antioksidan berupa karoten, vitamin E, dan isoflavan. Itulah sebabnya tempe sering disebut sebagai bahan makanan yang dapat mencegah kanker (Wardlaw, 1999). Adanya kandungan vitamin B12 pada tempe, dipandang sebagai sesuatu yang unik oleh para ahli. Sampai saat ini asal vitamin itu belum diketahui dengan pasti. Ada yang menduga vitamin B12 itu berasal dari kapang yang tumbuh pada tempe, tetapi ada pula yang mengatakan berasal dari unsure lain. Bakteri ini sebenarnya merupakan mikroba kontaminasi. Vitamin B12 sangat berguna untuk membentuk sel-sel darah merah dalam tubuh sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit anemia. Selain itu, tempe juga banyak mengandung mineral, kalsium dan fosfor (Supriyono, 2003). Tempe juga mengandung superoksida dismutase yang dapat menghambat kerusakan sel dan proses penuaan. Dalam sepotong tempe, terkandung berbagai unsur yang bermanfaat, seperti protein, lemak, karbohidrat, serat, vitamin, enzim, deidzein, genestein serta komponen antibakteri dan zat antioksidan yang

berkhasiat sebagai obat, diantaranya genestein, deidzein, fitosterol, asam fitat, asam fenolat, lesitin dan inhibitor protease (Cahyadi, 2006).

### 3. Profil asam amino tepung tempe

Profil Asam amino tepung tempe dari kedelai hitam, kedelai lokal dan kedelai impor disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3: Profil asam amino tempe kedelai hitam, kedelai lokal dan impor

No	Asam amino	Satuan	Sampel		
			T1	T2	T3
1	L-Serin	mg/kg	31330,39	34021,52	28173,53
2	L-Asam glutamat	mg/kg	69759,03	74381,73	55663,18
3	L-Fenilalanin	mg/kg	37242,72	47247,64	38950,56
4	L-Isoleusin	mg/kg	24882,43	25956,14	21703,30
5	L-Valin	mg/kg	25632,55	25766,88	22263,35
6	L-Alanin	mg/kg	21024,74	21122,12	18772,64
7	L-Arginin	mg/kg	43447,36	49031,13	42987,41
8	Glisin	mg/kg	25511,41	27335,88	22831,92
9	L-Lisin	mg/kg	23776,38	20950,04	17282,30
10	L-Asam Aspartat	mg/kg	38891,68	40936,84	32341,96
11	L-Leusin	mg/kg	40569,68	42015,19	35199,32
12	L-Tirosin	mg/kg	20674,71	24407,66	22374,27
13	L-Prolin	mg/kg	24343,58	25737,15	20274,55
14	L-Threonin	mg/kg	25199,16	26894,44	22521,86
15	L-Histidin	mg/kg	17309,83	19339,05	17901,65

16	L-Sistin	mg/kg	13592,06	12745,41	7381,29
17	L-Metionin	mg/kg	3296,90	3191,47	2963,44

Tabel 3 menunjukkan profil asam amino dari beberapa tempe kedelai hitam, kedelai lokal dan kedelai impor. Jenis asam amino L-Asam glutamat, L-Arginin, L-Leusin dan L-Asam Aspartat mendominasi keberadaan asam amino pada ketiga jenis kacang kedelai tersebut, berkisar antara 30-75 ribu mg/kg. Adapun asam amino L-Metionin dan L-Sistin memiliki kandungan terendah dibandingkan jenis asam amino lainnya pada ketiga tepung tempe lainnya, berkisar antara 3-13 ribu mg/kg.

Kandungan asam amino tempe dari kedelai lokal (T2) lebih tinggi dibandingkan kandungan asam amino tempe dari kedelai hitam dan impor, yaitu pada asam amino L-Serin, L-Asam glutamat, L-Fenilalanin, L-Isoleusin, L-Valin, L-Alanin, L-Arginin, Glisin, L-Asam Aspartat, L-Leusin, L-Tirosin, L-Prolin, L-Treonin, dan L-Histidin. Adapun Tempe dari kedelai hitam (T1) memiliki kandungan asam amino L-Lisin, L-Sistin dan L-Metionin yang lebih tinggi dari lainnya.

Kehadiran asam amino dengan gugus aromatik dan alifatik, seperti *Pro* (P), *Phe* (F) atau *Tyr* (Y) pada atom C-terminal serta *Val* (V) dan *Ile* (I) pada posisi atom N-terminal diduga terkait dengan ACE (*Angiotensin I-Converting Enzyme*) inhibitor atau anti hipertensi (Wijesekara *et al.*, 2011). Disamping itu, asam amino yang memiliki karakter hidrofobik seperti *Try* (Y), *Phe* (F), *Trp* (W), *Ala* (A), *Ile* (I), *Val* (V), dan *Met* (M) serta asam amino bermuatan positif seperti *Arg* (R) dan *Lys* (K) menunjukkan afinitas yang baik dengan ACE (He *et al.*, 2012; Rai *et al.*, 2015). Peran peptida bioaktif sebagai antioksidan diduga karena kehadiran asam amino *Tyr* (Y), *Trp* (W), *Met* (M), *Lys* (K) dan *Cys* (C) yang memiliki kemampuan mereduksi ion  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$  dan mengikat (chelate) ion  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{Cu}^{2+}$  (Carrasco-Castilla *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2010). Sedangkan asam amino aromatik yang memiliki gugus fenol, indol dan imidazole seperti *Trp*, *Tyr*, *Phe*, *His* dapat berperan sebagai donor elektron dan secara efisien menangkap senyawa radikal (Duan *et al.*, 2014; Sarmadi dan Ismail, 2010).

Peran antimikroba dari peptida bioaktif diduga karena karakter hidrofobisitas dari peptida tersebut. Peptida yang memiliki hidrofobisitas tinggi mengandung sekuen asam amino yang kaya akan *Gly* (G) dan *Leu* (L). Sedangkan kehadiran residu asam amino *Arg* (R) yang memiliki gugus kation dilaporkan memainkan peran penting sebagai antimikroba karena dapat berinteraksi dengan dinding sel bakteri (Amadou *et al.*, 2013; Tang *et al.*, 2015). Meskipun demikian, Dashper *et al.* (2007) menyatakan bahwa mekanisme aksi dari peptida antimikroba belum jelas mengingat demikian banyak jumlah antimikroba yang telah ditemukan.

#### 4. Ekstraksi dan ultrafiltrasi protein

Ekstraksi protein dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu pengeringan tempe, penepungan, ekstraksi dengan pelarut (acetonitril, triflouoroacetic acid (TFA) dan air destilat), sonikasi, sentrifugasi dan mikrofiltrasi (membran N47 regenerated berukuran 0,45  $\mu\text{m}$ ).

Prosedur ekstraksi adalah sebagai berikut yaitu tempe hitam, tempe lokal dan tempe impor sebanyak 250 g masing-masing diiris tipis (dengan ketebalan 1 mm), kemudian dikeringkan dengan oven (suhu 60 °C) selama 7 jam dan dihaluskan menjadi tepung. Tepung tempe dilarutkan dengan 30 ml acetonitrile (Merck, Germany), 10% (v/v) trifluoroacetic acid (TFA) (Merck, Germany), and distilled water (1:0.02:1, v:v:v). Larutan tersebut kemudian disonikasi selama 5 menit dan diinkubasi di dalam shaking water bath selama 60 min at 30 °C dan akhirnya disentrifuge pada 20,000  $\times g$  for 25 min at 4 °C (Himac CR21G, Hitachi, Tokyo, Japan). Supernatan yang terbentuk dikumpulkan dan difilter menggunakan 0,45  $\mu\text{m}$  regenerated N47 membrane. Filtrat kemudian disimpan pada suhu -21 °C untuk proses lanjut.

