

Kode>Nama Rumpun Ilmu* :354/Ilmu Gizi
Bidang Fokus : Bidang III
pengembangan teknologi kesehatan dan obat

**LAPORAN AHIR
PENELITIAN DISERTASI DOKTOR**



**POTENSI FORMULA TEPUNG BEKATUL DAN TEPUNG TEMPE KEDELAI
TERHADAP PROFIL LIPID DAN STRESS OKSIDATIF (LDL-ox , SOD DAN
MDA) PADA WANITA MENOPAUSE HIPERLIPIDEMIA**

**TIM PENGUSUL
Sufiati Bintanah, SKM,M.Si
NIDN 06080806602**

Dibiayai oleh : Koordinator Perguruan Tinggi Swasta Wilayah VI
Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan
Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Hibah Penelitian
Nomor .024/K6/KM/SP2H/PENELITIAN/2018, Tanggal 19 Febuari 2018

**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
Juli, 2018**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Potensi Kombinasi Tepung Ricebran dan Tepung Tempe
Kedele Terhadap Profil Lipid dan Stres oksidatif (LDL-
ox,MDA dan SOD) pada wanita menopause
hiperlipidemia

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : SUFIATI BINTANAH, M.Si
Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Semarang
NIDN : 0608086602
Jabatan Fungsional : Lektor
Program Studi : Gizi
Nomor HP : 081228582866
Alamat surel (e-mail) : sofi.bintanah@yahoo.com

Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 1 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 52,500,000
Biaya Keseluruhan : Rp 52,500,000

Mengetahui,
Ketua LPPM Universitas Muhammadiyah
Semarang



(Dr. Dini Cahyandari, ST,MT)
NIP/NIK 197707162005012001

Kota Semarang, 9 - 8 - 2018
Ketua,



(SUFIATI BINTANAH, M.Si)
NIP/NIK 28.6.1026.022

RINGKASAN

Latar Belakang : Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid yang kompleks, disebabkan faktor genetik dan gaya hidup ^{(1),(2),(3)} serta penurunan hormon estrogen ⁽³⁾. Penurunan hormon estrogen endogen berkorelasi dengan perubahan distribusi lemak tubuh dan obesitas sentral sehingga menimbulkan stres oksidatif ⁽⁴⁾. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mencegah terjadinya radikal bebas melalui pencegahan reaksi oksidasi. Antioksidan eksogen yang paling baik adalah vitamin E (*Tocopherol*) dibandingkan dengan vitamin A dan vitamin C dalam mengurangi terjadi peroksidasi lemak. ^{(16),(17)}. Salah satu sumber *Tocopherol* atau vitamin E yang alami dan aman terdapat pada bekatul. Selain vitamin E (*Tocopherol*) jenis antioksidan lain yang mempunyai sifat hipolipidemik adalah isoflavon yang terdapat pada tempe kedelai. ^{(23),(25)} **Tujuan penelitian** :Memperoleh komposisi bahan formula yang paling disukai panelis dan menentukan komposisi kombinasi yang optimum hasil penelitian tahap pertama. **Metode Penelitian** : Menggunakan Rancangan Acak Lengkap monofaktorial. **Analisis data uji organoleptik** menggunakan metode Friedman, apabila *p-value* < 0.05 dilanjutkan uji Wilcoxon. Hasil Penelitian : Formula dengan kombinasi tepung kedelai kuning dan tepung bekatul putih menghasilkan karakteristik organoleptik yang paling disukai panelis, memiliki warna coklat tua (nilai 3,88 skala 5), beraroma harum (nilai 3,88 skala 5), bertekstur tidak kental (nilai 3,80 skala 5, dan rasa manis (nilai 3,80 skala 5). Hasil Uji hedonik berdasarkan variasi perbandingan kombinasi panelis cenderung menyukai formula tepung kedelai kuning : tepung bekatul putih dengan perbandingan 1:1, dengan tingkat kesukaan suka pada warna (3,21), aroma (3,18), kekentalan (3,29), maupun rasa (2,82) pada skala 1 hingga 4. Hasil Uji Wilcoxon menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($p \leq 0,05$), pada setiap kombinasi perbandingan formula. Pada uji skoring menunjukkan formula dengan skor warna, aroma, rasa dan kekentalan yang paling tinggi adalah formula dengan perbandingan 1:1. Hasil Uji Wilcoxon menunjukkan ada perbedaan yang signifikan baik pada warna, aroma, rasa maupun kekentalan ($p \leq 0,05$). Kandungan zat gizi protein, lemak, antioksidan yang paling tinggi pada formula kombinasi tepung tempe kedelai kuning+bekatul putih.

Kata Kunci : Formula Bekatul dan Tepung Tempe Kedele, Profil Lipid , Stres oksidatif wanita menopause hiperlipidemia

PRAKATA

Alhamdulillah Puji dan Syukur kami panjatkan ke hadirat Allah atas kemudahan kami dalam menyelesaikan penelitian hibah disertasi doktor ini. Penelitian tentang “Potensi Formula Bekatul dan Tepung Tempe Kedele Terhadap Profil Lipid dan Stres oksidatif (LDL-ox, MDA dan SOD) pada wanita menopause hiperlipidemia” sebagai upaya memperbaiki profil lipid dan stres oksidatif pada wanita menopause supaya terhindar dari penyakit kardiovaskular. Banyaknya penyakit dislipidemia di Indonesia dibutuhkan solusi untuk mengurangi angka kesakitan akibat penyakit dislipidemia tersebut, maka penelitian ini diharapkan dapat memberikan peran yang mendukung baik bagi pengembangan keilmuan bidang gizi kesehatan maupun masyarakat khususnya bagi wanita menopause dengan dislipidemia.

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Rektor Universitas Muhammadiyah Semarang yang telah memberikan dukungan dan kepercayaan kepada kami dalam melakukan penelitian ini.
2. Dirjen Dikti yang telah membiayai pengabdianlitan ini melalui program Hibah IbM tahun anggaran 2015 .
3. Kopertis wilayah VI Jawa Tengah atas dukungan dalam pengembangan karer dosen.
4. Prof.dr.Siti fatimah-muis, M.Sc, S.Gk (K) dan Dr.dr.Purwanto AP, SPPk(K) sebagai promotor dan ko.promotor yang telah banyak membimbing dalam penyelesaian disertasi.
5. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) UNIMUS yang telah memberikan bimbingan dan arahan pada saat pelaksanaan penelitian.
6. Rekan-rekan sejawat dan semua pihak atas dukungannya pada penelitian ini.

Besar harapan kami bahwa hasil penelitian ini dapat berguna bagi penyelesaian masalah dislipidemia.

Semarang, 20 September 2018

DAFTAR ISI

	HALAMAN SAMPUL	i
	HALAMAN PENGESAHAN	ii
	RINGKASAN	iii
	PRAKATA	iv
	DAFTAR ISI	v
	DAFTAR TABEL	vi
	DAFTAR LAMPIRAN	vii
	PENDAHULUAN	1
BAB I	TINJAUAN PUSTAKA	2
BAB 2	2.1. Lemak	2
	2.2. Dislipidemia	3
	2.3. Dislipidemia sebagai penyebab stres oksidatif	3
	2.4. Antioksidan	4
	2.5. Tepung bekatul	4
	2.6. Kedelai	5
	TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	6
BAB 3	METODA PENELITIAN	6
BAB 4	4.1. Desain Penelitian	6
	4.2. Bahan dan Alat Penelitian	7
	4.3. Analisis Data	7
	HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	8
BAB 5	RENCANA TAHAP BERIKUTNYA	20
BAB 6	KESIMPULAN DAN SARAN	20
BAB 7	DAFTAR PUSTAKA	20
	LAMPIRAN	
	Artikel jurnal	24
	Dokumentasi Penelitian	54

DAFTAR TABEL

1. Tabel 1. Uji hedonik/kesukaan formula berdasarkan kombinasi bahan baku	8
2. Tabel 2. Uji skoring formula berdasarkan kombinasi bahan baku	9
3. Tabel 3. Uji hedonik/kesukaan formula berdasarkan komposisi bahan baku	9
4. Tabel 4. Uji skoring formula tepung tempe dan tepung bekatul berdasarkan komposisi bahan baku	10
5. Rerata Kandungan Protein Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul Per 100 gr	15
6. Rerata Kandungan Lemak Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul Per 100 gram	15
7. Rerata Kandungan Karbohidrat Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul Per 100 gram	16
8. Rerata Kandungan Vitamin- E Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul Per 100 gram	16
9. Rerata Kandungan Isoflavon Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul Per 100 gram	17
10. Rencana Tahap Berikutnya	20

DAFTAR LAMPIRAN

1. Artikel jurnal 18
2. Dokumentasi Penelitian

BAB 1. PENDAHULUAN

Menopause merupakan kondisi fisiologis pada wanita karena terjadi penurunan fungsi ovarium dan mengakibatkan penurunan produksi hormon estrogen yang berdampak pada gangguan metabolisme lemak, sehingga meningkatkan risiko terjadinya peroksidasi lipid yang menyebabkan aterosklerosis sebagai risiko terjadinya penyakit kardiovaskuler salah satu risiko Penyakit Jantung Koroner (PJK) (Schlenker E ,et al, 2014).

Penyakit *kardiovaskular* merupakan penyebab kematian utama di seluruh dunia dan menyumbang 40% dari semua penyebab kematian diakibatkan karena *aterosklerosis* .(reeman EW,et al,2007) Resiko penyakit jantung koroner wanita meningkat 33% pada usia 40 tahun dan akan mengalami peningkatan setelah wanita mengalami menopause akibat dislipidemia. (Colpo A,2005)

Dislipidemia (peningkatkadar kolesterol total, LDL,trigliserida dan menurunnya HDL) menyebabkan peningkatan spesies oksigen reaktif (SOR) karena turunnya kadar L-arginin atau kofaktor NO tetrahidrobiopterin (BH4) (Manalu W, et al.2013).Peningkatan LDL dalam darah dengan adanya SOR menyebabkan terjadinya LDL teroksidasi (LDL-ox) yang bersifat toksik. (Lennep R van, et al.2002).LDL-ox dapat menyebabkan kerusakan endotel, perubahan tonus vaskuler, peningkatan agregasi trombosit, dan pembentukan autoantibodi terhadap LDL-ox Kadar LDL-ox yang tinggi berhubungan dengan perkembangan aterosklerosis subklinis, yaitu merupakan prediktor terjadinya plak pada arteri karotis dan femoralis (OR:2,25, P=0,05)

Wanita menopause usia 40-55 tahun masih produktif sehingga perlu upaya pencegahan terhadap PJK.. Terapi dapat dilakukan secara farmakologis dan non farmakologis maupun kombinasi keduanya . (Al-Benna S, et al. 2009; Bush TL, et al.1987; Meir,j,et al. 2001; Samaan.SA, et al.1995) Salah satu terapi non farmakologis melalui pemberian senyawa aktif yang terdapat pada bahan makanan maupun hasil samping pengolahan bahan makanan yang mengandung antioksidan

Antioksidan pada kedelai berupa *isoflavon* (*genistein* dan *daidzein*) merupakan suatu *fitoestrogen* yang dapat berikatan dengan *reseptor endogen* dan bersifat *kardioprotektif* karena bertindak menyerupai estrogen sebagai antioksidan yang menetralkan radikal bebas dengan cara memberikan efek terhadap peningkatan aktivitas *up regulating* reseptor LDL kemudian akan meningkatkan *LDL clearances* dari

peredaran darah dan mengurangi kadar LDL dalam darah (Hall WL.et al.2005;Geller SE .et al.2005; Cai H, Harrison DG, 2008).

Salah satu produk dari kedelelai adalah tempe kedelai dan tepung tempe. Kandungan isoflavon pada tepung tempe kedelai lebih tinggi dibandingkan dengan tempe maupun tepung kedelai (Sussi Astuti, 1999). *Tokoferol* termasuk dalam antioksidan pemutus rantai yang dapat menghambat LDL-ox juga karena dapat melindungi PUFA dan komponen sel serta membran sel dari oksidan oleh radikal bebas (Heinecke JW , 2001), dengan cara menurunkan ambilan LDL-ox dan menghambat ekspresi CD36 pada kultur sel otot polos aorta A (Ricciarelli R, et al. 2000) , menghambat *upregulasi* ICAM-1 dan VCAM-1 pada sel endotel yang terpapar LDL-ox. dan meningkatkan SOD, serta menurunkan kadar MDA dalam jaringan hati.

Isoflavon dan *Tokoferol* apabila dikombinasikan mampu menghambat oksidasi LDL karena terdapat efek sinergi antara keduanya dan memperkuat kerja keduanya sebagai antioksidan sehingga mampu menghentikan reaksi berantai peroksidasi lipid pada membran sel epitel dan membantu mencegah akumulasi radikal bebas pada jaringan(Nunes GL, et al. 1995). Oleh sebab itu perlu dikaji lebih mendalam pemberian formula kombinasi tepung tempe dan *tepung bekatul* untuk melihat bagaimana pengaruhnya terhadap profil lipid (Kolesterol total, LDL, HDL dan trigliserid) dan stress oksidative dengan parameter LDL-ox , SOD dan MDA pada wanita menopause.

Hasil penelitian diharapkan memperoleh formula kombinasi dari tepung tempe dan *tepung bekatul* yang berpotensi untuk memperbaiki profil lipid (menurunkan kadar kolesterol total, menurunkan kadar LDL, menurunkan kadar trigliserida dan meningkatkan kadar HDL) serta memperbaiki kondisi stress oksidative (menurunkan kadar LDL-ox , meningkatkan aktivitas SOD dan menurunkan kadar MDA) pada wanita menopause hyperlipidemia.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Lipid (Lemak)

Lipid atau lemak adalah suatu zat yang kaya akan energi, berfungsi sebagai sumber energi yang utama untuk proses metabolisme tubuh. Lipid di dalam tubuh diperoleh dari dari makanan dan hasil produksi organ hati, yang bisa disimpan di dalam sel-sel lemak sebagai cadangan energi (Muray, 2002). Lipid tidak larut dalam air, diangkut dengan protein yang disebut lipoprotein. (Muray, 2002). Terdapat lima kelas utama

lipoprotein yaitu kilomikron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *low density lipoprotein* (LDL) dan *high density lipoprotein* (HDL) (Golberg, 2008).

2.2. Dislipidemia

Dislipidemia adalah Kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan dalam plasma. Kelainan fraksi lipid yang utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, trigliserida, serta penurunan kadar kolesterol HDL (Hendromartono, 2009). Kolesterol LDL secara epidemiologi telah terbukti bersifat aterogenik. Terdapat hubungan langsung antara kadar kolesterol LDL dengan kejadian PJK dini dan serangan jantung berulang. Studi meta-analisis menunjukkan bahwa penurunan 1 % kolesterol LDL dapat menurunkan resiko PJK sebesar 1%. Terdapat pula bukti keterkaitan antara kadar kolesterol HDL (<40 mg/dl) dengan peningkatan resiko PJK. Berdasarkan studi epidemiologis penurunan kolesterol HDL sebesar 1% sebanding dengan peningkatan resiko PJK sebesar 2-3%..(Rader DJ, Daugherty A, 2008).