Filtrat kemudian diultrafiltrasi dengan sentrifugasi menggunakan Amicon Ultra 2 Ultra Cel 10 (molecular weight cut off/MWCO 10 kDa) (Sigma Aldrich, USA). Sentrifugasi berlangsung selama 60 menit pada 3500 x g dan 20 oC. Fraksi dengan berat molekul < 10 kDa dikumpulkan dan disimpan pada -21 oC untuk tahap berikutnya.

Dokumentasi tahapan pembuatan Tempe, ekstraksi hingga ultrafiltrasi dapat dilihat di Lampiran 1.

## 5. Pengujian penghambatan enzim ACE

Penghambatan enzim ACE dilakukan menggunakan metode kit dan spektrofotometri. Langkah yang dilakukan sebagai berikut:

### a. Persiapan sampel

Sampel (tepung tempe dan filtrat tempe) dikeluarkan dari freezer. Tepung tempe diencerkan dengan aquades dengan perbandingan (1:1). Ekstrak filtrat tempe disiapkan setelah dikeluarkan dari freezer.

### Pengujian penghambatan ACE

a. Pengujian penghambatan ACE dilakukan dengan menggunakan kit antihipertensi, ACE Biosource (Sigma Aldrich).

b. Pengujian aktivitas penghambatan ACE juga dilakukan secara in vitro dengan menggunakan metode spektrofotometer.

Uji aktivitas penghambatan ACE diukur dengan 5 mM HHL (Hipuril Histidine Leucine) sebagai substrat dengan metode spektrofotometri menurut Chang et al. (2001) dengan sedikit modifikasi: reaksi dihentikan dengan menambah 0.7 ml dari 0.1 M borate buffer with 0.2 M NaOH. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 390 nm dan penghambatan ACE diukur dengan perhitungan berikut:

$$\text{ACE inhibition(\%)} = [1 - ((A1 - A2)/A3] * 100\%, \text{ where :}$$

A1 adalah absorbansi sampel dengan ACE dan penghambat (*inhibitor*). A2 adalah absorbansi sampel dengan penghambat (*inhibitor*), tanpa ACE. A3 adalah absorbansi sampel dengan ACE dan tanpa penghambat. IC<sub>50</sub> berhubungan dengan konsentrasi peptida yang diperlukan untuk menghambat ACE hingga 50%, ditentukan setiap sampel. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dari grafik penghambatan plotting untuk 5 konsentrasi peptida yang berbeda.

Reagen	A1	A2	A3
Larutan sampel	100 µl	100 µl	-
ACE solution	100 µl	-	100 µl
HHL solution	100 µl	-	100 µl
Buffer A	-	200 µl	100 µl

Note:

Buffer A : 20 mM sodium dan 0,3 M NaCl

Masa inkubasi : 25 oC selama 20 menit

Reaksi dihentikan : 0,7 ml dari 0,1 M sodium borate dan 0,2 M NaOH

## **BAB VI**

### **RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA**

Tahap berikutnya yang akan dilakukan adalah melakukan pengujian aktivitas antihipertensi secara *in vivo*, yaitu menggunakan tikus eksperimen. Metode pengujian secara *in vivo* dapat dilihat pada penjelasan di bawah ini.

Pengujian *in vivo* dilakukan dengan cara adaptasi terhadap tikus kurang lebih selama 14 hari dan dipuaskan 8-16 jam, diukur tekanan darah awal tikus kemudian tikus diinduksi Prednison® dan NaCl 2% dengan volume pemberian masing-masing 2 ml/200 g BB secara oral selama 14 hari lalu diukur tekanan darah. Selanjutnya tikus dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yaitu kelompok 1 sebagai kontrol positif dengan pemberian obat antihipertensi Kaptopril® pada hari ke 15 yang sebelumnya telah diinduksi NaCl 2 ml/200 g BB dan Prednison® dengan volume pemberian sebanyak 2 ml/200 g BB selama 14 hari, kelompok 2 sebagai kontrol negatif dengan pemberian CMC 1% b/v pada hari ke-15 yang sebelumnya telah diinduksi NaCl 2 ml/200 g BB dan Prednison® dengan volume pemberian sebanyak 2 ml/200 g BB selama 14 hari sedangkan untuk kelompok 3, 4 dan 5 merupakan kelompok uji dengan pemberian ekstrak ekstrak tempe dengan dosis I (1 ml/kgBB), dosis II (2 ml/kgBB), dan dosis III (3 ml/kgBB) pada hari ke-15 yang sebelumnya telah diinduksi NaCl 2 ml/200 g BB dan Prednison® dengan volume pemberian sebanyak 2ml/200 g BB selama 14 hari. Penginduksian dengan NaCl 2 ml/200 g BB dan Prednison® dan pemberian bahan uji dilakukan satu kali sehari secara oral dengan menggunakan sonde dan dilakukan pada jam yang sama. Pengukuran tekanan darah dilakukan pada hari ke-0, 14 dan 28.

Pengukuran Tekanan Darah Hewan Uji Pengukuran tekanan darah dilakukan dengan cara terlebih dahulu tikus dimasukkan kedalam restainer (kandang individual) yang berukuran tepat untuk satu tubuh tikus dengan ekor menjuntai keluar, kemudian ekor tikus dijepit dengan alat pressure kit lalu dihubungkan pada pressure meter, untuk mengetahui tekanan darah sistolik dan diastolik. Prinsip kerja pengukuran tekanan darah adalah cuff digeletungkan sampai mencapai tekanan darah diatas tekanan darah sistolik, sehingga nadi menghilang kemudian tekanan cuff dikurangi perlahan-lahan. Pada saat tekanan darah mencapai dibawah tekanan sistolik nadi akan muncul pada layar kaca monitor.

## **BAB VII**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

1. Prosedur pembuatan tempe dari kedelai hitam, lokal, dan impor terdiri dari pencucian, perebusan selama setengah jam, perendaman selama 24 jam, pengupasan kulit kedelai, blanching, penirisan, inukolasi dengan ragi tempe, dan inkubasi pada suhu ruang selama 35 jam.
2. Tempe yang berasal dari kedelai lokal memiliki kandungan tertinggi pada senyawa protein dan serat. Adapun tempe yang dibuat dari kedelai impor memiliki kandungan tertinggi kandungan lemak.
3. Jenis asam amino L-Asam glutamat, L-Arginin, L-Leusin dan L-Asam Aspartat ditemukan terbanyak dibandingkan asam amino lainnya pada ketiga jenis kacang kedelai tersebut.
4. Tempe dari kedelai lokal memiliki kandungan asam amino yang terbanyak yaitu L-Serin, L-Asam glutamat, L-Fenilalanin, L-Isoleusin, L-Valin, L-Alanin, L-Arginin, Glisin, L-Asam Aspartat, L-Leusin, L-Tirosin, L-Prolin, L-Treonin, dan L-Histidin. Adapun Tempe dari kedelai hitam memiliki kandungan tertinggi pada beberapa asam amino yaitu L-Lisin, L-Sistin dan L-Metionin. Tempe dari kedelai impor (T3) memiliki kandungan asam amino yang paling rendah.

#### **B. Saran**

Penelitian masih perlu dilanjutkan dengan uji antihipertensi (penghambatan enzim ACE) pada filtrat tempe dari berbagai kacang kedelai, kemudian diuji secara *in vivo*.

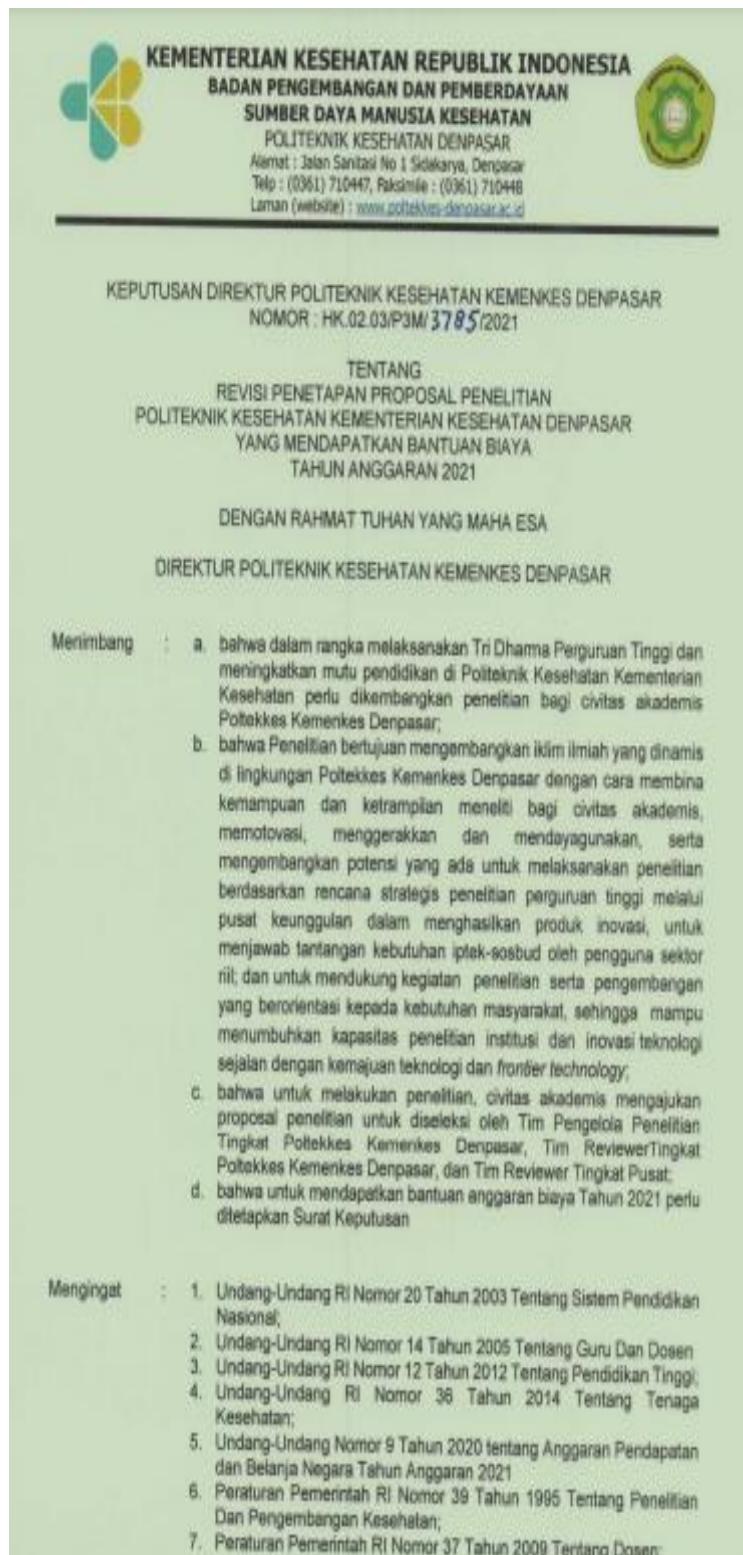
## DAFTAR PUSTAKA

- Astuti, M. *et al.* (2000) ‘Tempe , a nutritious and healthy food from Indonesia’, *Asia Pasific Journal of Clinical Nutrition*, 9(May), pp. 322–325.
- Boelsma, E. and Kloek, J. (2009) ‘Lactotripeptides and antihypertensive effects: a critical review’, *The British journal of nutrition*, 101(6), pp. 776–786. doi: 10.1017/S0007114508137722.
- Capriotti, A. L. *et al.* (2015) ‘Journal of Food Composition and Analysis Identification of potential bioactive peptides generated by simulated gastrointestinal digestion of soybean seeds and soy milk proteins’, *journal of food composition and analysis*, 44, pp. 205–213. doi: 10.1016/j.jfca.2015.08.007.
- de Castro, R. and Sato, H. H. (2015) ‘Biologically active peptides : Processes for their generation , purifi cation and identifi cation and applications as natural additives in the food and pharmaceutical industries’, *Food Research International*. Elsevier B.V., 74, pp. 185–198. doi: 10.1016/j.foodres.2015.05.013.
- Clemente, A. (2000) ‘Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition’, *Trends in Food Science & Technology*, 11(7), pp. 254–262. doi: 10.1016/S0924-2244(01)00007-3.
- Dajanta, K. *et al.* (2011) ‘Free-amino acid profiles of thua nao, a Thai fermented soybean’, *Food Chemistry*, 125, pp. 342–347. doi: 10.1016/j.foodchem.2010.09.002.
- Egounlety, M. and Aworh, O. C. (2003) ‘Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with Rhizopus oligosporus on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Ha’’, *Journal of Food Engineering*, 56(2–3), pp. 249–254. doi: 10.1016/S0260-8774(02)00262-5.
- Gibbs, B. F. *et al.* (2004) ‘Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food’, *Food Research International*, 37, pp. 123–131. doi: 10.1016/j.foodres.2003.09.010.
- Gilani, G., Xiao, C. and Lee, N. (2008) ‘Need for accurate and standardized determination of amino acids and bioactive peptides for evaluating protein quality and potential health effects of foods and dietary supplements’, *Journal of AOAC International*, 91(4), pp. 894–900.
- Herman, E. M. (2014) ‘Soybean seed proteome rebalancing’, *Frontiers in Plant Science*, 5(437), pp. 1–8. doi: 10.3389/fpls.2014.00437.
- Mo, H. *et al.* (2013) ‘Effect of soybean processing on content and bioaccessibility of folate, vitamin B12 and isoflavones in tofu and tempe’, *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 141(3), pp. 2418–2425. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.05.017.
- Nakahara, T. *et al.* (2010) ‘Antihypertensive effect of peptide-enriched soy sauce-like

- seasoning and identification of its angiotensin I-converting enzyme inhibitory substances’, *Journal of Agricultural and food chemistry*, 58(2), pp. 821–827. doi: 10.1021/jf903261h.
- Nout, M. J. R. and Kiers, J. L. (2005) ‘Tempe fermentation, innovation and functionality: Update into the third millennium’, *Journal of Applied Microbiology*, 98(4), pp. 789–805. doi: 10.1111/j.1365-2672.2004.02471.x.
- Nurdini, A. L. et al. (2015) ‘Microbial growth dynamics during tempe fermentation in two different home industries’, *International Food Research Journal*, 22(4).
- Ortiz-Martinez, M., Winkler, R. and Garcia-Lara, S. (2014) ‘Preventive and therapeutic potential of peptides from cereals against cancer’, *J Proteomics*, 5(111), pp. 165–183. doi: 10.1016/j.jprot.2014.03.044.
- Ryan, J. et al. (2011) ‘Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish’, *Nutrients*, 3, pp. 765–791. doi: 10.3390/nu3090765.
- Sanjukta, S. and Rai, A. K. (2016) ‘Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits’, *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, 50, pp. 1–10. doi: 10.1016/j.tifs.2016.01.010.
- Schaafsma, G. (2009) ‘Safety of protein hydrolysates, fractions thereof and bioactive peptides in human nutrition’, *European journal of clinical nutrition*, 63(10), pp. 1161–1168. doi: 10.1038/ejcn.2009.56.
- Shin, D. and Jeong, D. (2015) ‘Korean traditional fermented soybean products: Jang’, *Journal of Ethnic Foods*. Elsevier Ltd, 2(1), pp. 2–7. doi: 10.1016/j.jef.2015.02.002.
- Singh, B. P., Vij, S. and Hati, S. (2014) ‘Functional significance of bioactive peptides derived from soybean’, *Peptides*. doi: 10.1016/j.peptides.2014.01.022.
- Tamam, B. et al. (2019) ‘Proteomic study of bioactive peptides from Tempe’, *Journal of Biosciences and Bioengineering*, 128(2), pp. 241–248. doi: 10.1016/j.jbiosc.2019.01.019.
- Wang, H. et al. (2016) ‘Changes of Composition and Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE)-inhibitory activity during Douchi fermentation’, *International Journal of Food Properties*, 19(11), pp. 2408–2416. doi: 10.1080/10942912.2015.1040122.
- Wang, W. and De Mejia, E. G. (2006) ‘A New Frontier in Soy Bioactive Peptides that May Prevent Age-related Chronic Diseases’, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4(4), pp. 63–78. doi: 10.1111/j.1541-4337.2005.tb00075.x.
- Zhang, Y. et al. (2006) ‘Prehypertension, diabetes, and cardiovascular disease risk in a population-based sample: the Strong Heart Study’, *Hypertension*, 47(3), pp. 410–414. doi: 10.1161/01.HYP.0000205119.19804.08.