2.3. Dislipidemia sebagai penyebab stres oksidatif

Dislipidemia sering juga disebut dengan hiperlipidemia yaitu naiknya kadar kolesterol total, LDL, trigliserida, dan terjadi penurunan kadar HDL.(Kusumawati, D.,2004). Stres oksidatif dapat terjadi apabila ada ketidakseimbangan antara prooksidan/radikal bebas dan antioksidan. Peningkatan radikal bebas pada dislipidemia berhubungan dengan peningkatan oksidasi LDL, glikasi protein, dan autooksidasi glukosa. Hal ini juga akan menimbulkan penumpukan produk peroksidasi lipid lebih lanjut(Nanda, N, et al. 2008; Rui-Li Yang , et al.2008; Dario Pitocco Dario Pitocco , et all. 2010; Csont T . et al, 2007) . Produk reaksi oksidatif yang dikatalisis logam menghasilkan ROS yang dapat menimbulkan autooksidasi glukosa maupun gula lainnya(Dario Pitocco , et all. 2010). Pada keadaan hiperkolesterol produk peroksidasi lipid, terutama MDA, diketahui berfungsi sebagai penghubung (Schiff linkage) antara protein dan glukosa yang memfasilitasi terjadinya glikasi protein(Nanda, N, et al. 2008). Peningkatan stres oksidatif juga semakin tajam seiring dengan semakin tingginya derajat dislipidemia (Csont T . et al, 2007; Rui-Li Yang , et al.2008). Konsentrasi superoksida dan peroksinitrit juga ditemukan meningkat pada miokardium dan endotel tikus yang mengalami dislipidemia (Ónody A, et al,2003),. Selain menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas dislipidemia juga berhubungan dengan menurunnya sistem

antioksidan tubuh. Hasil penelitian menunjukkan kadar enzim SOD dan GPx lebih rendah aktivitasnya pada subyek hiperkolestrolema dibanding kontrol (Rui-Li Yang , et al.2008). Lemak merupakan salah satu target dari oksidan/radikal bebas yang terbentuk alami dalam tubuh. Peningkatan produksi $O_2\cdot$ oleh sel endotel terjadi karena peningkatan aktivitas xanthine oxidase dan (NAD(P)H) oxidase (Samaan SA,, et al, 1995; Griending KK, et al, 2003). Oksidasi kolesterol LDL juga akan memicu aktivasi Akt melalui jalur (PI-3K). Aktivasi Akt menyebabkan terjadinya fosforilasi (inaktivasi) faktor transkripsi Foxo3a. Inaktivasi Foxo3a ini akhirnya menimbulkan penurunan ekspresi target gennya, yaitu gen yang mengkode MnSOD dan katalase. Penurunan ekspresi enzim-enzim antioksidan inilah yang dapat merubah keseimbangan radikal bebas dalam tubuh (Moncada S, et al. 2006)

2.4.. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa kimiawi yang dapat melindungi tubuh dari pengaruh radikal bebas. Fungsi utama dari antioksidan adalah untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi baik dalam makanan maupun dalam tubuh. Dalam makanan , antioksidan diharapkan dapat menghambat oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi. Peroksidasi lipid adalah salah satu faktor yang cukup berperan dalam kerusakan selama dalam penyimpanan dan pengolahan makanan .(Hery Winarsi, 2007)

Secara alami, didalam sitosol dan mitokondria sel tubuh didapatkan superoksida dismutase (SOD) yang dikenal sebagai antioksidan intraseluler dan vitamin E,C dan A

2.5. Tepung bekatul

Ricebran adalah hasil samping penggilingan padi. Setelah beras dipisahkan dari sekam (kulit luar gabah), kemudian dilakukan penyosohan. Proses penyosohan dilakukan dua kali, penyosohan pertama menghasilkan dedak (seratnya masih kasar), sedangkan penyosohan kedua menghasilkan ricebran (*tepung bekatul*) yang bertekstur halus.

Ricebran memiliki kandungan gizi yang cukup tinggi dan ditambah komponen bioaktif *oryzanol*, *tokoferol*, dan asam ferulat menjadikan ricebran sebagai bahan baku yang berpotensi untuk dijadikan pangan fungsional. Ricebran tersusun atas air, protein, lemak, vitamin, mineral, dan serat . Fitokimia dapat memberikan fungsi-fungsi

fisiologis. Komposisi fitokimia ricebran tergantung kepada faktor agronomis padi, termasuk varietas padi, dan proses penggilingannya. Fraksi tak tersabunkan dari minyak ricebran mencapai 5 persen berat minyak, dengan kandungan utama sterol. Sterol yang terdapat dalam jumlah banyak adalah *v-sitosterol* yang jumlahnya 50 persen dari total sterol. Komponen penting lainnya adalah senyawa tokol (*tokotrienol* dan *tokoferol*). *Tokoferol* adalah vitamin E yang bersifat antioksidan yang kuat sehingga penting dalam menjaga kesehatan manusia. Kandungan lainnya yang juga memberikan pengaruh kesehatan sangat menguntungkan adalah *oryzanol* dan asam ferulat. Ricebran dan minyaknya mengandung beberapa komponen yang berpotensi mencegah penyakit kronik seperti penyakit jantung koroner dan kanker. Pada penelitian (Salem AS, Hassan DR, Mowafy AR, 2008) minyak Ricebran secara signifikan dapat menekan hiperlipidemia dan respon hiperinsulinemia pada tikus diabetes mellitus. Penelitian menunjukkan, serat larut dapat menurunkan kecepatan absorpsi glukosa, menyebabkan respon glikemik menjadi lebih rendah dan konsentrasi insulin lebih rendah. (Engler MM EM, et al, 2003)

2.6. Kedelai

Kedelai sebagai bahan makanan yang banyak mengandung zat gizi seperti protein yang tinggi, lemak, karbohidrat serat serta vitamin dan mineral dan beberapa senyawa aktif seperti isoflavonoid, genistein, daidzein, fitosterol, saponin, asam fitat dan inhibitor protease. Zat gizi dan senyawa aktif yang terdapat pada kedelai antara lain isoflavon yang dapat menurunkan kolesterol. Isoflavon pada kedelai mempunyai sifat antioksidan yang dapat menghambat kerusakan dinding pembuluh darah pada proses aterosklerosis. Kedelai kedele terdapat antioksidan yang dapat mencegah terjadinya peroksidasi lemak darah Isoflavon pada Kedelai yang aktif sebagai antioksidan, yaitu 6,74' tri hidroksi isoflavan, terbukti berpotensi sebagai anti-konstriksi pembuluh darah (konsentrasi 5 µg/ml) dan juga berpotensi menghambat pembentukan LDL (*low density lipoprotein*). Sehingga dapat mengurangi terjadinya *arteriosclerosis* pada pembuluh darah Pengaruh isoflavon terhadap penurunan tekanan darah dan risiko CVD (*cardio vascular disease*) dihubungkan dengan sifat hipolipidemik dan hipokholesteremik senyawa isoflavon. Niasin menghambat lipolisis jaringan adipose sehingga asam lemak bebas yang beredar dihambat dan terjadi penurunan pembentukan VLDL hepar. Disamping niasin meningkatkan HDL dan menurunkan LDL niasin dalam bentuk asam nikotinat, dapat menurunkan kadar kolesterol dengan cara menghambat kerja enzim reduktase hidroksi

metilglutaril CoA (reduktase³ HMG CoA) dalam biosintesis kolesterol. Pada proses fermentasi, niasin pada Kedelai meningkat kandungannya 2 sampai 5 kali.(Michihiro S,2006) Hasil penelitian Bintanah (2010), tentang Pengaruh Pemberian Tepung Tempe dan Bekatul (*ricebran*) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih Wistar *Rattus norvegicus* Hiperkolesterolemia disarankan untuk mengkaji lebih jauh potensi kombinasi tepung tempe dan tepung bekatul (*ricebran*) dari bahan baku tempe kedelai kuning dan tempe kedelai hitam, *ricebran* beras putih dan *ricebran* beras merah dengan berbagai perlakuan sehingga didapatkan komposisi yang tepat dan kandungan gizi serta kandungan fitokimia yang optimum untuk dapat digunakan memperbaiki profil lipid dan stres oksidatif (menurunkan LDL-ox, MDA dan meningkatkan SOD) pada wanita menopause hiperlipidemia

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini antara lain: (a) Memperoleh formula yang optimum dari kombinasi tepung *ricebran* dan tepung tempe kedelai berdasarkan sifat fisik, (b) Memperoleh formula yang optimum dari kombinasi tepung *ricebran* dan tepung tempe kedelai berdasarkan Kandungan kimia (c) Memperoleh formula yang optimum dari kombinasi tepung *ricebran* dan tepung tempe kedelai berdasarkan Uji Organoleptik, sehingga dapat digunakan untuk memperbaiki profil lemak darah (kadar kolesterol, LDL dan HDL) serta memperbaiki kondisi stress oksidatif pada wanita menopause hiperlipidemia.

Manfaat yang diperoleh dari penelitian adalah ditemukannya formula kombinasi tepung tempe dan *tepung bekatul* optimum dari segi fisik kimia dan organoleptik yang akan digunakan untuk memperbaiki profil lipid dan stres oksidatif pada wanita menopause supaya terhindar dari penyakit kardiovaskular. Temuan ini juga bermanfaat sebagai pengembangan bahan ajar berbasis riset dibidang ilmu gizi klinik

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang disusun secara mono faktorial dan terdiri dari perlakuan variasi kombinasi berbagai bahan dasar yaitu tepung tempe putih dan kuning tempe hitam dengan dan bekatul beras putih dan bekatul beras merah. Hasil penelitian tahap pertama dilanjutkan penelitian tahap kedua dengan berbagai variasi komposisi antara bekatul dan

tepung tempe dengan perbandingan 1:1, 2:1,1:2, terhadap sifat fisik, kimia dan organoleptik.

4.2. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan Penelitian

A. Bahan pembuatan tempe kedelai

- 1) Kedelai kuning dengan varietas Burangrang ukuran biji besar, dan kulit tipis dan kedelai hitam yang diperoleh dari Solo Jawa Tengah
- 2) Ragi tempe yang diperoleh dari superindo semarang
- 3) Plastik

B. Bahan pembuatan tepung

- 1) Tepung tempe kedelai : Tempe kedelai segar
- 2) Bahan pembuatan tepung Tepung bekatul: Tepung bekatul diperoleh dari penggilingan padi dengan varietas IR 36 dan beras merah yang diperoleh dari penggilingan padi “ARGO MULYO” Salam Sari, Kedu Kabupaten Temanggung
- 3) Bahan pembuatan formula untuk intervensi
 - a. Tepung Tepung bekatul beras putih dan Tepung bekatul beras merah
 - b. Tepung tempe kedelai kuning dan tepung tempe kedelai hitam
 - c. Pemanis non kalori
 - d. Coklat bubuk
- 4) Bahan untuk Analisa kimia

Bahan penelitian yang digunakan pada tahun pertama adalah: Tepung bekatul, Tempe kedelai dan bahan pembuatan formula serta reagent. Bahan untuk analisa kimia secara berurutan adalah sebagai berikut: H_2SO_4 pekat, HgO, $ZnSO_4$, NaOH 40 %, NaOH 0.02 N, HCl 0.02 N, K_2SO_4 10 %, α tokoferol standar, asam askorbat, heksan, etanol absolute, KOH 60 %, Aseton, NaCl, Na_2SO_4 an hidrause, Folin Ciolateu, Aquades, indikator PP dan MR, larutan dye, larutan asam oksalat 2 %, dan tepung tepung bekatul dan tepung tempe kedelai

2. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam pembuatan tempe: Timbangan makanan digital mangkok merek Camry Kichen Scale dengan kapasitas 5 kg, waskom besar, waskom kecil, dandang, tampah, tatakan, pengaduk, tampah. Alat yang digunakan pembuatan tepung tempe dan tepung bekatul: Panci besar, oven pengering kabinet, loyang, pisau, desk mill, ayakan

dengan ukuran 100 mess. Alat yang digunakan pembuatan formula : panci besar, mixer dog food kapasitas 2 kg, kantong pengemas ukuran 50 gram dari bahan almonium foil, siller, sendok , pengaduk dan toples plastik.

4.3. Ananlisa Data

1. Data hasil uji organoleptik dianalisa menggunakan uji *Friedman* yang diawali dengan uji normalitas data menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov* dan apabila hasilnya data berdistribusi normal p-value >0.05 maka dilanjutkan ke uji *Friedman*. Apabila hasil analisis menunjukkan p-value <0.05 maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon*
2. Data hasil pengukuran sifat fisik dan kimia yang sudah diperoleh dianalisa statistik menggunakan uji univariat berdasarkan mean, median dan standar deviasi dengan bantuan *Software SPSS 21*

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Pertama dilakukan peneletian pendahuluan uji organoleptik bahan dasar formula dengan perlakuan kombinasi tepung kedelai kuning dan hitam dengan tepung bekatul merah dan putih. Tahap kedua, dilakukan uji organoleptik lanjutan pada formula perlakuan terbaik tahap pertama, untuk mengetahui formulasi yang optimal agar diperoleh formula dengan kualitas wrna, aroma, kekentalan dan rasa yang disukai oleh masyarakat.

Hasil penelitian dari formula dengan kombinasi tepung terbaik berdasarkan nilai tingkat kesukaan terhadap kombinasi bahan dasar (1) tepung tempe kedelai kuning + tepung bekatul kuning,(2) tepung tempe kedelai kuning + tepung bekatul merah,(3) tepung tempe kedelai hitam + bekatul kuning,(4) tepung tempe kedelai hitam + bekatul merah masing-masing dengan komposisi 1:1 disajikan pada Tabel 1 dan tabel 2 berikut :

Tabel 1. Uji hedonik/kesukaan formula berdasarkan kombinasi bahan baku

Perlakuan (Tepung)	Parameter			
	Warna	Aroma	Kekentalan	Rasa
1. Tepung tempe kedelai kuning + tepung bekatul merah	2,43 ^b	2,21 ^b	2,21 ^b	2,81 ^b
2. Tepung tempe kedelai kuning + tepung bekatul putih	2,98 ^a	3,14 ^a	3,30 ^a	3,25 ^a
3. Tepung tempe kedelai hitam + tepung bekatul merah	1,17 ^d	1,33 ^c	1,22 ^d	1,08 ^c
4. Tepung tempe kedelai hitam + tepung bekatul putih	1,56 ^c	1,84 ^b	1,40 ^c	1,22 ^d
p-veliu	0.001	0.001	0.001	0.001

*Notasi huruf yang berbeda menunjukkan hasil uji *Wilcoxon* beda nyata ($p < 0,05$)

Keterangan:(1) : sangat tidak suka, (2) : tidak suka, (3) : suka, (4) : sangat suka

Berdasarkan tabel 1 menunjukkan, formula pada perlakuan 2 dengan bahan dasar kombinasi tepung kedelai kuning dengan tepung bekatul putih menghasilkan karakteristik organoleptik yang paling disukai oleh panelis, baik parameter warna, aroma, kekentalan, maupun rasa. Berdasarkan hasil uji wilcoxon parameter warna, aroma, kekentalan, maupun rasa berbeda nyata ($p \leq 0,05$), antara kelompok 1,2,3 dan 4.