## Lampiran 1.

### SK Penelitian



8. Peraturan Pemerintah RI Nomor 41 Tahun 2009 Tentang tunjangan profesi guru dan dosen, tunjangan khusus guru dan dosen serta tunjangan kehormatan professor;
9. Peraturan Pemerintah RI Nomor 4 Tahun 2014 Tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi Dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
10. Peraturan Menteri Pendayagunaan Aparatur Negara dan Reformasi Birokrasi Nomor 17 Tahun 2013 sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Menteri Pendayagunaan Aparatur Negara dan Reformasi Birokrasi Nomor 46 Tahun 2013 tentang Perubahan atas Peraturan Menteri Pendayagunaan Aparatur Negara dan Reformasi Birokrasi Nomor 17 Tahun 2013 tentang Jabatan Fungsional Dosen dan Angka Kredinya;
11. Peraturan Menteri Pendidikan Nasional RI Nomor 47 Tahun 2009 tentang Sertifikasi Pendidik Untuk Dosen;
12. Peraturan Bersama Menteri Pendidikan dan Kebudayaan RI dan Kepala Badan Kepegawaian Negara Nomor 4/VIII/PB/2014 dan Nomor 24 Tahun 2014 tentang Ketentuan Pelaksanaan Jabatan Fungsional Dosen dan Angka Kredinya;
13. Peraturan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan Nomor 49 Tahun 2014 tentang Standar Nasional Pendidikan Tinggi;
14. Peraturan Menteri Pendidikan dan Kebudayaan RI Nomor 82 Tahun 2014 tentang Petunjuk Teknis Pelaksanaan Penilaian Angka Kredit Jabatan Fungsional Dosen dan Angka Kredinya;
15. Peraturan Menteri Riset, Teknologi, Dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 44 Tahun 2015 Tentang Standar Nasional Pendidikan Tinggi;
16. Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 64 Tahun 2015 Tentang Organisasi Dan Tata Kerja Kementerian Kesehatan;
17. Keputusan Direktur Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Dan Kebudayaan RI No.48/D3/Kep/1983 Tentang Beban Tugas Tenaga Pengajar Pada Perguruan Tinggi;
18. Keputusan Menteri Kesehatan RI Nomor HK.02.03.I.2/08810/2013 Tentang Perubahan Kedua Atas Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor HK.03.05.I.2/03086/2012 Tentang Petunjuk Teknis Organisasi dan Tata Laksana Poltekkes Kemenkes;
19. Keputusan Kepala Badan Pengembangan dan Pemberdayaan Sumber Daya Manusia Kesehatan Kementerian Kesehatan RI Nomor HK.02.03.IV.1/07264/2014 tentang Pedoman Penghitungan Beban Kerja Dosen Poltekkes Kemenkes.

Memperhatikan :

1. Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Politeknik Kesehatan Denpasar Tahun Anggaran 2020, Nomor SP.DIPA-024.12.2.632181/2021 tanggal 23 Nopember 2020 serta Petunjuk Operasional Kegiatannya
2. Buku Pedoman Penelitian Bagi Poltekkes Kemenkes Tahun 2020, SK Kepala Badan PPSDM Kesehatan Kemenkes RI Nomor HK.02.02.III/0188/2020
3. Berita Acara Nomor: DP.02.01/P3M/8782/2020 tanggal 1 Oktober 2020 Tentang Berita Acara Seminar Proposal Penelitian Pemula, Penelitian Kerjasama Antar Perguruan Tinggi, Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi, dan Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi, Berbasis Kompetensi Poltekkes Kemenkes Denpasar Tahun 2021
4. Berita Acara Nomor: DP.02.01/P3M/11750/2020 tanggal 30 Desember 2020 Tentang Berita Acara Penilaian Proposal Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi Poltekkes Kemenkes Denpasar Tahap II Tahun 2021

**MEMUTUSKAN**

- Menetapkan : **KEPUTUSAN DIREKTUR POLITEKNIK KESEHATAN DENPASAR TENTANG REVISI PENETAPAN PROPOSAL PENELITIAN POLITEKNIK KESEHATAN KEMENTERIAN KESEHATAN DENPASAR YANG MENDAPAT BANTUAN BIAYA TAHUN ANGGARAN 2021**
- Pertama : Menuruk nama-nama seperti yang tercantum pada Lampiran Surat Keputusan ini sebagai Peneliti Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar yang dinyatakan Lulus Seleksi dan Mendapat Bantuan Biaya Tahun Anggaran 2021.
- Kedua : Semua pembayaran yang dikeluarkan berkenaan dengan kegiatan tersebut dibebarkan kepada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Politeknik Kesehatan Denpasar Tahun Anggaran 2020, Nomor SP.DIPA-024.12.2.532181/2021 tanggal 23 Nopember 2020 MAK. 5034.DOC.(001, 006, 007, 008) 052.A.521210
- Ketiga : Keputusan ini berlaku sejak tanggal ditetapkannya, dengan ketentuan apabila terdapat kekeliruan dalam penetapan ini akan diadakan perubahan sebagaimana mestinya.

Ditetapkan di Denpasar  
Pada tanggal 22 Maret 2021



Tembusan disampaikan kepada Yth. :

1. Kepala Badan PPSDM Kesehatan Kemenkes RI, Minst : Sekretaris Badan PPSDM Kementerian Kemenkes RI
2. Ketua Senat Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar
3. Ketua SPI Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar
4. Para Ketua Jurusan di lingkungan Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar
5. Yang bersangkutan untuk makum dan dilaksanakan dengan perlu tanggung jawab

NO	JUDUL	NAMA	NIDN	PRODI	BIAYA
18	Analisis Konsumsi Zat Gizi Mikro Dan Kadar Femtin Pada Remaja Putri Di Kabupaten Gianyar Di Provinsi Bali	Ida Ayu Eka Padmiani, SKM, M.Kes	4017046401	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	60.000.000
		Pande Putu Sri Sugiani, DCN, M.Kes	4027126402	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	
19	Aktivitas Antihipertensi Tempe Telaah In Vito Dan In Vivo	Dr. Badnut Tamam, STP, M.BioTech;	4017127001	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	64.000.000
		I Gita Putu Sudita Puryana, STP, MP;	4010117401	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	
		Dr Ni Ketut Subari, SKM, M.Kes	0026127703	Program Studi MIKM Fakultas Kedokteran UNUD	
20	Formula "Ke-Kame-Tu" Tinggi Protein dan Zink Sebagai Bahan Dasar PMT Balita	Dr. Ir. I Komang Agusjaya Mataram, M.Kes.	4016086203	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	67.519.000
		A.A. Gde Raka Kyanaya, SST, M.Kes	4001045701	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	
21	Pengembangan Intervensi Obesitas Anak Masa Pandemi Covid-19 Pendekatan Keluarga Dan Media Konsultasi Online Di Kota Denpasar	Dr. I Putu Suiraoka, S.ST., M.Kes.	4024017301	Program Studi Gizi dan Dietetika Program Sarjana Terapan	33.639.000
		Ir.Hertog Nursariyoto, M.Kes	4024017301	Program Studi Gizi Program Diploma Tiga	
22	Model Pendekatan Perencanaan Kontijensi Dalam Meningkatkan Kesiapsiagaan Ibu Hamil Dan Keluarga Menghadapi Erupsi Gunung Agung	Nengah Runiani, S.Kp, S.Pd, M.Kep, Sp.Mal	4019027201	Program Studi Keperawatan Program Pendidikan Profesi Ners	59.600.000
		Dr. Drs I Dewa Made Rusawan, S.Kp, M.Biomed	40150566001	Program Studi Keperawatan Program Sarjana	

### Lampiran 3

#### SK Tim Peneliti



KEPUTUSAN DIREKTUR POLITEKNIK KESIHATAN KEMENKES DENPASAR  
NOMOR : HK.02.03/P3M/4443/2021

TENTANG  
SUSUNAN TIM PENELITI  
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI DENGAN JUDUL  
AKTIVITAS ANTIHIPERTENSI TEMPE: TELAH SECARA IN VITRO

DENGAN RAHMAT TUHAN YANG MAHA ESA

DIREKTUR POLITEKNIK KESEHATAN KEMENKES DENPASAR

Menimbang	a. bahwa dalam rangka melaksanakan Tri Dharma Perguruan Tinggi Guru, Pengembangan Diri, Pendidikan di Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan perlu dilakukan penelitian bagi civitas Akademika Politeknik Kesehatan Denpasar. b. berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 10 Tahun 2009 tentang Susunan Menteri Negara, Koordinator Bidang Pendidikan, Pengembangan dan Pemberdayaan Aparatur Negara nomor 20/Kep/MENKES/8/1999 Tanggal 24 Agustus 1999 diperlukan peraturan untuk membentuk Tim Penelitian Dasar Untuk Pengembangan dan Peningkatan Kualitas Pendidikan Dalam Rangka Mewujudkan Tujuan Akademik Universitas Tempe: Telaah secara In Vitro yang ditetapkan dengan Surat surat Perintah c. bahwa untuk melaksanakan tersebut di atas perlu ditetapkan nama-nama sebagai yang berantum dalam satu koordinasi ini yang siap cakap dan memenuhi syarat-syarat yang diperlukan untuk dilaksanakan tugas-tugasnya.
Mengingat	1. Undang-Undang RI Nomor 20 Tahun 2003 Tentang Sistem Pendidikan Nasional; 2. Undang-Undang RI Nomor 14 Tahun 2005 Tentang Guru Dan Dosen; 3. Undang-Undang RI Nomor 12 Tahun 2012 Tentang Pendidikan Tinggi; 4. Undang-Undang RI Nomor 36 Tahun 2014 Tentang Tenaga Kependidikan; 5. Undang-Undang Nomor 9 Tahun 2020 tentang Anggaran Pendapatan dan Belanja Negara Tahun Anggaran 2021; 6. Peraturan Pemerintah RI Nomor 39 Tahun 1995 Tentang Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan; 7. Peraturan Pemerintah RI Nomor 37 Tahun 2009 Tentang Dosen; 8. Peraturan Pemerintah RI Nomor 41 Tahun 2009 Tentang Bantuan profesi guru dan dosen bantuan khusus guru dan dosen serta jurnal dan kehormatan profesor; 9. Peraturan Pemerintah RI Nomor 4 Tahun 2014 Tentang Penyelegaran Pendidikan Tinggi Dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;



MEMUTUSKAN	
<b>Mendukung</b>	: KEPUTUSAN DIREKTUR POLITEKNIK KESIHATAN DENPASAR TENTANG SUSUNAN TIM PENELITI PENELITIAN DASAR UNGGULAN PENGURUAN TINGGI DENGAN JUDUL AKTIVITAS ANTIHIPERTENSI TEMPE: TELAAH SECARA IN VITRO
Pertama	: Menunjuk nama-nama seperti yang tercantum pada Lampiran Surat Keputusan ini sebagai Tim Peneliti Penelitian Dasar Unggulan Penguruan Tinggi dengan Judul Aktivitas Anthoni Tempe secara In Vitro
Kedua	: Mengatakan uraian tugas Tim Peneliti Penelitian Dasar Unggulan Penguruan Tinggi Politeknik Kesehatan Kementerian Denpasar sebagai berikut: <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Melaksanakan penelitian sesuai dengan protokol penelitian yang telah disahkan oleh Direktur Politeknik Kesehatan Kementerian Denpasar.</li> <li>2. Melaporkan perkembangan penelitian ke Tim Pengelola Penelitian tingkat Politeknik Kesehatan Kementerian Denpasar</li> <li>3. Melakukan hasil penelitian melaksanakan seminar hasil dan membuat laporan akhir penelitian.</li> </ol>
Ketiga	: Tim Peneliti dalam menjalankan tugasnya dapat berkonsultasi dan menghubungkan pihak-pihak terkait di bawah dan diluar Kementerian Denpasar.
Keempat	: Dalam melaksanakan tugas Tim Peneliti bertanggung jawab kepada Direktur Politeknik Kesehatan Kementerian Denpasar.
Kelima	: Semua pembayaran yang dikeluarkan berkenaan dengan kegiatan tersebut dibebankan kepada "Dana" Iuran Pendidikan Anggaran (DIPA) Politeknik Kesehatan Kementerian Denpasar Tahun Anggaran 2021. Nomor SP/DIPA/024/12.2/532/181/2021 Sebagaimana diundang pada 23 November 2020 serta Pelunjak Operasional Kegiatannya dengan MAX 5034.000,-
Kesemua	: Kesulitan dalam pelaksanaan tugas dapat dituntaskan dengan kooperasi bersama kesehingga dalam pelaksanaan tugas akan diizinkan untuk dilaksanakan.

Ditatakan di Denpasar  
XXXXXX XXXX/2021

DIREKTUR POLTEKKES KEMENKES DENPASAR,

ANAKAGUNG NGURAH KUSUMAJAYA

Tembusan Yth:

1. Kepala Badan PPSDM Kesehatan Kementerian RI, Minal : Sekretaris Badan PPSDM Kementerian Kesehatan RI
2. Ketua Senat Politeknik Kesehatan Kementerian Denpasar
3. Ketua SP1 Politeknik Kesehatan Kementerian Denpasar
4. Para Ketua Jurusan dan Lingkungan Politeknik Kesehatan Kementerian Denpasar
5. Yang bersangkutan untuk melihat dan dilaksanakan dengan perlu tanggung jawab

Lampiran 1. : Surat Keputusan Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Denpasar  
Nomor : HK.02.03/ P3M/4448 / 2021  
Tanggal : 7 April 2021

---

SUSUNAN TIM PENELITI  
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI DENGAN JUDUL  
AKTIVITAS ANTIHIPERTENSI TEMPE: TELAAH SECARA *IN VITRO*

Ketua : Dr. Badrut Tamam, STP, M.Biotech (Poltekkes Kemenkes Denpasar)

Anggota : I Gst Putu Sudita Puryana, STP, MP (Poltekkes Kemenkes Denpasar)

Dr. Ni Ketut Sutiari, S.KM, MSi (PSKM Universitas Udayana)

Pembantu Peneliti : Fitria Slameut, STP (Mahasiswa Pascasarjana)

Amy Yelly Kusmawati, S.KM, M.P (Teknisi Laboratorium)

Pengolah Data : Meilina, ST (Swasta)

DIREKTUR POLTEKKES KEMENKES DENPASAR,

ANAK AGUNG NGURAH KUSUMAJAYA

## Lampiran 4

### Surat Ijin Penelitian



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,  
RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS UDAYANA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIT LABORATORIUM BIOMEDIK TERPADU  
Jl. PB. Sudirman, Denpasar 80232 Bali (0361) 222510 ext. 402

No. : 094 /UNI4.2.2.VII.6/LT/2021

### PERSETUJUAN PELAKSANAAN PENELITIAN

Dengan ini dinyatakan bahwa :

Nama : Dr. Badru Tamam, S.TP., M. Biotech  
Instansi : Poltekkes Denpasar  
Judul Penelitian : Aktifitas Antihipertensi Tempe - Telur secara In vitro

disetujui permohonannya untuk dapat melaksanakan penelitian di Laboratorium Biomedik Terpadu FK Unud. Selanjutnya, yang tersebut diatas diwajibkan mematuhi peraturan yang berlaku dan menyelesaikan administrasi yang diperlukan.