Tabel 2. Uji skoring formula berdasarkan kombinasi bahan baku

Perlakuan (Tepung)	Parameter			
	Warna	Aroma	Kekentalan	Rasa
1. Tepung tempe kedelai kuning + tepung bekatul merah	2,72 ^b	2,64 ^b	2,64 ^b	2,48 ^b
2. Tepung tempe kedelai kuning + tepung bekatul putih	3,88 ^a	3,88 ^a	3,80 ^a	3,80 ^a
3. Tepung tempe kedelai hitam + tepung bekatul merah	1,48 ^d	1,84 ^d	1,60 ^d	1,28 ^d
4. Tepung tempe kedelai hitam + tepung bekatul putih	2,16 ^c	2,36 ^c	2,20 ^c	2,08 ^c
P - veliu	0.001	0.001	0.001	0.001

*Notasi huruf yang berbeda menunjukkan hasil uji Wilcoxon beda nyata ($p < 0,05$)

Keterangan:

Warna : (1) Hitam tua (2) Hitam muda (3) hitam kecoklatan, (4) coklat tua, (5) coklat muda
 Aroma : (1) sangat tidak harum, (2) tidak harum, (3) sedikit harum, (4) harum, (5) sangat harum
 Kekentalan : (1) sangat kental (2) kental (3) agak kental, (4) tidak kental, (5) sangat tidak kental.
 Rasa : (1) sangat tidak manis, (2) tidak manis, (3) agak manis, (4) manis, (5) sangat manis.

Pada Tabel 2 menunjukkan hasil uji skoring dari formula pada perlakuan 2 memiliki warna coklat tua skor 3,88 , beraroma harum skor 3,88 , bertekstur tidak kental skor 3,80 , dan rasa manis skor 3,80 . Hasil uji wilcoxon menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($p \leq 0,05$), pada setiap perlakuan (1,2,3 dan 4).

Tabel 3. Uji hedonik/kesukaan formula berdasarkan komposisi bahan baku

Perlakuan (perbandingan)	Parameter			
	Warna	Aroma	Kekentalan	Rasa
1. Tepung Kedelai kuning : tepung bekatul putih (2:1)	2,98 ^b	2,37 ^b	2,27 ^b	2,85 ^b
2. Tepung Kedelai kuning : tepung bekatul putih (1:1)	3,21 ^a	3,18 ^a	3,29 ^a	3,05 ^a
3. Tepung Kedelai kuning : tepung bekatul putih (1:2)	2,71 ^b	2,44 ^b	1,33 ^c	2,82 ^b
P - veliu	0.035	0.001	0.001	0.003

*Notasi huruf yang berbeda menunjukkan hasil uji Wilcoxon beda nyata ($p < 0,05$)

Keterangan: (1) : sangat tidak suka, (2) : tidak suka, (3) : suka, (4) : sangat suka

Berdasarkan tabel 3 dapat diketahui hasil uji friedman berdasarkan skor kesukaan terhadap komposisi yang paling disukai dari parameter warna, aroma, kekentalan, maupun rasa pada perlakuan 2 dengan komposisi 1:1. Hasil uji wilcoxon menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($p \leq 0,05$) antara perlakuan 2 dengan perlakuan 1 dan 3

terhadap warna , aroma dan kekentalan tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan ($p \geq 0,05$) terhadap kesukaan warna, aroma dan rasa pada perlakuan 1 dan 3.

Tabel 4. Uji skoring formula tepung tempe dan tepung bekatul berdasarkan komposisi bahan baku

Perlakuan (perbandingan)	Parameter			
	Warna	Aroma	Kekentalan	Rasa
1. Tepung Kedelai kuning : tepung bekatul putih (2:1)	3,52 ^b	3,44 ^b	3,24 ^b	3,44 ^b
2. Tepung Kedelai kuning : tepung bekatul putih (1:1)	3,84^a	3,64^a	3,52^a	3,72^a
3. Tepung Kedelai kuning : tepung bekatul putih (1:2)	2,28 ^c	2,84 ^c	2,36 ^c	2,52 ^c
P - veliu	0.001	0.001	0.001	0.001

*Notasi huruf yang berbeda menunjukkan hasil uji Wilcoxon beda nyata ($p < 0,05$)

Keterangan:

Warna : (1) : coklat muda, (2) : coklat tua, (3) : hitam kecoklatan, (4) : hitam muda, (5) : hitam tua.

Aroma : (1) :sangat tidak harum, (2) : tidak harum, (3) : sedikit harum, (4) : harum, (5) : sangat harum

Kekentalan : (1) : sangat tidak kental, (2) : tidak kental, (3) : agak kental, (4) : kental, (5) : sangat kental.

Rasa : (1) : sangat tidak manis, (2) : tidak manis, (3) : agak manis, (4) : manis, (5) : sangat manis.

Berdasarkan tabel 4 menunjukkan bahwa formula yang dipilih panelis berdasarkan skor tertinggi yaitu memiliki warna coklat tua dengan skor 3,84, Aroma harum dengan skor 3,64, kekentalan tidak kental skor 3,52 dan rasa yang manis dengan skor 3,72 . Hasil uji wilcoxon menunjukkan ada perbedaan yang signifikan ($p \leq 0,05$) terhadap skor kesukaan terhadap komposisi dari pada perlakuan 1, 2 dan 3.

Penelitian ini terdiri dari dua tahap. Pertama dilakukan penelitian uji organoleptik formula dengan perlakuan kombinasi tepung kedelai kuning dan hitam dengan tepung bekatul merah dan putih. Tahap kedua dilakukan uji organoleptik pada formula perlakuan terbaik tahap pertama, untuk mengetahui formulasi yang optimal agar diperoleh formula dengan kualitas warna, aroma, kekentalan dan rasa yang disukai oleh panelis

3. Variasi bahan baku formula

a. Warna

Perlakuan 2 merupakan perlakuan yang dipilih panelis dengan skor nilai 2,98 kategori suka pada skala 4 dan skor warna tertinggi yang dipilih panelis coklat tua dengan skor 3,88. Warna coklat disebabkan oleh senyawa fitokimia yang dimiliki bekatul dan tempe dari kedelai kuning. Perlakuan dengan pemanasan basah akan meningkatkan komponen warna coklat dan menurunkan warna kuning (Damayanti,E et al.2007). Warna yang tidak dipilih panelis adalah perlakuan 3 dengan skor nilai 1,17

kategori sangat tidak suka pada skala 4 dan memiliki skor warna 1.48 yaitu hitam tua pada skala 4. Warna hitam pada formula campuran tempe hitam dan bekatul merah disebabkan karena akumulasi dari antosianin, klorofil sehingga menghasilkan pigmen hitam pada kulit kedelai hitam dan beras merah,(Ito.C, et al.2013) menjadikan warna sangat tidak menarik. Makin hitam warna formula, tingkat kesukaan panelis cenderung mengalami penurunan.(Ito.C, et al.2013) Warna hitam pada tempe juga disebabkan karena *Rhizopus oryzae* memiliki aktivitas protease amilase yang tinggi dan memecah pati dari biji-bijian menjadi gula sederhana yang mengalami fermentasi menjadi asam organik sehingga menghasilkan flavor yang tidak diinginkan.(Suhendri, 2009)

b. Aroma

Perlakuan 2 memiliki aroma yang paling disukai panelis dengan skor nilai 3,14 skala 4 dan skor aroma tertinggi adalah 3.88 yaitu beraroma sangat harum, hal tersebut disebabkan karena aroma khas disebabkan karena kandungan minyak tokofenol (komponen volatil) pada bekatul. Proses pengovenan atau pemanasan bekatul diduga mampu meningkatkan reaksi Maillard, sebagai sumber aroma dalam cita rasa.(Sarbini D ,et.al.2009) Perlakuan paling tidak disukai adalah perlakuan 4 dengan skor nilai 1,33 skala 4 memiliki skor aroma terendah 1.84 yang tidak harum. Aroma pada perlakuan 4 disebabkan karena tempe kedelai hitam mempunyai bau langu (beany flavor) yang disebabkan adanya aktivitas enzim lipoksigenase yang terdapat pada kedelai. Terjadinya bau langu muncul terutama pada waktu pengolahan, setelah tercampurnya lipoksigenase dalam lemak kedelai. Dari hasil penelitian, senyawa yang paling banyak menghasilkan bau langu adalah etil fenil keton, sedangkan bekatul beras merah memiliki sifat yang tidak stabil sehingga memudahkan untuk membentuk aroma tengik (off flavor) akibat rusaknya kandungan minyak pada bekatul karena aktivitas enzim lipase, yang menghidrolisis trigliserida dan menghasilkan asam lemak bebas yang mudah dioksidasi. Bekatul memiliki kandungan lemak sebesar 20 persen yang kaya akan asam lemak tidak jenuh (70–90 persen), khususnya asam oleat dan linoleat. Pengolahan bekatul harus dilakukan sesegera mungkin, dalam waktu yang tidak lebih dari 24 jam supaya tidak terjadi bau tengik.(Sarbini D, 2009; Arab F ,20111)

c. Kekentalan

Perlakuan 2 memiliki kekentalan yang dipilih panelis dengan skor 3.30 dengan kategori suka dan skor nilai kekentalan 3,80 yaitu tidak kental dan paling tidak dipilih panelis adalah perlakuan 4 dengan skor 1.22 kategori sangat tidak suka dan skor kekentalan dengan nilai 1,60 skala 4 yaitu kental. Tempe kedelai hitam dan bekatul merah mengandung antosianin dan serat pangan yang cukup tinggi sehingga membuat konsistensi terkesan menjadi lebih kental dan tidak menarik. (Ito.C, et al.2013)

d. Rasa

Hasil uji Hedonik menunjukkan bahwa penilaian panelis dari segi rasa memilih perlakuan 2 dengan skor nilai 3.25 kategori suka dan skor nilai rasa 3,80 kategori manis sedangkan yang tidak dipilih panelis adalah perlakuan 4 dengan nilai 1,08 kategori sangat tidak suka. Skor rasa yang tidak dipilih panelis adalah perlakuan 3 yaitu sangat tidak manis. Faktor penyebab rasa yang tidak dipilih panelis kemungkinan karena adalah rasa pahit dan rasa kapur pada kedelai yang disebabkan oleh adanya senyawa-senyawa glikosida yaitu soyasaponin dan sapogenol.(Santoso,2009) *After taste* pahit juga dapat disebabkan oleh hidrolisis asam-asam amino yang terjadi pada reaksi *Maillard*, baik saat proses pembuatan tepung tempe. Terdapat beberapa asam amino yang menimbulkan rasa pahit seperti lisin, arginin, prolin, fenilalanin, dan valin. Asam amino lisin merupakan asam amino yang memiliki rasa paling pahit dibandingkan asam amino penyebab rasa pahit lainnya.(Nout MJR . et al, 2005) selain itu rasa tidak dipilih panelis dimungkinkan karena penggunaan bekatul yang sudah terlalu lama karena cepatnya mengalami kerusakan pasca penggilingan yaitu timbul rasa pahit³⁴. Hal ini disebabkan oleh adanya proses hidrolisis lemak (trigliserida) menghasilkan asam lemak bebas karena adanya aktivitas enzim lipase in situ³⁵. Diperkirakan kecepatan pembentukan asam lemak bebas hasil hidrolisis minyak dalam bekatul mencapai 5-10 % per hari dan sekitar 70 % dalam sebulan.(Damardjati DS.et al,1990)

Rerata formula yang terbuat dari tepung tempe kedelai kuning menghasilkan warna, aroma, kekentalan dan rasa yang lebih baik dibandingkan dengan formula yang terbuat dari tepung tempe kedelai hitam. Hal ini disebabkan oleh akumulasi dari antosianin, klorofil serta kombinasi beberapa senyawa sehingga menghasilkan pigmen hitam pada kulit kedelai hitam³⁷. Menurut Astawan (2004), tempe berkualitas buruk salah satunya ditandai dengan adanya bercak-bercak hitam pada tempe.(Astawan, Made. Et al ,2010)

Hal ini juga didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Wihanandini *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa panelis cenderung lebih menyukai tempe kedelai kuning dibandingkan tempe kedelai hitam.

4. Variasi komposisi formula

Pada tahap kedua penelitian ini, dilakukan uji organoleptik lanjutan pada formula dengan bahan dasar kombinasi tepung kedelai kuning dengan tepung bekatul putih. Tahap dua ini bertujuan untuk mengetahui formula optimal perbandingan komposisi tepung tempe kedelai kuning dengan tepung bekatul putih. Uji organoleptik yang dilakukan terdiri dari uji hedonik dan uji skoring.

Berdasarkan tabel 3 menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan ($p \leq 0,05$), pada setiap perlakuan komposisi formula. Panelis cenderung menyukai formula dengan perbandingan tepung kedelai kuning : tepung bekatul putih 1:1, dengan tingkat kesukaan suka pada setiap parameter baik parameter warna (3,21), aroma (3,18), kekentalan (3,29), maupun rasa (2,82) pada skala 1 hingga 4.

a. Warna

Hasil pengujian skor warna variasi komposisi formula tepung tempe kedelai kuning dan tepung bekatul putih dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4 menunjukkan bahwa ada perbedaan ($p \leq 0,05$) skor warna pada setiap perlakuan komposisi formula tepung tempe kedelai kuning dengan tepung bekatul putih. Perbandingan terbaik antara tepung tempe kedelai kuning dengan tepung bekatul putih adalah 1 : 1 (Tabel 4), dengan warna formula hitam muda (nilai 3,84 skala 5).

Panelis cenderung lebih menyukai formula yang berwarna gelap dibandingkan formula yang berwarna cerah. Semakin tinggi formulasi tepung bekatul putih, warna formula akan semakin cerah. Hal ini disebabkan oleh warna dasar dari tepung bekatul putih cenderung berwarna putih kecerahan.

b. Aroma

Hasil pengujian skor aroma variasi komposisi formula tepung tempe kedelai kuning dan tepung bekatul putih disajikan pada tabel 4.

Formula tepung tempe kedelai kuning dan tepung bekatul putih dengan formula 1:1 memiliki aroma formula harum yang khas dibandingkan formula lainnya. Bekatul memiliki sifat tidak stabil yang disebabkan oleh kerusakan hidrolitik dan oksidatif pada minyak yang ada dalam bekatul, kondisi ini menyebabkan bekatul beraroma tengik. Proses ketengikan pada bekatul dimulai dari lipase yang akan menghidrolisis lemak

menjadi asam lemak dan gliserol, asam lemak bebas dioksidasi oleh enzim lipoksigenase menjadi bentuk peroksida, keton, dan aldehid, sehingga bekatul menjadi tengik dan mempengaruhi penerimaan sensoris bekatul sebagai bahan baku formula. (Santoso, 2009).

c. Kekentalan

Hasil pengujian skor kekentalan formula tepung tempe kedelai kuning dan tepung bekatul putih dapat dilihat pada tabel 4.

Kekentalan formula dipengaruhi oleh tingkat protein terlarut yang ada dalam formula³⁴. Pemanasan formula hingga suhu 80⁰C akan menyebabkan tekstur formula lebih stabil, karena protein whey akan berperan ketika mengalami denaturasi membentuk gel akibat pemanasan³⁵. Kandungan protein pada tepung tempe kedelai kuning mencapai 49,6 % .(Ramezanzadeh, F. M et al,1999) sedangkan protein pada tepung bekatul hanya 16,5 %.(Damardjati DS.et al,1990).

d. Rasa

Hasil pengujian skor warna formula tepung tempe kedelai kuning dan tepung bekatul putih dapat dilihat pada Gambar 4.

Formula tepung tempe kedelai kuning dan tepung bekatul putih dengan formula 1:1 memiliki rasa manis dengan nilai 3,72 dari rentang nilai 1-5. Semakin tinggi penambahan tepung bekatul putih rasa formula cenderung tidak manis. Tepung bekatul memiliki kandungan serat pangan mencapai 25,3 %, sedangkan kandungan gula sederhananya hanya sebesar 5%.%(Damardjati DS.et al,1990).. Kondisi ini dicurigai menyebabkan formula memiliki rasa yang kurang manis karena tingginya kandungan serat pada tepung bekatul.

Kandungan Zat Gizi Formula Tepung tempe dan Bekatul

Formula kombinasi tepung tempe dan tepung bekatul yang dievaluasi meliputi komposisi zat gizi dan senyawa antioksidan dari empat kombinasi perlakuan formulasi yaitu (1) formula kombinasi tepung tempe kedele kuning + tepung bekatul putih, (2) Tepung tempe kedele hitam + tepung bekatul putih, (3) Tepung tempe kedele kuning + tepung bekatul merah, (4) Tepung tempe kedele hitam + tepung bekatul merah. Parameter yang digunakan untuk menilai komposisi zat gizi dan senyawa antioksidan .

Tabel 5. Rerata Kandungan Protein Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul Per 100 gr

Prelakuan	Kadar Protein %
1. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih	43,30 ± 0,28 ^d
2. Tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul putih	30,03 ± 0,34 ^b
3. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul merah	29,47 ± 0,56 ^a
4. Tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul merah	34,25 ± 0,49 ^c

Keterangan:

Tanda huruf berbeda menunjukkan beda nyata ($p \leq 0,05$)

Hasil analisis kandungan protein formula tepung tempe dengan tepung bekatul menunjukkan persentase rerata 34,26±0,41. Persentase rerata terendah pada perlakuan 3 yaitu kombinasi tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul merah sebesar 29.47±0,56 dan persentase rerata tertinggi pada perlakuan 1 yaitu kombinasi tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih sebesar 43,30± 0,28. Pada tabel 1 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan kandungan protein antar kelompok perlakuan $p > 0,05$

Tabel 6. Rerata Kandungan Lemak Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul Per 100 gram

Prelakuan	Kadar Lemak %
1. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih	21,70 ± 0,44 ^d
2. Tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul putih	20,78 ± 0,43 ^c
3. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul merah	17,05 ± 0,31 ^b
4. tepung kedele hitam dengan tepung bekatul merah	15,37 ± 0,62 ^a

Keterangan:

Tanda huruf berbeda menunjukkan beda nyata ($p \leq 0,05$)

Hasil analisis kadar lemak formula kombinasi tepung tempe dengan bekatul dapat dilihat pada tabel 2. Rerata kadar lemak formula antara 15,37 ± 0,62 -21,70 ± 0,44. Persentase rerata terendah kadar lemak pada perlakuan 4 kombinasi tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul merah sebesar 17,05± 0,31 dan persentase rerata tertinggi pada perlakuan 1 yaitu kombinasi tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih sebesar 21,70 ± 0,44. Kadar lemak pada tabel 2 menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok perlakuan, $p > 0,05$

Tabel 7. Rerata Kandungan Karbohidrat Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul Per 100 gram

Prelakuan	Kadar Lemak %
1. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih	36,72 ± 0,72 ^a
2. Tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul putih	36,72 ± 0,88 ^a
3. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul merah	38,89 ± 0,57 ^b
4. tempe kedele hitam dengan tepung bekatul merah	38,84 ± 0,28 ^b

Keterangan:

Tanda huruf berbeda menunjukkan beda nyata ($p \leq 0,05$)

Hasil analisis kadar karbohidrat formula kombinasi tepung tempe dengan bekatul dapat dilihat pada tabel 2. Rerata kadar karbohidrat formula antara $36.72 \pm 0,72$ - $38.89 \pm 0,57$. Persentase rerata terendah kadar karbohirat pada pelakuan 1 kombinasi tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih sebesar $36.72 \pm 0,72$ dan persentase rerata tertinggi pada perlakuan 3 yaitu kombinasi tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul merah sebesar $21,70 \pm 0,44$. Kadar lemak pada tabel 2 menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok perlakuan, $p > 0.05$

Tabel 8. Rerata Kandungan Vitamin- E Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul Per 100 gram

Prelakuan	Kadar Vitamin E (mg)
1. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih	600,51 ± 7,07 ^d
2. Tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul putih	362,79 ± 1,37 ^a
3. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul merah	550,35 ± 2,76 ^c
4. Tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul merah	415,43 ± 2,29 ^b

Keterangan:

Tanda huruf berbeda menunjukkan beda nyata ($p \leq 0,05$)

Hasil analisis kadar vitamin-E formula dari ke empat perlakuan dapat dilihat pada tabel 3. Rerata kandungan vitamin E formula antara $362,79 \pm 1,37$ - $600,51 \pm 7,07$. Rerata paling rendah pada perlakuan 2 kombinasi tepung tempe hitam dengan tepung bekatul putih sebesar $362,79 \pm 1,37$ dan rerata paling tinggi pada perlakuan 1 yaitu kombinasi tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih. Kadar vitamin E pada tabel 3 menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok perlakuan, $p > 0.05$

Tabel 9. Rerata Kandungan Isoflavon Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul Per 100 gram

Prelakuan	Kadar Isoflavon (mg)
1. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih	$77,28 \pm 0,76^b$
2. Tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul putih	$70,82 \pm 0,55^a$
3. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul merah	$90,80 \pm 1,20^d$
4. Tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul merah	$86,88 \pm 0,66^c$

Keterangan:

Tanda huruf berbeda menunjukkan beda nyata ($p \leq 0,05$)

Hasil analisis kandungan isoflavon formula pada kelompok perlakuan 1,2,3 dan 4 dapat dilihat pada tabel 4. Rerata kandungan isoflavon antara $70,82 \pm 0,55$ - $90,80 \pm 1,20$. Rerata paling rendah pada kelompok perlakuan 2 yaitu kombinasi tepung tempe hitam dengan tepung bekatul putih sebesar $362,79 \pm 1,37$ dan rerata paling tinggi pada kelompok perlakuan 3 yaitu kombinasi tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul merah sebesar $90,80 \pm 1,20$. Kandungan isoflavon pada tabel 3 menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok 1,2,3 dan 4, $p > 0,05$

Formula kombinasi tepung tempe dan tepung bekatul yang dievaluasi meliputi komposisi zat gizi dan senyawa antioksidan dari empat kombinasi perlakuan formulasi yaitu (1) formula kombinasi tepung tempe kedele kuning + tepung bekatul putih, (2) Tepung tempe kedele hitam + tepung bekatul putih, (3) Tepung tempe kedele kuning + tepung bekatul merah, (4) Tepung tempe kedele hitam + tepung bekatul merah. Parameter yang digunakan untuk menilai komposisi zat gizi dan senyawa antioksidan meliputi proksimat, asam lemak, vitamin E, isoflavon dan kadar serat.

Berdasarkan Tabel 1 dapat diketahui bahwa keempat formulasi dari tepung tempe kuning, tempe kedele hitam dengan bekatul putih dan bekatul merah memiliki kandungan protein, lemak, karbohidrat dan serat yang berbeda-beda. Formula dengan kombinasi tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih mempunyai kandungan zat gizi protein, lemak, vitamin E yang lebih tinggi dibandingkan dengan ketiga formulasi yang lain. protein paling tinggi dibandingkan formula kombinasi yang lain. Kedua bahan makanan tersebut merupakan bahan makanan yang mengandung protein. Kombinasi kedua bahan makanan tersebut menyumbang protein pada formula

kombinasi tepung tempe kedele kuning dan bekatul putih sebesar $43,30\% \pm 0,28$ dan memberikan efek komplementari asam amino esensial.²⁶

Kedelede selama proses fermentasi menjadi tempe, *Rhizopus* dan bakteri menghasilkan enzim protease sehingga protein diurai menjadi asam amino bebas. Jumlah asam amino yang dibebaskan meningkat dan mencapai puncaknya setelah fermentasi selama 24 jam hingga 72 jam sebesar 7,3% - 30%. Meningkatnya pelepasan asam amino ini akan memperbaiki nilai gizi tempe yaitu *protein digestibility corrected amino acidscore* (PDCAAS) yang mencapai 0,8 – 0,9 atau 80-90% dari protein hewani.²⁶ Jenis asam amino yang terdapat pada kacang tempe kedele yang adalah arginin, glisin dan alanin sedangkan jenis asam amino yang terdapat pada bekatul adalah leusin, valin dan venil alanin sehingga saling melengkapi.²⁷ Hasil penelitian Utari (2011) membuktikan bahwa asam amino yang paling tinggi pada tempe adalah arginin.²⁸

Konsumsi protein kedelai ≥ 25 g/hari memiliki efek hipokolesterolemik yang disebabkan peran sinergis beberapa komponen dalam kedelai)²⁹ Menurut Erdman,2000 menyebutkan bahwa protein kedele terbukti dapat menstimulasi peningkatan aktivitas reseptor LDL sehingga dapat menurunkan kadar LDL.³⁰ Hasil penelitian Baum *et al.* (1998) menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas reseptor LDL lebih tinggi pada kelompok yang diberi intervensi protein kedelai dibanding protein kasein³¹. Arginin yang terdapat pada kedele merupakan prekursor metabolik yang berpotensi dalam meningkatkan produksi NO³². Arginin merupakan substrat yang siap disintesis untuk menghasilkan *Nitric Oxide* (NO) dengan bantuan enzim *NO Synthases* (NOSs)³³. Mekanisme arginin terhadap profil lipid yaitu melalui mekanisme penurunan lipogenesis oleh NO. NO dapat menghambat sintesis glukosa, glikogen, dan lemak pada hati dan adiposa³⁴. Sedangkan jenis asam amino yang dominan terdapat dalam bekatul adalah leusin. Leusin merupakan salah satu asam amino esensial yang berperan dalam stabilitas gula darah, melalui metabolisme hormon insulin sehingga dapat menurunkan sekresi insulin dan glukagon, serta dapat menghambat lipogenesis karena berperan dalam homeostatis lipid dan glukosa³⁰

Formula kombinasi tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih juga mengandung lemak yang paling tinggi diantara ke tiga formula yaitu sebesar $21,70 \pm 0,44$. Jenis kandungan lemak pada formula tersebut termasuk asam lemak tidak jenuh.

Hasil penelitian Agrof,1997 menyebutkan bahwa kandungan asam lemak pada tempe adalah asam oleat , asam linoleat dan linolenat³⁵ , sedangkan kandungan lemak pada bekatul menurut Orthoefer, 2005, sekitar 20% *rice bran oil* (RBO) dengan kandungan asam lemak tak jenuh asam oleat dan asam linoleat (70-90%),³⁶

Asam oleat adalah asam lemak bebas kedua terbanyak pada tempe dan bekatul setelah asam linoleat. Asam oleat bermanfaat bagi tubuh sebagai pengganti lemak jenuh (SAFA) yang dapat menurunkan kolesterol darah dengan cara meningkatkan Kolesterol (K) –HDL sehingga dapat menurunkan risiko penyakit kardiovaskuler.³⁷ Asam linoleat dapat meningkatkan K-HDL dan menurunkan K-LDL, hal ini berbeda dengan peran asam lemak lainnya yang cenderung bersifat dapat meningkatkan kadar lemak darah, sedangkan asam linolenat lebih efektif berperan dalam menurunkan trigliserida darah dibanding asam linoleat. Peran lain dari asam linoleat dan linolenat adalah menguatkan membransel dan mencegah kerusakan jaringan kulit serta membantu transport dan metabolisme kolesterol sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah, selain itu pada formula kombinasi tempe kuning dengan bekatul putih mengandung vitamin E yang paling tinggi diantara ke tiga formulasi yang lain yaitu sebanyak $600,51 \pm 7,07$ mg.

Vitamin E merupakan antioksidan pemecah rantai dan larut dalam lemak yang sangat penting karena dapat memperbaiki profil lipid dengan cara menghilangkan radikal bebas dan lipid peroksidasi. Hasil penelitian Zubaidi et al,(2004); Bourassa et al, (2006) menunjukkan bahwa antioksidan eksogen yang paling baik adalah vitamin E (*Tocopherol*) karena memiliki efek terbaik bila dibandingkan dengan vitamin A dan vitamin C dalam mengurangi terjadi peroksidasi lemak.⁽¹¹⁾ Gaziano, (2004) melaporkan bahwa dengan penambahan *Tocopherol* (vitamin E) pada diet dapat menurunkan risiko penyakit jantung koroner (PJK) sebanyak 34%.^{(12).(38)}

5.2 LUARAN

Luaran yang sudah dicapai adalah artikel jurnal yang sudah di submit di jurnal internasional terindek scopus yaitu di Pakistan Journal Nutrition, Artikel seminar internasional di ICFST'18 di Unimus, pruduk formula tepung tempe dan bekatul untuk penderita dislipidemia

BAB 6. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

Tabel 10. Jadwal Penelitian Selanjutnya

No	Jenis Kegiatan	Tahun ke-1								Tahun ke-2								Tahun ke-3					
		1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6
1	Membuat laporan																						
2	Deseminasi hasil																						
3	Publikasi tahun 1																						

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

1. KESIMPULAN

Variasi bahan baku yang dipilih panel adalah kombinasi tepung tempe kuning dan bekatul kuning. Komposisi formula tepung tempe kuning dan bekatul putih yang dipilih panelis adalah 1: 1. Variasi bahan baku yang dipilih oleh panelis adalah kombinasi tepung tempe kuning dan bekatul kuning. Komposisi tepung tempe kuning dan formula white rice bran yang dipilih oleh panelis adalah 1-1 (1: 1). Kandungan zat gizi paling tinggi terdapat pada komposisi formula tepung kedele kuning dan bekatul putih.