Mengelakui,  
At Dekan FK Unud  
Wadik Bidang Akademik dan Perencanaan  
Dewa Made Sukrama  
NIP. 195810101987021001



Ni Nyoman Ayu Dewi  
NIP. 197711102002122009

## Lampiran 5

### Persetujuan kaji etik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET  
DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS UDAYANA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
**UNIT KOMISI ETIK PENELITIAN**

Alamat: Jalan P. Serangan, Denpasar Bali 80114  
Telp (0361) 222510, Fax 0361) 246656 Email: [mistik\\_fk@unud.ac.id](mailto:mistik_fk@unud.ac.id)  
Laman : <https://mistik.unud.ac.id>

---

Nomor : 2068/UN14.2.2.VII.14/LT/2021  
Lampiran : 1 lembar  
Hal : Penyerahan Ethical Clearance

Kepada Yth

Dr. Badru Tamam, STP.,M.Biotech

di Tempat

Dengan hormat,

Bersama ini kami menyerahkan *Ethical Clearance/Keterangan Kelaikan Etik* Nomor:

2068/UN14.2.2.VII.14/LT/2021, tertanggal 05 Agustus 2021

Hal-hal yang perlu diperhatikan:

1. Setelah selesai penelitian wajib menyerahkan 1 (satu) copy hasil penelitiannya.
  2. Jika ada perubahan yang menyangkut dengan hal penelitian tersebut mohon melaporkan
- Ke Komisi Etik Penelitian (KEP) Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Denpasar, 12 - 08 - 2021  
Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran  
Universitas Udayana  
Kenaia.

  
Prof. Dr. dr. I Gde Raka Widiana, Sp.PD-KGH  
NIP 195607071982111001

Tembusan :

1. Direktur Program Studi POLITEKNIK Kesehatan Denpasar
2. Ka. Departemen Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Udayana
3. Ansip,-



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET  
DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS UDAYANA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
**UNIT KOMISI ETIK PENELITIAN**

Alamat: Jalan P. Serangan, Denpasar Bali 80114  
Telp (0361) 222510, Fax 0361) 246656 Email: [mistik\\_fk@unud.ac.id](mailto:mistik_fk@unud.ac.id)  
Laman : <https://mistik.unud.ac.id>

---

Nomor : 2068/UN14.2.2.VII.14/LT/2021  
Lampiran : 1 lembar  
Hal : Penyerahan *Ethical Clearance*

Kepada Yth

Dr. Badru Tamam, STP.,M.BioTech

di Tempat

Dengan hormat,

Bersama ini kami menyerahkan *Ethical Clearance*/Keterangan Kelaikan Etik Nomor:

2068/UN14.2.2.VII.14/LT/2021, ter tanggal 05 Agustus 2021

Hal-hal yang perlu diperhatikan:

1. Setelah selesai penelitian wajib menyerahkan 1 (satu) copy hasil penelitiannya.
2. Jika ada perubahan yang menyangkut dengan hal penelitian tersebut mohon melaporkan

Ke Komisi Etik Penelitian (KEP) Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Denpasar, 12 - 08 - 2021  
Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran  
Universitas Udayana  
AKenu,

Prof. Dr. dr. I Gde Raka Widiana, Sp.PD-KGH  
NIP 19560707198211001

Tembusan :

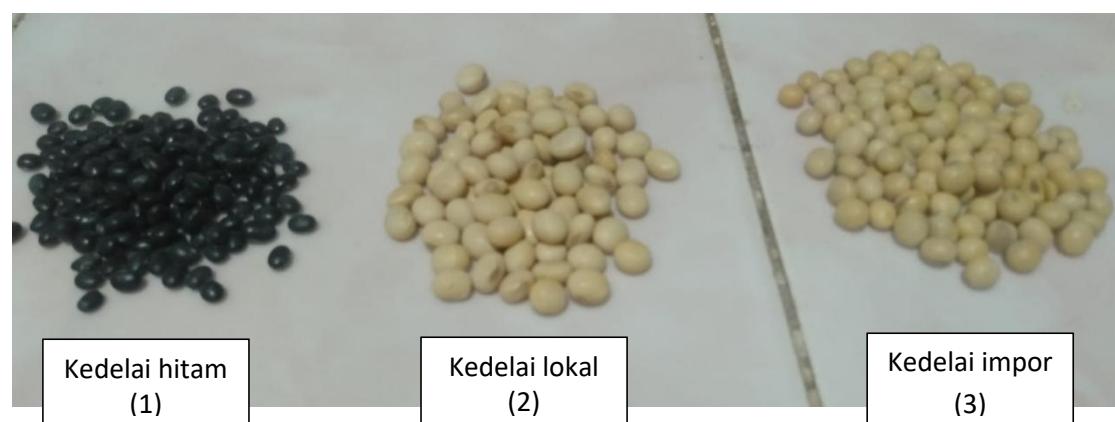
1. Direktur Program Studi POLITEKNIK Kesehatan Denpasar
2. Ka. Departemen Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Udayana
3. Ansip,

## Lampiran 7

### INSTRUMEN PENELITIAN

No	Kegiatan	Instrumen yang digunakan
1	Pembuatan Tempe	Peralatan pengolahan tempe, seperti panci stainlessteel, kompor, ragi tempe dll
2	Ekstraksi protein	Erlenmeyer, sonicator, waterbath, microfilter, sentifuge.
3	Uji Proximat	Karbohidrat : Spektrofotometer Protein : Metode Kjeldahl Lemak : Metode Soxlet Kadar abu : gravimetri Kadar air : gravimetri Kadar serat : gravimetri
3	Uji Profil Asam Amino	Metode kromatografi
4	Uji Antihipertensi	Metode ELISA (kit antihipertensi)

Dokumentasi instrumen penelitian:





Sampel T1



Sampel T2



Sampel T3

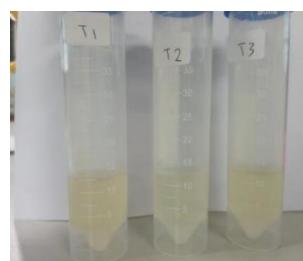
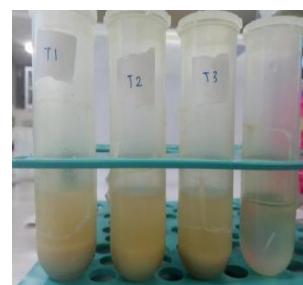
b. Sonikasi



c. Water bath shaker

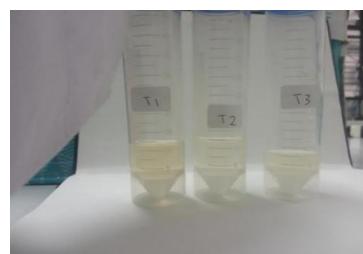


d. Sentrifugasi



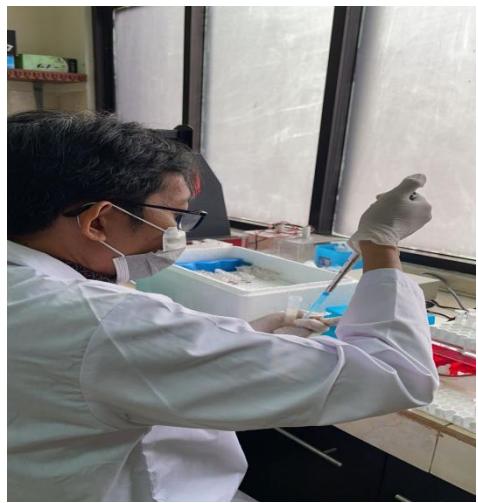


e. Filtrasi membran



f. Ultrafiltrasi





Lampiran 8.