2. SARAN

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut pada wanita menopause dengan dislipidemia untuk meningkatkan profil lipid dan stres oksidatif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Al-Benna S, Hamilton CA, McClure JD, Rogers PN, Berg GA, Ford I, et al. 2006. Low-Density Lipoprotein Cholesterol Determines Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction in Saphenous Veins From Patients With Coronary Artery Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1;26(1):218–23.
2. Arab F., Alemzadehb I., dan Maghsoudi V. 2011. Determination of Antioxidant Component and Activity of Tepung bekatul Extract. *Scientia Iranica, Transactions C: Chemistry and Chemical Engineering.* Vol. 18(6) : 1402–1406.
3. Astawan, Made. *Bekatul Gizinya Kaya Betul (Rice bran is so rich in nutrients)*. 2009. <http://www.kompas.com/>. Cited at : (15 Februari 2010).
4. Bush TL, Barrett-Connor E, Cowan LD, Criqui MH, Wallace RB, Suchindran CM, et al. 1987. Cardiovascular mortality and noncontraceptive use of estrogen in women: results from the Lipid Research Clinics Program Follow-up Study. *Circulation.* 1;75(6):1102–9.
5. Cai H, Harrison DG. 2000. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res.*;87(10):840–844

6. Colpo A. 2005. LDL Cholesterol: "Bad" Cholesterol or Bad Science? *J Am Physicians Surg.*;10(3):83–9.
7. Csont T, Bereczki E, Bencsik P, Fodor G, Görbe A, Zvara Á, et al. 2007. Hypercholesterolemia increases myocardial oxidative and nitrosative stress thereby leading to cardiac dysfunction in apoB-100 transgenic mice. *Cardiovasc Res.* 1;76(1):100–9
8. Damardjati DS, Santosa BA, Munarso J. Laporan Akhir. Studi Kelayakan dan Rekomendasi Teknologi Pabrik Pengolahan Bekatul (*A final report. Feasibility Study and Recommendation Technology of Rice Bran Processing Factory*). Balai penelitian tanaman pangan sukamandi. Subang. 1990
9. Damayanthi, Evi., Tjong Tjing, Liem., Arbianto, Lily. Tepung bekatul. Jakarta : Penebar Swadaya. 2007
10. Dario Pitocco, Francesco Zaccardi, Enrico Di Stasio, Federica Romitell, Stefano A. Santini, Cecilia Zupp, et al. 2010. Oxidative Stress, Nitric Oxide, and Diabetes. *SBDR - Soc Biomed DIABETES Res.* 17;7(1):15–25
11. Geller SE, Studee L. 2005. Botanical and Dietary Supplements for Menopausal Symptoms: What Works, What Doesn't. *J Womens Health*;14(7):634–49.
12. Griendling KK, FitzGerald GA. 2003. Oxidative Stress and Cardiovascular Injury. *Circulation* 28;108(17):2034–40.
13. Hall WL, Vafeiadou K, Hallund J, Bügel S, Koebnick C, Reimann M, et al. 2005. Soy-isoflavone-enriched foods and inflammatory biomarkers of cardiovascular disease risk in postmenopausal women: interactions with genotype and equol production. *Am J Clin Nutr.* 1;82(6):1260–8.
14. Heinecke JW. 2001. Is the Emperor Wearing Clothes? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1;21(8):1261–4.
15. Hery Winarsi. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Yogyakarta: Kanisiun;. 49-60 p.
16. Ito C, Oki T, Yoshida T, Nanba F, Yamada K, and Toda T. 2013. Characterisation of proanthocyanidins from black soybean: Isolation and characterization of proanthocyanidin oligomers from black soybean seed coats. *Food Chemistry.* Vol 141: page 2507-2512.
17. Kusumawati, D. 2004. Bersahabat dengan Hewan Coba. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 42 – 43 p.
18. Lennep R van, E J, Westerveld HT, Erkelens DW, Wall VD, E E. 2002. Risk factors for coronary heart disease: implications of gender. *Cardiovasc Res.* 15;53(3):538–49.
19. Ligaya Ita Tumbelaka. 2000. Efek Isoflavon dan Vitamin E Terhadap Aterogenesis Pada Monyet Ekor Panjang (*Macaca Fascicularis*). Institut Pertanian Bogor;
20. Manalu W, Suprayogi A, Astuti DA, others. 2013. Perbaikan Parameter Lipid Darah Mencit Hiperkolesterolemia dengan Suplemen Pangan Bekatul. *Maj Kedokt Bdg.*;45(1):1–5

21. Meir j, Stampfer,M.D, Graham a.Colditz,m.d. 2001. Estrogen Replacement Therapy and Coronary Heart Disease: A Quantitative Assessment of the Epidemiologic Evidence' 1. *Prev Med.*;20:47–63
22. Moncada S, Higgs A. 2006. *The Vascular Endothelium II*. Springer Science & Business Media;. 214 – 238. p.
23. Nanda, N, Bobby, Z, Hamide, A. 2008. Oxidative stress and protein glycation in primary hypothyroidism. Male/female difference. *Clin Experemental Med.*;8:101–8.
24. Nout MJR, Kiers Jl., 2005. Tempe Fermentation, innovation, and functionality: update into the third millennium. *App Environ Microbiol* 98:789--805.
25. Nunes GL, Sgoutas DS, Redden RA, Sigman SR, Gravanis MB, King SB, et al. 1995. Combination of Vitamins C and E Alters the Response to Coronary Balloon Injury in the Pig. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995 Jan 1;15(1):156–65
26. Ónody A, Csonka C, Giricz Z, Ferdinandy P. 2003. Hyperlipidemia induced by a cholesterol-rich diet leads to enhanced peroxynitrite formation in rat hearts. *Cardiovasc Res*. 1;58(3):663–70
27. Rader DJ, Daugherty A. 2008. Translating molecular discoveries into new therapies for atherosclerosis. *Nature*. 21;451(7181):904–13.
28. Ramezanzadeh, F. M., Rao, R. M., Windhauser, M., Prinyawiwatkul, W., Tulley, R., dan Marshall, W. E. 1999. Prevention of Hydrolytic Rancidity in Rice Bran During Storage. *J. Agric. Food Chem*. 47:3050-3052.
29. Reeman EW, Sherif K.2007. Prevalence of hot flushes and night sweats around the world: a systematic review. *Climacteric J Int Menopause Soc.*;10(3):197–214
30. Ricciarelli R, Zingg J-M, Azzi A.2000. Vitamin E reduces the uptake of oxidized LDL by inhibiting CD36 scavenger receptor expression in cultured aortic smooth muscle cells. *Circulation.*;102(1):82–87.
31. Rui-Li Yang, ong-Hui Shi, Gang Hao, Wu Li,, Guo-Wei Le.2008. Increasing Oxidative Stress with Progressive Hyperlipidemia in Human: Relation between Malondialdehyde and Atherogenic Index. *J Clin Biochem Nutr.*;43:154–8
32. Samaan SA, Crawford MH.1995. Estrogen and cardiovascular function after menopause. *J Am Coll Cardiol* 15;26(6):1403–10.
33. Santoso. Susu Kedelai dan Soygurt (Soybean and Soygurt milk). *Faperta UWG*. 2009
34. Sarbini D, Rahmawati S, Kurnia P. Uji Fisik, Organoleptik, dan Kandungan Zat Gizi Biskuit Tempe-Bekatul dengan Fortifikasi Fe dan Zink untuk Anak Kurang Gizi. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. 2009; Hal 10
35. Schlenker E, Gilbert JA.2014. *Williams' Essentials of Nutrition and Diet Therapy*. Elsevier Health Sciences;. 102-129 p
36. Shouman M, Abdallah N, El Tablawy N, Rashed L.2009. Biochemical markers of endothelial dysfunction in pediatric nephrotic syndrome. *Arch Med Sci.*;5(3):415–421
37. Suhendri. *Studi Kinetika Perubahan Mutu Tempe Selama Proses Pemanasan*. IPB. Bogor. 2009.

38. Sussi Astuti. 1999. Pengaruh Tepung Kedelai dan Tempe Dalam ransum Terhadap Fertilitas Tikus Percobaan. [Bogor]: Institut Pertanian Bogor;

LAMPIRAN .1

The Acceptability of *Tempe* and Rice Bran Flour Combination Formula as Anti-Hyperlipidemia and Oxidative Anti-Stress

Sufiati Bintanah¹, Siti Fatimah Muis², Purwanto AP³, Hapsari Sulistya Kusuma⁴

¹Department of Nutritional Sciences University of Muhammadiyah Semarang, Indonesia

²Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang, Indonesia

³Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang, Indonesia

⁴Department of Nutritional Sciences University of Muhammadiyah Semarang, Indonesia

Email: sofi.bintanah@yahoo.com, sitifatimahmuis@gmail.com, purwantoap@fk.undip.ac.id, hapsa31@yahoo.co.id

ABSTRACT

Background: Dyslipidemia is a lipid metabolic disorder caused by complex interactions between genetic factors, lifestyle, and decreased estrogen hormone. The decrease in endogenous estrogen hormone correlates with changes in the distribution of body fat and central obesity. Thus, it causes oxidative stress. Antioxidant is a compound that can prevent the occurrence of free radicals through the prevention of oxidation reactions. The best exogenous antioxidant is vitamin E (Tocopherol). One of the natural and safe Tocopherol or vitamin E sources is rice bran. Another antioxidant that has hypolipidemic properties is isoflavone found in soybean *tempe* that can increase SOD level.

Aims of the Study: This study was aimed at finding out a combination of raw materials formula and a formula composition most preferred by the panelists.

Research Method: This study was conducted through experiment using Mono-factorial Completely Randomized Design (CRD). Friedman method and Wilcoxon test were used for the analyses of organoleptic test data .

Results: Based on the results of the hedonic test which is based on the combination of raw materials, the panelists prefer the formula of yellow soybean flour : white rice bran flour with the results of the following parameters of color (2.98), aroma (3.14), viscosity (3.30), and taste (3.25) on a scale of 1 to 4. Based on the results of the hedonic test which is based on the variations, the composition formula of yellow soybean flour and white rice bran flour with a ratio of 1:1 is most preferred by the panelists according to the results of parameters of color (3.21), aroma (3.18), viscosity (3.29), and taste (3.05). Wilcoxon test results show a significant difference ($p \leq 0.05$) on each variation of the raw materials and each combination of the formula ratios.

Conclusion: The variation of raw materials selected by the panelists is the combination of yellow *tempe* flour and yellow rice bran with a composition of 1:1.

Keywords: Acceptability, *Tempe* and Rice Bran Flour Formula, Anti Hyperlipidemia, Oxidative Anti-Stress

INTRODUCTION

Dyslipidemia is a lipid metabolism disorder characterized by levels of total cholesterol >200 mg/dl, low density lipoprotein (LDL) cholesterol >130 mg/dl, triglyceride >150 mg/dl and high density lipoprotein (HDL) cholesterol <40 mg/dl. This is due to complex interactions between genetic and unhealthy lifestyle factors.

^{1,2,3} One of the contributing factors of lipid profile change, especially in women over 50 years of age, is due to a decrease in estrogen (menopause).³ The decrease of endogenous estrogen correlates with changes in body fat distribution, including increased total mass of fat and central obesity. Thus, it leads to oxidative stress.^{4,5,6} The prevalence of dyslipidemia, according to Indonesia Basic Health Research (RISKESDAS) data in 2013, increases to 50.7%.^{7,8,9}

The main prevention of dyslipidemia can be done by controlling serum cholesterol levels within normal limits, weight control, low cholesterol diet, regular exercise, and pharmacological therapy using hypolipidemic drugs, and consumption of food containing potent antioxidant compounds for decreasing serum cholesterol levels.¹⁰ Medicamentous therapy using hypolipidemia/lipid-lowering drugs has side effects such as elevated fasting blood glucose, dementia and mild cognitive impairment and psychiatry.^{11,12} Therefore, both endogenous and exogenous antioxidant compounds are required to improve lipid profile without any side effects for postmenopausal women with dyslipidemia.^{13,14,15}

Antioxidants are compounds that can prevent the occurrence of free radicals through the prevention of oxidation reactions. Results of studies conducted by Zubaidi *et al.* (2004); Bourassa *et al.* (2006) show that the best exogenous antioxidant is vitamin E (Tocopherol) because it has the best effect if compared to vitamin A and vitamin C in reducing fat peroxidation.^{16,17} The addition of Tocopherol (vitamin E) in the diet can reduce the risk of coronary heart disease (CHD) of 34%.^{18,19}

One of natural and safe Tocopherol or vitamin E sources is rice bran. Rice bran is one of byproducts of rice milling process in addition to white rice itself.²⁰ Based on Central Bureau of Statistics (known in Indonesia as BPS) data in 2015, rice production in Indonesia is 75.36 million tons, resulting in rice bran in total of 6-7.54 million tons from rice mills²¹. Types of rice bran vary, depending on rice varieties such as white rice bran, red rice bran and black rice bran. The rice bran, in addition to containing vitamin E, also

contains vitamin B complex (B1, B2, B3, B5, and B6), essential fatty acids, fiber, amino acids, g-oryzanol, polyphenols, and phytosterol.²²

In addition to vitamin E (Tocopherol), another type of antioxidant that has hypolipidemic properties is isoflavone found in soybeans.²³ According to Hall *et.al.* (2005) the isoflavone in soybeans (genistein and daidzein) acts like estrogen as an antioxidant that neutralizes free radicals that cause damage to cells.^{24,25} Types of soybeans vary, depending on the varieties such as yellow soybeans and black soybeans. One of soybean processed products is *tempe* (a fermented soybean product in Indonesia). Biological activities of isoflavones in soybean *tempe* increase by 222.5% compared to soybeans and a decrease of phytic acid by 65% occurs due to phytic enzyme reactions produced by *Rhizopus oligosporus*. *Tempe* is suspected to be related to superoxide dismutase (SOD) enzyme activities formed during the process of 24 – 60 hour fermentation that are previously not found in soybeans so as to increase SOD levels in the body.²⁵ One of other alternatives to extend the shelf life of *tempe* is by processing them into *tempe* flour.²⁶

The compound contained in *tempe* flour is isoflavone and that of in rice bran is tocopherol, acting as a chain breaker antioxidant and when combined, they will produce a better power to inhibit LDL oxidation. The results of Nunes's study (2005) show that the addition of isoflavone has no effect, however, when combined with synthetic vitamin E, it is able to inhibit LDL oxidation by 45.6% compared to atherogenic group ($p < 0.05$)²⁷ *Tempe* and rice bran flour also contain dietary fiber which can inhibit absorption of cholesterol in the small intestine so as to reduce cholesterol concentration in plasma and increase cholesterol synthesis by the liver, bile synthesis, and cholesterol excretion through feses.²⁸

This study was aimed at finding out the variation of raw materials formula most preferred by panelists from the combination of soybean *tempe* flour, black soybean *tempe* flour, and yellow rice bran and red rice bran based on physical and organoleptic properties. In addition, this study was also aimed at determining the combination composition most preferred by the panelists.

RESEARCH METHODS

MATERIALS

Materials: yellow soybean *tempe* and black soybean *tempe*, white rice bran, red rice bran, non-calorie sugar, and food flavoring.

METHODS

This study was conducted through experiment using a Mono-factorial Completely Random Design (CRD), namely *tempe* : rice bran flour formula. Stage 1 hedonic and organoleptic tests of raw material variations for *tempe* – rice bran formula. Stage 2 hedonic and organoleptic tests of *tempe* – rice bran formula in accordance with the test results of Stage 1 based on composition variations.

Tempe flour production: Yellow soybean and black soybean *tempe* are blanched by steaming them for 15 minutes. Then, they are chopped up to thickness of 1 cm and dried in the sun. Finally, they are extracted into flour and sifted using a 100-mesh sieve.

Rice bran flour production: The byproducts (secondary products) of white rice and red rice yielded from rice mills are then heated up using a cabinet dryer to a temperature of 100°C for 20-30 minutes. They are finally sifted using a 100-mesh sieve.

The making of raw materials variations of *tempe* flour : rice bran flour formula. Mix together the combinations (A) of yellow soybean *tempe* flour and white rice bran flour, (B) yellow soybean *tempe* flour and red rice bran flour , (C) black soybean *tempe* flour and white rice bran , (D) black soybean *tempe* flour and red rice bran each with a composition of 1:1 and weight of 112 grams. Add 3 grams of non-calorie sweetener and 3 grams of food flavorings, then mix together. After they are mixed up, dissolve each of them in cold water to the tune of 250 cc.

Organoleptic testing procedure: This includes color, taste, aroma and viscosity. The organoleptic test was done by using a hedonic test method with a total of 25 rather-trained panelists. It was randomly presented in the form of drinks of 4 kinds of formulae, then the panelists were asked to taste the formulae provided and assess them according to the assessment rubric made by the presenters. The selected formula was then continued with a test to select the most accepted composition as materials for making the formula.

The making of formula composition variations: Mix together the raw materials of combination formula of the selected *tempe* and rice bran flour in the previous organoleptic test with a composition (A) 224gr : 112gr / 2 : 1, (B) 112gr : 112 gr / 1 : 1, (C) 112gr : 224gr / 1 : 2 with 3 grams of non-calorie sweetener and 3 grams of food flavorings each.

Mix them together by using a stand food mixer then blend. After mixing them together, dissolve each of them in cold water to the tune of 250 cc then do the organoleptic test.

Analysis of organoleptic test data obtained was tabulated and analyzed using nonparametric statistics of Friedman method and continued with a Wilcoxon test.

RESULTS

The results of the study on the combinations of yellow and black soybean flour with red and white rice bran flour to find out a formula with the best flour combination based on the initial stage preference score are presented in Table 1 and Table 2 below:

Table 1. Hedonic test/preferred formula based on combinations of raw materials

Treatment (Flour)	Parameters			
	Color	Aroma	Viscosity	Taste
A. Yellow soybean <i>tempe</i> flour + red rice bran flour	2,43 ^b	2,21 ^b	2,21 ^b	2,81 ^b
B. Yellow soybean <i>tempe</i> flour + white rice bran flour	2,98 ^a	3,14 ^a	3,30 ^a	3,25 ^a
C. Black soybean <i>tempe</i> flour + red rice bran flour	1,17 ^d	1,33 ^c	1,22 ^d	1,08 ^c
D. Black soybean <i>tempe</i> flour + white rice bran flour	1,56 ^c	1,84 ^b	1,40 ^c	1,22 ^d
P-value	0.001	0.001	0.001	0.001

*Different letter notation shows Wilcoxon test results with significant difference ($p < 0.05$)

Description: (1) : dislike extremely, (2) : dislike, (3) : like, (4) : like extremely

Based on Table 1 above, the formula in B-formulation with a base ingredient combination of yellow soy flour with white bran flour produced organoleptic characteristics that were most preferred by panelists, both parameters of color, aroma, viscosity, and taste. Based on the results of Wilcoxon test the parameters of color, aroma, viscosity, and taste were significantly different ($p \leq 0.05$), between groups A, B, C and D.

Table 2. Formula scoring test based on combinations of raw materials

Treatment (Flour)	Parameters			
	Color	Aroma	Viscosity	Taste
A. Yellow soybean <i>tempe</i> flour + red rice bran flour	2,72 ^b	2,64 ^b	2,64 ^b	2,48 ^b
B. Yellow soybean <i>tempe</i> flour + white rice bran flour	3,88 ^a	3,88 ^a	3,80 ^a	3,80 ^a
C. Black soybean <i>tempe</i> flour + red rice bran flour	1,48 ^d	1,84 ^d	1,60 ^d	1,28 ^d
D. Black soybean <i>tempe</i> flour + white rice bran flour	2,16 ^c	2,36 ^c	2,20 ^c	2,08 ^c
p-value	0.001	0.001	0.001	0.001

*Different letter notation shows Wilcoxon test results with significant difference ($p < 0.05$)

Description:

Color : (1) dark black, (2) light black, (3) brownish black, (4) dark brown, (5) light brown
 Aroma : (1) extremely not fragrant, (2) not fragrant, (3) slightly fragrant, (4) fragrant, (5) extremely fragrant
 Viscosity : (1) extremely viscous, (2) viscous, (3) slightly viscous, (4) not viscous, (5) extremely not viscous
 Taste : (1) extremely not sweet, (2) not sweet, (3) slightly sweet, (4) sweet, (5) extremely sweet

In Table 2 above, the results of the scoring test of the formula in treatment B had a dark brown score of 3.88, scented score of 3.88, non-thick texture score of 3.80, and sweetness score of 3.80. Wilcoxon test results showed that there were significant differences ($p \leq 0.05$), in each treatment (A, B, C and D).

Table 3. Hedonic test/preferred formula based on raw material compositions

Treatment (comparison)	Parameters			
	Color	Aroma	Viscosity	Taste
A. Yellow soybean flour : white rice bran flour (2:1)	2,98 ^b	2,37 ^b	2,27 ^b	2,85 ^b
B. Yellow soybean flour : white rice bran flour (1:1)	3,21 ^a	3,18 ^a	3,29 ^a	3,05 ^a
C. Yellow soybean flour : white rice bran flour (1:2)	2,71 ^b	2,44 ^b	1,33 ^c	2,82 ^b
p-value	0.035	0.001	0.001	0.003

*Different letter notation shows Wilcoxon test results with significant difference ($p < 0.05$)

Description: (1) : dislike extremely, (2) : dislike, (3) : like, (4) : like extremely

Based on table 3 can be seen that based on friedman test results based on a score of preference for the most preferred composition of the parameters of color, aroma, viscosity, and taste in treatment B with a composition of 1: 1. Wilcoxon test results showed that there was a significant difference ($p \leq 0.05$) between treatment B with treatment A and C on color, aroma, viscosity and taste but there was no significant difference ($p \geq 0.05$) of color, aroma and taste preference in treatment A and C.

The test results of color scores of yellow soybean *tempe* flour and white rice bran flour formula can be seen in Table 4

Table 4. Test scores of *tempe* flour and rice bran flour formula based on compositions of raw materials

*Treatment (comparison)	Parameters			
	Color	Aroma	Viscosity	Taste
D A. Yellow soybean flour : white rice bran flour (2:1)	3,52 ^b	3,44 ^b	3,24 ^b	3,44 ^b
B. Yellow soybean flour : white rice bran flour (1:1)	3,84 ^a	3,64 ^a	3,52 ^a	3,72 ^a
i C. Yellow soybean flour : white rice bran flour (1:2)	2,28 ^c	2,84 ^c	2,36 ^c	2,52 ^c
f p-value	0.001	0.001	0.001	0.001

ferent letter notation shows Wilcoxon test results with significant difference ($p < 0.05$)

Description:

Color : (1) dark black, (2) light black, (3) brownish black, (4) dark brown, (5) light brown
 Aroma : (1) extremely not fragrant, (2) not fragrant, (3) slightly fragrant, (4) fragrant, (5) extremely fragrant

Viscosity : (1) extremely viscous, (2) viscous, (3) slightly viscous, (4) not viscous, (5) extremely not viscous
 Taste : (1) extremely not sweet, (2) not sweet, (3) slightly sweet, (4) sweet, (5) extremely sweet

Based on Table 4, it can be seen that the most preferred result of composition scoring of Friedman test is 1:1. Based on table 4 shows that the formula chosen by the panelists based on the highest score that has a dark brown color with a score of 3.84, fragrant aroma with a score of 3.64, viscous viscosity score 3.52 and a sweet taste with a score of 3.72. Wilcoxon test results showed that there was a significant difference ($p \leq 0.05$) on the score of preference for composition of treatments A, B and C.

DISCUSSIONS

This study consists of two stages. The first was to examine the organoleptic formula test with a combination of yellow and black soy flour with red and white bran flour. The second stage was carried out organoleptic test on the best treatment formula for the first stage, to find out the optimal formulation in order to obtain the formula with the quality of color, aroma, viscosity and taste preferred by the panelists

Variations of Formula Raw Materials

Color

Treatment B is the panelists-selected treatment with a score of 2.98 that falls into like category on a scale of 4 and the highest color score chosen by the panelists is dark brown with a score of 3.88. The brown color is caused by phytochemical compounds contained in rice bran and *tempe* made from yellow soybeans. Wet heat treatment will increase the brown color components and decrease the yellow color²⁹. The color that is not chosen by the panelists is Treatment C with a score of 1.17 which falls into extremely dislike category on a scale of 4 and has a color score of 1.48 that is dark black on a scale of 4. The black color on the mixture of black *tempe* and red rice bran formula is due to the accumulation of anthocyanin, chlorophyll resulting in black pigment on black soybean skin and red rice,³⁰ making the color unattractive. The more black the color of the formula is, the panelists' preference level tends to decrease.³⁰ The black color in *tempe* is also caused by *Rhizopus oryzae* that has a high amylase protease activity and breaks starch from grains into simple sugars that ferment into organic acids that it produces undesired flavors.³¹

Aroma

Treatment B is the panelists' most preferred aroma with a score of 3.14 on a scale of 4 and the highest aroma score is 3.88 which falls into extremely fragrant category. It is caused by the typical aroma of tokophenol oil (volatile component) in rice bran. The process of heating of rice bran is allegedly expected to increase Maillard's reaction as a source of flavor in taste.³² The least preferred treatment is Treatment D with a score of 1.33 on a scale of 4 having an aroma score of 1.84 which falls into not fragrant category. The aroma of Treatment D is because black soybean *tempe* has a beany flavor caused by lipoxygenase enzyme activities found in soybeans. The occurrence of the beany flavor arises mainly during processing, after the mixing of lipoxygenase in soybean fat. Based on the results of study, the compounds that produce beany flavors the most are ethyl phenyl ketone, whereas red rice bran has unstable properties which make it easier to form off-flavor odor due to damage of oil content in rice bran because of lipase enzyme activities, which hydrolyzes triglycerides and produces free fatty acids that are easily oxidized. Rice bran has a fat content of 20 percent, which is rich in unsaturated fatty acids (70-90 percent), especially oleic and linoleic acids. The processing of rice bran should be done within a short time, in no more than 24 hours so as not to cause rancid odor.^{22,29}

Viscosity

Treatment B is the panelists-selected viscosity with a score of 3.30 which falls into like category and with a viscosity score of 3.80 that falls into not viscous category. The least selected treatment by the panelists is Treatment D with a score of 1.22 which falls into dislike extremely category and with a viscosity score of 1.60 on a scale of 4 that falls into extremely viscous category. Black soybeans *tempe* and red rice bran have high antosianin and dietary fiber that make the consistency seems to be more viscous and unattractive.³⁰

Taste

Hedonic test results show that the panelists, in terms of taste, select Treatment B with a score of 3.25 which falls into like category and with a taste score of 3.80 which falls into sweet category. The treatment that is not selected by the panelists is Treatment D with a score of 1.08 that belongs to dislike extremely category. ***The score of taste that is not selected by the panelists is Treatment C which is extremely not sweet category. Factors that make the panelists to not select other tastes may be due to the bitter taste and***

chalky taste in soybeans caused by the presence of glycoside compounds such as soyasaponin and sapogenol.³³ The bitter aftertaste can also be caused by the hydrolysis of amino acids occurring in the Maillard reaction during *tempe* flour processing. There are several amino acids that cause bitter taste such as lysine, arginine, proline, phenylalanine, and valine. Lysine amino acid is an amino acid that has the most bitter taste than other bitter amino acids.²⁶ Besides, the reasons why the panelists do not select other tastes may be due to the use of rice bran stored for a very long period of time because of the rapid damage during post-milling which causes bitter taste³⁴. This is caused by the process of fat hydrolysis (triglycerides) to produce free fatty acids because of the activity of in situ lipase enzyme³⁵. The estimated speed of free fatty acid formation resulted from the oil hydrolysis in rice bran reaches 5-10% per day and about 70% in a month.³⁶

On average, the formula made from yellow soybean *tempe* flour can produce better color, aroma, viscosity and taste than that of black soybean *tempe* flour. This is due to the accumulation of anthocyanin, chlorophyll and the combination of several compounds so as to produce black pigment on black soybean skin³⁷. According to Astawan (2004), poor quality *tempe* is characterized by the existence of black spots on *tempe*.³⁴ This is also supported by a study conducted by Wihanandini *et al.* (2012) that indicates that panelists tend to prefer yellow soybean *tempe* to black soybean *tempe*.³⁸

Variations in Formula Compositions

. Research in the second stage carried out an advanced organoleptic test based on the parameters of color, aroma, viscosity, and taste in the formula with the basic ingredients of the combination of yellow soy flour and white bran flour results from the first stage of the study.

Color

The results of color scoring test of the formula composition variation of yellow soybean *tempe* and white rice bran can be seen in Table 4.

Table 4 shows that there is a difference ($p \leq 0.05$) in color scores between each treatment of the formula composition of yellow soybean *tempe* flour and white rice bran flour. The best ratio between yellow soybean *tempe* flour and white rice bran flour is one to one (1:1) (Table 4), with a formula color of light black (3.84 out of 5). The panelists tend to prefer a dark-colored formula to a brightly colored formula. The higher the formulation

of white rice bran flour is, the brighter the color of the formula will be. This is due to the basic color of the white rice bran flour which tends to be bright white.

Aroma

The results of aroma scoring test of the formula composition variation of yellow soybean *tempe* flour and white rice bran can be seen in Table 4.

The formula of yellow soybean *tempe* flour and white rice bran flour with a formula of 1:1 has a distinctive fragrant aroma formula compared to other formulas. Rice bran has unstable properties caused by hydrolytic and oxidative damage to the oil that exists in rice bran. This condition makes the rice bran smell unpleasant or rancid. The unpleasant or rancid smell process of the rice bran starts from the lipase that hydrolyzes fat into fatty acid and glycerol, free fatty acid that is oxidized by lipoxigenase enzyme into peroxide, ketone, and aldehyde forms so that the rice bran becomes rancid in which it influences the sensory acceptability of rice bran as a raw material of the formula³³.

Viscosity

The results of the formula viscosity scoring test of the yellow soybean *tempe* flour and white rice bran flour can be seen in Table 4.

The viscosity of the formula is affected by the level of dissolved protein present in the formula³⁴. The heating of the formula to a temperature of 800⁰C will cause the texture of the formula to be more stable because whey protein will play a role when denaturing to form a gel due to heating³⁵. The protein content of yellow soybean *tempe* flour reaches 49.6%³⁵ while that of rice bran flour reaches only 16.5%³⁶.

Taste

The results of the taste formula scoring test of the yellow soybean *tempe* flour and white rice bran flour can be seen in Table 4.

The formula of yellow soybean *tempe* flour and white rice bran flour with a formula of one to one (1:1) has a sweet taste with a score of 3.72 on a scale of 1 – 5. The higher the addition of white rice bran flour is, the taste of the formula tends not to be sweet.

Rice bran has a dietary fiber content of 25.3%, while its simple sugar content is only 5%³⁶. This condition is suspected to cause the formula to have a less sweet taste because of the high fiber content in rice bran flour.

CONCLUSION

The variation of raw materials chosen by the panelists is a combination of yellow *tempe* flour and yellow rice bran. The composition of yellow *tempe* flour and white rice bran formula chosen by the panelists is one to one (1:1).

SUGGESTION

The results of this study can be used as foundation for further research in menopausal women with dyslipidemia to improve lipid profile and oxidative stress.