Hasil Pengolahan Data Akhir

Uji Proximat untuk tiga macam kedelai														
No	Zat Gizi	Satuan	Kedelai hitam				Kedelai lokal				Kedelai impor			
			1	2	3	Rerata	1	2	3	Rerata	1	2	3	Rerata
1	Karbohidrat	%	31,12	32,34	31,64	31,99	29,12	30,34	29,79	29,75	29,68	30,89	30,94	30,50
2	Protein	%	36,24	37,65	36,72	36,87	44,67	45,89	45,01	45,19	35,22	36,65	35,99	35,95
3	Lemak	%	29,43	30,78	29,75	29,99	30,89	31,86	31,47	31,41	31,16	32,49	31,71	31,79
4	Kadar abu	%	4,02	5,36	4,63	4,67	4,12	5,24	4,45	4,60	5,17	5,98	5,54	5,56
5	Kadar air	%	12,78	12,36	12,66	12,6	11,89	12,78	12,21	12,29	11,14	12,37	11,61	11,71
6	Serat	%	14,87	15,96	15,37	15,4	14,56	15,79	15,18	15,18	18,86	19,97	19,61	19,48

Uji Proximat untuk tepung tempe dari beberapa kedelai														
No	Zat Gizi	Satuan	Tepung tempe kedelai hitam				Tepung tempe kedelai lokal				Tepung tempe kedelai impor			
			1	2	3	Rerata	1	2	3	Rerata	1	2	3	Rerata
1	Karbohidrat	%	28,54	29,38	29	28,97	26,34	27,86	27	27,07	32,87	33,79	33	33,22
2	Protein	%	43,21	44,36	43,86	43,81	45,13	46,48	45,87	45,83	43,93	43,28	43,75	43,65
3	Lemak	%	16,79	17,96	17,3	17,35	17,23	18,39	17,9	17,84	21,24	22,48	21,52	21,75
4	Kadar abu	%	3,18	4,35	3,46	3,66	2,11	3,23	2,54	2,63	1,23	2,34	1,86	1,81
5	Kadar air	%	9,12	9,95	9,48	9,52	11,19	11,78	11,43	11,47	12,27	12,68	12,72	12,56
6	Serat	%	13,18	14,34	13,92	13,81	14,21	15,42	14,75	14,79	11,14	12,64	11,66	11,81

Profil asam amino tepung tempe kedelai hitam, lokal dan impor												
No	Asam amino	Satuan	Sampel									
			T1			T2			T3			
1	L-Serin	mg / kg	31274,79			33984,88			28204,96			
			31385,99			34058,16			28142,1			
				31330,39			34021,52			28173,53		
2	L-Asam glutamat	mg / kg	69560,8			74179,09			55494,2			
			69957,26			74584,37			55832,15			
			69759,03			74381,73			55663,175			
3	L-Fenilalanin	mg / kg	37129,43			47154,87			38877,02			
			37356			47340,4			39024,1			
			37242,715			47247,635			38950,56			
4	L-Isoleusin	mg / kg	24810,3			25889,94			21653,89			
			24954,56			26022,34			21752,71			
			24882,43			25956,14			21703,3			
5	L-Valin	mg / kg	25586,6			25710,75			22211,44			
			25678,49			25823,01			22315,26			
			25632,545			25766,88			22263,35			
6	L-Alanin	mg / kg	20967,7			21072,94			18710,18			
			21081,78			21171,3			18835,1			
			21024,74			21122,12			18772,64			
7	L-Arginin	mg / kg	43330,45			48916,93			42888,38			
			43564,27			49145,33			43086,43			
			43447,36			49031,13			42987,405			
8	Glisin	mg / kg	25445,83			27275,12			22774,57			
			25576,98			27396,64			22889,27			
			25511,405			27335,88			22831,92			

9	L-Lisin	mg / kg	23728,08	20913,86	17235,49
			23824,68	20986,22	17329,1
			23776,38	20950,04	17282,295
10	L-Asam Aspartat	mg / kg	38794,86	40851,8	32251,47
			38988,49	41021,87	32432,45
			38891,675	40936,835	32341,96
11	L-Leusin	mg / kg	40482,72	41951,08	35151,36
			40656,64	42079,29	35247,27
			40569,68	42015,185	35199,315
12	L-Tirosin	mg / kg	20619,69	24347,42	22327,6
			20729,73	24467,89	22420,94
			20674,71	24407,655	22374,27
13	L-Prolin	mg / kg	24287,28	25686,74	20238,3
			24399,88	25787,55	20310,79
			24343,58	25737,145	20274,545
14	L-Threonin	mg / kg	25131,74	26860,62	22489,38
			25266,57	26928,25	22554,34
			25199,155	26894,435	22521,86
15	L-Histidin	mg / kg	17285,24	19358,56	17926,41
			17334,41	19319,54	17876,89
			17309,825	19339,05	17901,65
16	L-Sistin	mg / kg	13598,26	12749,33	7382,33
			13585,86	12741,49	7380,24
			13592,06	12745,41	7381,285
17	L-Metionin	mg / kg	3299,22	3192,53	2963,79
			3294,57	3190,41	2963,08
			3296,895	3191,47	2963,435

## Registration IC-FAST2021

### Registration Form International Conference on Food, Agriculture and Sustainable Technology (IC-FAST 2021), November 18, 2021 (virtual conference)

Thank you for your interest in IC-FAST2021 conference. Your form has been received and is being processed. You should receive a Letter of Acceptance (LoA) shortly. Please contact Mr. Daimon Syukri, Ph.D +6281270785447 , email: [icfast2021@gmail.com](mailto:icfast2021@gmail.com), website IC-FAST2021: <https://seminartphp.com>

[Submit another response](#)

**International Conference on Food, Agriculture and Sustainable Technology (ICFAST 2021)**  
November 18<sup>th</sup>, 2021

**The Future of Food, Agriculture and Sustainable Technology: Trends and Challenges**

**Keynote Speakers**

- Prof. Helmi, Universitas Andalas, Indonesia
- Prof. Hironuki Honda, Professor of Hiroshima University, Japan
- Prof. Novizar Nazir, SAFF Network, Indonesia
- Assoc. Prof. Nur Indra Feijan, Universiti Sains Islam Malaysia
- Dr. Helen Martinez, The Philippines Center for Postharvest and Mechanization, Philippines

**Innovation in Food, Agriculture and Sustainable Technology: Trends and Challenges**

**Research Trends in Life and Environmental Science in Japan**

**Networking in Developing Food, Agriculture and Sustainable Technology**

**Postharvest Technology Practices in Thailand**

**Sensory Analysis in Food Development**

**Empowering Coffee Farmer Lesson Learned from the Philippines**

**Moderator**  
Assoc. Prof. Rina Marnita AS

**Abstract submission guidelines**

- Abstract contain title, name and affiliation of author(s), objective, method, result and discussion, conclusion, and keyword (3-5). Writing in English.
- Ms Word, Times New Roman, 12 Font, 1 space, maximum 250 words.