THANK YOU

Acknowledgments: Unimus Chancellor, Higher Education Research and Technology, Kopertis Region VI Central Java, UNIMUS LPPM and colleagues for their support in this research. We hope that the results of this study can be useful for solving the problem of dyslipidemia..This study has obtained an ethics permit from the Ethics Commission, Faculty of Public Health, Muhammadiyah University of Semarang No. 073 / KEPK-FKM / UNIMUS / 2018

REFERENCES

1. Erwinanto, Santoso,A, Putranto.J.N.E, Tedjasukmana,P, Suryawan,R, Rif,S. Pedoman Tatalaksana Dislipidemia (*Guidelines for dyslipidemia management*). 1st ed. Centra Communications. 2013;1:5-36.
2. Barrett KE, Boitano S, Barman SM. endocrine &reproductive physiology section IV in Ganong's Review of Medical Physiology 23rd Edition. New York, USA: McGraw-Hill Professional Publishing; 2010:301-14.
3. L.Kathleen Mahan, Janice L.Raymond. Krause's. Food & Nutrition Care Process. 14 Th. Elsevier; 2017. 647-677.
4. Borden L. Your Menopause Handbook - A Self-Help Guide for Healthy Living A Woman's Self-Help Guide to Menopause Management. Lulu Press, Inc. 2013: 73.
5. Yi KW, Shin J-H, Seo HS, Lee JK, Oh M-J, Kim T, et al. Role of Estrogen Receptor- α and $-\beta$ in Regulating Leptin Expression in 3T3-L1 Adipocytes. *Obesity*. 2008 ; 16 (11) : 2393–9.
6. Fuentes,R, Uusitalo,T, Puska,P, Tuomilehto,J, Nissinen,A. Blood cholesterol level and prevalence of hypercholesterolaemia in developing countries: a review of population-based studies carried out from 1979 to 2002. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2003 ;10(6):411–9.
7. Anwar TB. Dislipidemia sebagai faktor resiko penyakit jantung koroner (*Dyslipidemia as a risk factor for coronary heart disease*). *Jurnal Fak Kedokteran Univ Sumatra*. 2004;1–10.
8. Badan Litbang Kesehatan. Survey Kesehatan Nasional, Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT). Jakarta: Depkes RI; 2004:54-60.
9. Badan Penelitian dan Pengembangan Bidan Kesehatan Kemenkes RI (*Research and Development Agency of the Indonesian Ministry of Health*). Laporan Riskesdas tahun 2007 Bidang Biomedis (*Riskesdas report 2007 in Biomedical Field*). Jakarta: Kemenkes RI; 2012:29-58.

10. Varady KA, Jones PJH. Combination Diet and Exercise Interventions for the Treatment of Dyslipidemia: an Effective Preliminary Strategy to Lower Cholesterol Levels? *J Nutr.* 2005;135(8):1829–35.
11. Farida Y, Putri CI. Efek Penggunaan Simvastatin Terhadap Kenaikan Gula Darah Puasa Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 (*Effects of the Use of Simvastatin towards Fasting Blood Sugar Increase in Diabetes Mellitus Patients Type 2*). *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* 2016; 01: 58-65.
12. Tatley M, Savage R. Psychiatric adverse reactions with statins, fibrates and ezetimibe: implications for the use of lipid-lowering agents. *Drug Saf.* 2007;30(3):195–201.
13. Sayuti IK. Antioksidan, Alami dan Sintetik (*Antioxidants, Natural and Synthetic*). 1st ed. Padang: Andalas University Press; 2015.p 98.
14. Chevion S, Moran DS, Heled Y, Shani Y, Regev G, Abbou B, et al. Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Apr 29;100(9):5119–23.
15. Armstrong D, Stratton RD. *Oxidative Stress and Antioxidant Protection: The Science of Free Radical Biology and Disease.* John Wiley & Sons; 2016.p610.
16. Zaidi SMKR, Banu N. Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clin Chim Acta.* 2004;340(1–2):229–33.
17. McQuillan BM, Hung J, Beilby JP, Nidorf M, Thompson PL. Antioxidant vitamins and the risk of carotid atherosclerosis: the perth carotid ultrasound disease assessment study (CUDAS). *J Am Coll Cardiol.* 2001;38(7):1788–1794.
18. Gaziano JM. Vitamin E and Cardiovascular Disease: Observational Studies. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1031(1):280–91.
19. Wilson RB, Middleton CC, Sun GY. Vitamin E, Antioxidants and Lipid Peroxidation in Experimental Atherosclerosis of Rabbits. *J Nutr.* 2008;108(11):1858–67.
20. Chen M.H., Choi S.H., Kozukue N., Kim H.J., dan Friedman M. 2012. Growth-Inhibitory Effects of Pigmented Rice Bran Extracts and Three Red Bran Fractions Against Human Cancer Cells: Relationships with Composition and Antioxidative Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* Vol. 60 : 9151–9161.
21. (BPS) Badan Pusat Statistik (*Indonesia Central Bureau of Statistics*). 2016. Produksi Padi Tahun 2015 Naik 6,37 Persen (*Rice Production in 2015 Increases 6.37 Percent*). <https://bps.go.id/brs/view/id/1271> (diakses pada 10 Juli 2018).
22. Arab F., Alemzadehb I., dan Maghsoudi V. 2011. Determination of Antioxidant Component and Activity of Rice Bran Extract. *Scientia Iranica, Transactions C: Chemistry and Chemical Engineering.* Vol. 18(6) : 1402–1406.
23. Clair RS, Anthony M. Soy, isoflavones and atherosclerosis. *Handb Exp Pharmacol.* 2005;(170):301–23.
24. Hall WL, Vafeiadou K, Hallund J, Bügel S, Koebnick C, Reimann M, et al. Soy-isoflavone-enriched foods and inflammatory biomarkers of cardiovascular disease risk in postmenopausal women: interactions with genotype and equol production. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(6):1260–8.
25. Geller SE, Studee L. Botanical and Dietary Supplements for Menopausal Symptoms: What Works, What Doesn't. *J Womens Health* 2002. 2005;14(7):634–49.
26. Nout MJR, Kiers JI., 2005. Tempe Fermentation, innovation, and functionality: update into the third millennium. *App Environ Microbiol* 98:789-- 805.
27. Nunes GL, Sgoutas DS, Redden RA, Sigman SR, Gravanis MB, King SB, et al. Combination of Vitamins C and E Alters the Response to Coronary Balloon Injury in the Pig. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 ;15(1):156–65.

28. James M.L, Mark D.H. Effects of Dietary Fiber and Its Components on Metabolic Health. *Nutrients*. 2010;2 (12):1 266-1289.
29. Damayanthi, Evi., Tiong Tjing, Liem., Arbianto, Lily. *Rice Bran*. Jakarta : Penebar Swadaya. 2007.
30. Ito C, Oki T, Yoshida T, Nanba F, Yamada K, and Toda T. 2013. Characterisation of proanthocyanidins from black soybean: Isolation and characterization of proanthocyanidin oligomers from black soybean seed coats. *Food Chemistry*. Vol 141: 2507-2512.
31. Suhendri. *Studi Kinetika Perubahan Mutu Tempe Selama Proses Pemanasan (A Study of the Kinetics of Tempe Quality Changing During Heating Process)*. IPB. Bogor. 2009.
32. Sarbini D, Rahmawati S, Kurnia P. Uji Fisik, Organoleptik, dan Kandungan Zat Gizi Biskuit Tempe-Bekatul dengan Fortifikasi Fe dan Zink untuk Anak Kurang Gizi (Physical, Organoleptic, and Nutritional Tests of *Tempe*-Rice Bran Biscuits with Fe and Zink Fortification for Malnourished Children). *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*. 2009; 10.
33. Santoso. *Susu Kedelai dan Soygurt (Soybean and Soygurt milk)*. Faperta UWG. 2009
34. Astawan, Made. *Bekatul Gizinya Kaya Betul (Rice bran is so rich in nutrients)*. 2009. <http://www.kompas.com/>. Cited at : [15 Februari 2010].
35. Ramezanzadeh, F. M., Rao, R. M., Windhauser, M., Prinyawiwatkul, W., Tulley, R., dan Marshall, W. E. 1999. Prevention of Hydrolytic Rancidity in Rice Bran During Storage. *J. Agric. Food Chem.* 47:3050-3052.
36. Damardjati DS, Santosa BA, Munarso J. Laporan Akhir. *Studi Kelayakan dan Rekomendasi Teknologi Pabrik Pengolahan Bekatul (A final report. Feasibility Study and Recommendation Technology of Rice Bran Processing Factory)*. Balai penelitian tanaman pangan sukamandi. Subang. 1990.
37. CHoung MG, Kang ST, Baek IY, Kang KH. Isolation and Determination of Anthocyanins in Seed Coats Black Soybean (*Glycine Max (L.) Merr.*). *Journal Of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 49 No 12. 2002:5848-5851.
38. Wihandini DA, Arsanti L, Wijanarka A. Sifat Fisik, Kadar Protein dan Uji Organoleptik Tempe Kedelai Hitam dan Tempe Kedelai Kuning dengan Berbagai Metode Pemasakan (*Physical Properties, Protein Content and Organoleptic Test of Black Soybean Tempe and Yellow Soybean Tempe with Various Cooking Methods*). *Nutrisia*. Vol 14 No 1.2012:34-43.

COMPOSITION OF NUTRITION SUBSTANCES FORMULA COMBINATION OF TEMPE FLOUR AND CONNECTED AS ANTI- HYPERLIPIDEMY AND OXIDATIVE ANTI- STRESS

Sufiati Bintanah¹, Siti Fatimah Muis², Purwanto AP³, Hapsari Sulistya Kusuma⁴

¹Department of Nutritional Sciences University of Muhammadiyah Semarang, Indonesia

²Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang, Indonesia

³Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang, Indonesia

⁴Department of Nutritional Sciences University of Muhammadiyah Semarang, Indonesia

Email: sofi.bintanah@yahoo.com, sitifatimahmuis@gmail.com, purwantoap@fk.undip.ac.id, hapsa31@yahoo.co.id

Abstract. The prevalence of dyslipidemia is increasing which has an impact on oxidative stress. Efforts to improve lipid profiles by consuming food ingredients contain antioxidant compounds that have the potential to improve blood lipid profiles (10). The aim of the study

Aim of the study: was to obtain the most optimum formula containing nutrients and antioxidants from a combination of soybean tempeh flour and rice bran. was to obtain the formula that contained the most optimum nutrients and antioxidants from a combination of yellow soybean tempeh flour with white bran.

Research method: Type of experimental research to determine the optimum content of nutrients and antioxidants from the formula. Making formula, (1) yellow soybean tempeh flour + white bran flour, (2) black soybean tempeh flour + white bran flour (3) yellow soybean tempeh flour + red bran flour, (4) black soybean tempeh flour + red bran flour, with composition of 1: 1 and weight of 112 grams each, non-calorie sweetener 3 grams and food flavorings 3 grams, dissolved in cold water as much as 250 cc, Analysis of nutrients using the AOAC method, 2005

Results: The combination of with a composition of 1: 1 has higher levels of protein, fat and vitamin E compared to the combination of YST+WRB , YST+RRB , BST+RRB or BST+RRB . There are differences in protein, fat and vitamin E content between treatment groups $p \leq 0.05$

Keywords: Nutritional content, combination formula of tempeh and bran flour, anti-hyperlipidemic and anti-oxidative stress

INTRODUCTION

Dyslipidemia is one of the risk factors for cardiovascular disease which is characterized by an increase in total cholesterol, low density-lipoprotein (LDL) cholesterol, and a decrease in high density-lipoprotein (HDL) cholesterol, ¹ due to a complex interaction between genetic and lifestyle factors. ^{2,3,4} This condition can cause cholesterol buildup on the walls of the arteries which will cause the atherosclerosis process.

Eating foods that are high in calories (protein, fat and carbohydrates), low in fiber and physical activity that are less correlated with the appearance of changes in body fat distribution, including an increase in total fat mass and central obesity ⁵ that trigger oxidative stress due to antioxidant and antioxidant imbalances in the body. Oxidative stress is an increase in the level of free radicals in the body. This is related to the development of chronic and degenerative diseases, including cardiovascular diseases which are part of the aging process. ⁶

The prevalence of dyslipidemia continues to increase, especially in developing countries ⁷ based on data from the Basic Health Research (RISKESDAS) in 2013 increased to 50.7%. ^{8,9} The main prevention of dyslipidemia through efforts to control serum cholesterol levels to always be within normal limits, weight control, low cholesterol diet, regular exercise, and pharmacological therapy using hypolipidemia drugs, as well as consuming food ingredients containing antioxidant compounds that have the potential to reduce levels Serum cholesterol. ¹⁰ An alternative that can be done is to increase the intake of antioxidants and fiber in foods that are popular in the community.

Antioxidants are compounds that can prevent the occurrence of free radicals by preventing oxidation reactions. The results of research by Zubaidi et al. (2004); showed that the best exogenous antioxidant was vitamin E (Tocopherol) because it had the best effect when compared with vitamin A and vitamin C in reducing fat peroxidation. Addition of Tocopherol (vitamin E) to the diet can reduce the risk of coronary heart disease (CHD) by 34% . ^{11,12}

Other types of antioxidants besides vitamin E which have hypolipidemic properties are isoflavones found in soybeans.¹³ The ability of isoflavones (genistein and daidzein) as antioxidants is to neutralize free radicals that cause cell damage such as estrogen work. ^{13,14} One processed soybean is tempeh. The biological activity of tempe increases compared to soybeans which increase isoflavones by 222.5% and reduce phytic acid by 65% due to the

reaction of phytate enzymes produced by *Rhizopus oligosporus* .. Tempe is thought to be related to the activity of the enzyme superoxide dismutase (SOD) formed during fermentation after 24 to 60 hours. previously not found in soybean seeds so it can increase the level of SOD in the body.¹⁴ One alternative to prolong the shelf life of tempeh is by making tempeh flour.¹⁵

Tempe belongs to the processed group of legumes, which when combined with grains can be a good formula for supplementing essential amino acids because these two types of food ingredients have limiting amino acids in addition to their antioxidant content. Limiting amino acids in tempe are amino acids methionine and cystine, whereas in grains are lysine amino acids.¹⁶ One of the foodstuffs derived from grains is rice that produces rice. The by-product of rice mills is rice bran.¹⁷ So far bran is only considered as waste, whereas rice bran has a fairly complete nutrient content.¹⁸ Based on BPS data in 2015, rice production in Indonesia was 75.36 million tons to produce 6 bran - 7.54 million tons of rice mills¹⁹. This type of bran depends on rice varieties, there are white bran, red bran and black bran. Rice bran besides containing vitamin E also contains complex B vitamins (B1, B2, B3, B5, and B6), essential fatty acids, fiber, amino acids, g-oryzanol, polyphenols, and phytosterol.²⁰ Components of bran that can reduce total cholesterol, triglycerides and LDL are soluble tocopherols, oryzanols, and food fibers. The mechanism of action of tocopherol in reducing cholesterol levels by suppressing lipid peroxidation through the capture of free radicals, including in peroxidation or by reaction with peroxy lipid radicals. α -tocopherol is a powerful free radical chain breaking antioxidant and the most potent fat soluble vitamin E isomer.²¹

Tempe and bran flour in addition to complementing amino acid types also contained compounds in tempeh flour in the form of isoflavones and compounds found in bran in the form of tocopherol, as an antioxidant chain breaker when combined will produce better strength to inhibit LDL oxidation. Nunes, (2005) research results in animals showed that the addition of isoflavones had no effect but combined with synthetic vitamin E was able to inhibit LDL oxidation by 45.6% compared to the atherogenic group ($p < 0.05$)²² Tempe and bran flour also contained dietary fiber can inhibit cholesterol absorption in the small intestine so that it can reduce the concentration of cholesterol in the plasma as well increase cholesterol synthesis by the liver, bile synthesis, and cholesterol excretion through feces.²³ The aim of the study was to obtain the formula that contained the most optimum nutrients and antioxidants from a combination of yellow soybean tempeh flour with white bran.