**Important Dates**

- Abstract submission until 10 Nov 2021
- Notification for abstract acceptance : 5 Okt – 10 Nov 2021
- Full paper submission at the latest by 15 Nov 2021
- Registration for participants : 5 Okt – 15 Nov 2021

**Bank Account**

Account no : 1110017009149  
Account Holder Name : Felga Zulfia Rasdiana  
Bank Name : Mandiri  
Swift Code : BMRIIDJA

After transferred, please send the proof of transfer (scanned file) to Ms. Felga Zulfia Rasdiana (WhatsApp Number +6281266634280) or email [icfast2021@gmail.com](mailto:icfast2021@gmail.com)

**Organized by**

Department of Food and Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural Technology, ANDALAS UNIVERSITY Kampus UNAND Limau Manis Padang, 25163, West Sumatra, INDONESIA  
Phone/Fax : +62751 72772  
E-mail: [psthp@ae.unand.ac.id](mailto:psthp@ae.unand.ac.id)

**Registration**  
[unand.net/ICFAST2021](http://unand.net/ICFAST2021)

**Parallel Sessions**

- Food and Agriculture Quality
- Food and Agriculture Safety
- Food and Agriculture Product Technology and Innovation
  - Sustainable of Food and Agriculture Technology
- Food and Agriculture Management, Marketing, and Distribution

**Registration Fee**

Academia and Researcher : IDR 250.000/ USD 25  
Student : IDR 150.000/ USD 15

**Facilities**

E-certificate  
The selected paper will publish in Scopus-indexed Proceeding (in negotiations with IOP Publisher), AJARCDE Journal and IC-FAST2021 proceeding (ISBN)

**Contact Person**

Daimon Syukri, Ph.D +6281270785447  
Anadia Ramadhani +6281365389446  
Dava Perdana Putra +6281260071429

**Join Publications** **IOP Publishing**

Lampiran 10. Laporan Realisasi Keuangan Tahap 1

Realisasi Keuangan Tahap 1			
	Realisasi	Jumlah	
1 Honorarium			
a. Pembantu Peneliti/Perekayasa;	Fitria Slameut	3.750.000	
b. Koordinator Peneliti/Perekayasa;	Ami	3.750.000	
c. Sekretariat Peneliti/Perekayasa;			
d. Pengolah Data;	Meilina	1.500.000	
e. Petugas survey			
f. Pembantu Lapangan/Lab			
Komponen			
2 Belanja Barang Non Operasional			
Bahan laboratorium (pengujian enzimatis):			
Angiotensin Converting enzyme (ACE)	plant ACE Elisa kit	7.500.000	
NaOH			
HCl			
Trifluoro acetic acid	Acetonitrildan TFA	213.000	
Acetonitrile			
Methanol			
Hipuric acid	Hipuric Histidyl leucin	3.503.500	
Ethil asetat	enzim ACE		
Membran ultrafiltrasi 3 kDa	Membran 3 kDa		
Membran ultrafiltrasi 1 kDa	Membran 10 kDa		
aquades bebas ion	regenerated cellulose membrane	131.000	
Tissue	Pengiriman bahan	78.000	
Sarung tangan karet	sentrifugasi	50.000	
	proximat1	1.800.000	
Analisis Proximat	proximat2	1.725.000	
Analisa profil asam amino	Analisa profil AA	3.201.000	
	Bench Fee Penelitian Lab FK Unud	400.000	
	Deposit penelitian	250.000	
	-----	-----	
	biaya komisi etik Unud	500.000	
Alat tulis kantor (ATK) (dirinci)	MAP, label, staples, spidol	23.500	
Kertas A4	kertas A4	90.500	
	tissue	23.200	
Kertas Label			
Spidol			
Kontainer plastik	blender plastik	866.900	
	cartridge canon tinta hitam dan s	340.000	
Tinta printer	tinta hitam dan warna	135.000	
	materai	33.000	
materai	materai	44.000	
	materai	50.000	
	tinta hitam dan warna	150.000	
Konsumsi/bahan makanan (dirinci)	sewa printer	1.000.000	
Kedelai lokal	Tempe organik	195.000	
kedelai impor	kedelai impor	287.500	
	ragi tempe	55.000	
Bahan cetakan (dirinci)			
-			
Dokumentasi (dirinci)			
Photo			
Video			
Spanduk (dirinci)			

	<b>Spanduk (dirinci)</b>			
-				
	<b>Biaya fotocopy (dirinci)</b>			
Penggandaan dan jilid proposal penelitian	pengiriman			
Penggandaan dan jilid protokol penelitian	fotocopy	22.500		
penelitian	fotocopy	6.000		
Penggandaan dan jilid laporan akhir	fotocopy	17.000		
	fotocopy	46.000		
	fotocopy	3.200		
	fotocopy	3.200		
	fotocopy dan jilid	189.000		
	jilid	10.500		
	fotocopy	3.000		
	fotocopy dan jilid	39.200		
Publikasi	oral presentation ICHS 2021	600.000		
HAKI				
Publikasi Jurnal internasional				
<b>Komponen</b>				
<b>3 Belanja Honor Output Kegiatan</b>				
a. Honor tidak tetap terkait dengan output				
Honor penyuluhan non PNS				
Honor Tim Pelaksana Kegiatan				
b. Honor Output Kegiatan insidental				
<b>Komponen</b>				
<b>4 Belanja Barang Non Operasional Lainnya</b>				

Komponen			
7 Belanja Perjalanan			
a. Belanja perjalanan biasa (dirinci)			
b. Belanja perjalanan dalam kota (dirinci)			
c. Belanja perjalanan paket meeting dalam kota (dirinci)			
d. Perjalanan paket meeting luar kota (dirinci)			
Transport pesawat seminar/conference			
Transport darat seminar/conference			
e. Perjalanan luar negeri (dirinci)			
JUMLAH		40.800.600	

**Nutritional aspects and amino acid profiles of Tempe from local, import and black soybean**

Badrut Tamam<sup>1\*</sup>, I Gusti P.S. Puryana<sup>1</sup>, Ni K. Sutiari<sup>2</sup>, Suratiah<sup>3</sup>

<sup>1)</sup> Nutrition Department, Polytechnic of Health in Denpasar

<sup>2)</sup> Community Health Science Study Program, Udayana University in Bali

<sup>3)</sup> Nursing Department, Polytechnic of Health in Denpasar

\*Corresponding author: 083114154698; badruttamam\_70@yahoo.com

Soybean (*Glycine max L*) is a type of legumes that is rich in protein, fat, vitamins, minerals and fiber. Soybeans can be processed into various processed foods, including soy milk, tofu, Tempe, soy cheese, soy yogurt, miso and others. Various soybean varieties such as black soybeans, local and imported soybeans are often to become a subject of attention. The nutritional value of soybeans and the amino acid profiles of the processed product of fermented soybean (Tempe) need to be studied. Soybean and Tempe flour from black soybean, local soybean (Anjasmoro variety) and imported soybean (USA soybean) were analized proximately including carbohydrates (spectrophotometric method), protein (Kjeldahl method), fat (Soxletation method), fiber (gravimetric method), and water content (gravimetric method). The amino acid profile of Tempe flour was measured by UPLC and LC/MS/MS methods. Local soybeans had the highest protein content (45.19%), followed by black soybeans and imported soybeans (36.87% and 35.95%, respectively). The protein content of local soybean Tempe flour was the highest (45.83%) compared to other soybean Tempe flour, although statistically not different from black soybean Tempe flour and imported soybean Tempe (43.81% and 43.65%, respectively). The fiber content of

local and black soybean Tempe flour (14.79% and 13.81%, respectively) was higher than that of imported Tempe. Amino acid profiles test of black soybean Tempe flour, local soybean and imported soybean showed that the amino acids L-Glutamic Acid, L-Arginine, L-Leucine and L-Aspartic Acid had the highest amounts compared to other amino acids, ranging from 30-75 thousand ppm. Meanwhile, amino acids of L-methionine and L-cystine have the lowest content compared to other types of amino acids over three Tempe flour, ranging from 3-13 thousand ppm. This shows that various soybeans determine the genotype of each variety, thus the genotype differences between soybean varieties affect the amino acid composition of the soybean protein.

Keywords: amino acid profiles, proximate, soybean, varieties