RESEARCH METHODS

Ingredients: Formula of yellow soybean tempeh flour and white bran with a composition of 1:1, 1:2 and 2:1, non-calorie sugar 3 grams and food flavorings 3 grams. Materials for chemical analysis: Research materials used in the first year are: Rice Bran, soybean tempeh and ingredients for making formulas and reagents. Materials for chemical analysis in sequence are as follows: concentrated H₂SO₄, HgO, ZnSO₄, 40% NaOH, NaOH 0.02 N, HCl 0.02 N, 10% K₂SO₄, α standard tocopherol, ascorbic acid, hexane, absolute ethanol, 60% KOH, Acetone, NaCl, Na₂SO₄ an hidrause, Folin Ciolateu, Aquades, PP and MR indicator, dye solution, 2% oxalic acid solution, and rice bran flour and soybean tempeh flour

METHOD

This study was conducted through laboratory experimental research is to find out the most optimum nutrient and antioxidant content from yellow and black soybean tempeh flour formula with white and red bran.

The making of raw material variations of tempeh flour: Yellow soybean tempeh and black soybean, blended by steaming for 15 minutes, cut into 1 cm thickness, dried, topped and sieved using a 100 mesh sieve.

Rice bran flour production: The byproduct of white rice and red rice obtained from rice mill, the heating process is done using a dreyer cabinet with a temperature of 100°C for 20-30 minutes, then sieved with a 100 mesh sieve size.

The making of formula composition variation: Mix each of them (1) Formula combination of yellow soybean tempeh flour + white bran flour, (2) Formula combination of yellow soybean tempeh flour + white bran flour (3) Formula combination of yellow soybean tempeh flour + white bran flour, (4) Formula combination of yellow soybean tempeh flour + white bran flour, each with a composition of 1: 1 and weighing 112 grams each, add a non-calorie sweetener 3 grams and taste 3 grams of food. After each mixture is dissolved with 250 cc of cold water.

Chemical analysis : Soy flour obtained sifted with 60 mesh size. The analysis includes proximate analysis (AOAC, 2005), amino acids (AOAC, 2005), fatty acids (AOAC, 2005), anthocyanins (AOAC, 2005)²⁴ and isoflavones (daidzein and genistein) (Penalvo et al., 2004)

.1. Analysis of water content, Oven method

Porcelain crust is put into the oven 105-110°C for 15 minutes and cooled in a desiccator for 20 minutes then weighed until a constant weight is obtained. Quantitatively

weighed 2.5 grams of sample is put into the porcelain exchange rate, then put in an oven with a temperature of 105-100oC for 5 hours until a constant weight is obtained.

2. Measurement of fat content

Soxhlet flask is dried in an oven, cooled in a desiccator, and weighed. The mashed sample is weighed 5 g (mashed) directly in filter paper, then covered with fat-free wool cotton. The filter paper containing the sample is placed in a Soxhlet extraction tool, then the condenser is installed on top of it, and the fat flask is underneath. Solvent of diethyl ether is poured into a fat flask. Reflux for a minimum of 5 hours, until the solvent that drops back into the clear fat pumpkin. The solvent in the fat flask is distilled, the solvent is collected. Furthermore, the fat-filled fat flask extracted was heated in an oven at 105oC. After drying to a fixed weight and cooled in a desiccator, the flask is weighed and the fat.

3. Determination of Vitamin E levels (Alpha-Tocopherol)

The sample was weighed 10 g, then crushed with mortar, added 50 ml of 40% ethanol and 2.5 g of ascorbic acid, refluxed until condensed, 20 ml of 60% KOH was added, followed by 5 minutes reflux. Cooled with running water and filtered with a vacuum pump. The residue is extracted with acetone (2 times) and strain again. The resulting filtrate, extracted with 30 ml of hexane (2 times), uses a separator flask. The organic phase was washed with 25 ml of saturated NaCl (2 times). Filtered with anhydrous Na₂SO₄. Taken 10 ml then apply with rotary evaporator at 40°C for 1 hour.

Work solution: dissolved 10 mg of standard tocopherol into 100 ml of absolute ethanol.

Standard solution: standard solution series is made by diluting the work solution using absolute ethanol with the following composition:

Concentration (mg/l)	5	10	15	20
Work Solution (ml)	0.5	1	1.5	2
Absolute Etanol (ml)	9.5	9	8.5	8

Procedure: Taken 200 µl of both sample and standard, 200 µl of 20% ascorbic acid was added and vortexed for 30 seconds. Added 1 ml 95% ethanol, returned vortex for 30 seconds, added hexane, 30 second return vortex. Left for a few seconds, then take the upper phase. Centrifuse at 2000 rpm for 10 minutes. Measure with spectrophotometer at excitation wavelength 295 nm and 340 nm emission wavelength.

4. Analysis of Isoflavone Profiles

Samples of 100 grams were crushed, then dried at 40°C and destroyed again. Sample powder 1-2 grams was extracted with 5 ml 1M HCl in 80% ethanol and incubated for 1 hour at 80°C. Then shaker for 2 minutes and centrifuged 2140 x g for 2 minutes. The filter was filtered, while the dregs added with 2.5 ml 80% ethanol were then washed and centrifuged again. Filtered and the supernatant obtained is combined with the first supernatant (Penalvo et al., 2004). HPLC conditions: Shimadzu brand HPLC, isocratic, sample volume 20 µl, column: C 18, eluent: methanol and acetonitrile (97: 3), detector: SPD 10A, flow rate: 1ml / min, temperature: 25-27°C, wavelength 260 nm and LC10AD pump.

Data processing and analysis. The data obtained is averaged and displayed in table form, then compared between treatments.

RESEARCH RESULT

Table 1. Average Content of Nutrients Formula Combination of Tempe Flour with Bran Per 100 gr

No	Composition	Unit	YST+WRB	YST+RRB	BST+RRB	BST+RRB
1	Protein levels	g	43,30 ± 0,28 ^d	30,03 ± 0,34 ^b	29,47 ± 0,56 ^a	34,25 ± 0,49 ^c
2	Fat level	g	21,70 ± 0,44 ^d	20,78 ± 0,43 ^c	17,05 ± 0,31 ^b	15,37 ± 0,62 ^a
3	KH	g	36,72 ± 0,72 ^a	36,72 ± 0,88 ^a	17,05 ± 0,31 ^b	38,84 ± 0,28 ^b
4	Vitamin E levels	mg	600,51 ± 7,07 ^d	362,79 ± 1,37 ^a	550,35 ± 2,76 ^c	415,43 ± 2,29 ^b
5	Isoflavone levels	mg	77,28 ± 0,76 ^b	70,82 ± 0,55 ^a	90,80 ± 1,20 ^d	86,88 ± 0,66 ^c

Information:

Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.05$)

1. YRB : Yellow Soybean tempeh
2. WRB : White Rice Bran
3. RRB : Red Rice Bran
4. BST : Black Soybean Tempeh

Discussion

The formula for the combination of tempeh flour and bran flour which was evaluated included the composition of nutrients and antioxidant compounds from the four treatment formulation combinations, namely (1) a combination formula of yellow soybean tempeh flour + white bran flour, (2) black soybean tempeh flour + white bran flour, (3) Yellow soybean tempeh flour + red bran flour, (4) black soybean tempeh flour + red bran flour. Parameters used to assess the composition of nutrients and antioxidant compounds include proximate, fatty acids, vitamin E, isoflavones and fiber content.

Based on Table 1 it can be seen that the four formulations of yellow tempe flour, black soybean tempeh with white bran and red bran have different protein, fat, carbohydrate and fiber content. The formula with a combination of yellow soybean tempeh flour with white

1

bran flour has a higher nutrient content of protein, fat, and vitamin E compared to the other three formulations. the highest protein compared to other combination formulas. Both of these food ingredients are foods that contain protein. The combination of these two food ingredients contributed protein to the combination formula of yellow soybean and white bran tempeh flour by $43.30\% \pm 0.28$ and provided complementary effects of essential amino acids. Kedelede during the fermentation process into tempe, *Rhizopus* and bacteria produces protease enzymes so that the protein is broken down into free amino acids. The amount of amino acids released increased and reached its peak after fermentation for 24 hours to 72 hours at 7.3% - 30%. The increase in release of these amino acids will improve the nutritional value of tempe, a corrected amino acidscore digestibility protein (PDCAAS) which reaches 0.8 - 0.9 or 80-90% of animal protein.²⁶.

The types of amino acids found in soybean tempeh are arginine, glycine and alanine while the types of amino acids found in bran are leucine, valine and vinyl alanine so that they complement each other.²⁷. The results of Utari's research (2011) prove that the highest amino acid in tempeh is arginine²⁸.

Consumption of soy protein ≥ 25 g / day has a hypo-cholesterol effect due to the synergistic role of several components in soybeans.²⁹ According to Erdman, 2000, soy protein has been shown to stimulate an increase in LDL receptor activity so that LDL levels can be reduced. The results of research by Baum et al. (1998) showed that the increase in LDL receptor activity was higher in the group given the intervention of soy protein than casein protein³¹. Arginine found in soybeans is a metabolic precursor that has the potential to increase the production of NO³². Arginine is a substrate that is ready to be synthesized to produce Nitric Oxide (NO) with the help of enzymes NO Synthases (NOSs)³³. The mechanism of arginine to lipid profile is through the mechanism of decreasing lipogenesis by NO. NO can inhibit glucose synthesis, glycogen, and fat in the liver and adipose³⁴. While the dominant type of amino acid found in bran is leucine. Leucine is an essential amino acid that plays a role in the stability of blood sugar, through the metabolism of the insulin hormone so as to reduce insulin and glucagon secretion, and can inhibit lipogenesis because it plays a role in lipid and glucose homeostasis³⁰.

The combination formula of yellow soybean tempeh flour with white bran flour also contains the highest fat among the three formulas which is 21.70 ± 0.44 . The types of fat content in the formula include unsaturated fatty acids. Agrof's research results in 1997 stated that the fatty acid content of tempe was oleic acid, linoleic and linolenic acids³⁵, while the fat

1

content in bran according to Orthoefer, 2005, about 20% of rice bran oil (RBO) with unsaturated fatty acids contained oleic acid and acid linoleic (70-90%).³⁶

Oleic acid is the second most free fatty acid in tempeh and bran after linoleic acid. Oleic acid is beneficial for the body as a substitute for saturated fat (SAFA) which can reduce blood cholesterol by increasing cholesterol (K) -HDL so that it can reduce the risk of cardiophascular disease.³⁷ Linoleic acid can increase K-HDL and reduce K-LDL, this is different with the role of other fatty acids that tend to be able to increase blood fat levels, while linolenic acid is more effective in reducing blood triglycerides than linoleic acid. Another role of linoleic and linolenic acids is to strengthen the transmission and prevent damage to the skin tissue and to help cholesterol transport and metabolism so as to reduce cholesterol levels in the blood, in addition to the yellow tempe combination formula with white bran containing the highest vitamin E among the three other formulations that is 600.51 ± 7.07 mg.

Vitamin E is a chain-breaking antioxidant and fat soluble which is very important because it can improve the lipid profile by removing free radicals and lipid peroxidation. The results of research by Zubaidi et al, (2004); Bourassa et al, (2006) showed that the best exogenous antioxidant is vitamin E (Tocopherol) because it has the best effect when compared with vitamin A and vitamin C in reducing the occurrence of fat peroxidation. Gaziano, (2004) reported that the addition of Tocopherol (vitamin E) to the diet can reduce the risk of coronary heart disease (CHD) by 34%.^{12, 38}.

REFERENCES

1. Adam JMF, Dislipidemia. Dalam: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, K. Marcellus S, Setiati S. Ilmu Penyakit Dalam. Edisi V Jilid III. Jakarta: InternaPublishing; 2009.hal.1984;92.
2. Erwinanto, Santoso,A, Putranto.J.N.E, Tedjasukmana,P, Suryawan,R, Rif,S. Pedoman Tatalaksana Dislipidemia. 1st ed. Centra Communications. 2013;1:5-36.
3. Barrett KE, Boitano S, Barman SM. endocrine &reproductive physiology section IV in Ganong's Review of Medical Physiology 23rd Edition. New York, USA: McGraw-Hill Professional Publishing; 2010;p301-14.
4. L.Kathleen Mahan, Janice L.Raymond. Krause's. Food & Nutrition Care Process. 14 Th. Elsevier; 2017.p 647-677.
5. Yi KW, Shin J-H, Seo HS, Lee JK, Oh M-J, Kim T, et al. Role of Estrogen Receptor- α and - β in Regulating Leptin Expression in 3T3-L1 Adipocytes. Obesity. 2008 ; 16 (11) : 2393-9
6. Ari Yuniastuti. Gizi dan Kesehatan. Yogyakarta: Graha Ilmu; 2008. p. 95-102.

7. Fuentes,R, Uusitalo,T, Puska,P, Tuomilehto,J, Nissinen,A. Blood cholesterol level and prevalence of hypercholesterolaemia in developing countries: a review of population-based studies carried out from 1979 to 2002. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2003 ;10(6):411–9.
8. Badan Litbang Kesehatan. Survey Kesehatan Nasional, Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT). Jakarta: Depkes RI; 2004:54-60.
9. Badan Penelitian dan Pengembangan Bidan Kesehatan Kemenkes RI. Laporan Riskesdas tahun 2007 Bidang Biomedis. Jakarta: Kemenkes RI; 2012:29-58.
10. Winarno. Kimia pangan dan gizi. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama; 2002. p. 50-115.
11. Zaidi SMKR, Banu N. Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clin Chim Acta.* 2004;340(1–2):229–33
12. Gaziano JM. Vitamin E and Cardiovascular Disease: Observational Studies. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1031(1):280–91.
13. Wilson RB, Middleton CC, Sun GY. Vitamin E, Antioxidants and Lipid Peroxidation in Experimental Atherosclerosis of Rabbits. *J Nutr.* 2008;108(11):1858–67.
14. Hall WL, Vafeiadou K, Hallund J, Bügel S, Koebnick C, Reimann M, et al. Soy-isoflavone-enriched foods and inflammatory biomarkers of cardiovascular disease risk in postmenopausal women: interactions with genotype and equol production. *Am J Clin Nutr.* 2005;82(6):1260–8.
15. Geller SE, Studee L. Botanical and Dietary Supplements for Menopausal Symptoms: What Works, What Doesn't. *J Womens Health* 2002. 2005;14(7):634–49.
16. Nout MJR, Kiers JL., 2005. Tempe Fermentation, innovation, and functionality: update into the third millennium. *App Environ Microbiol* 98:789--805.
17. Tyagita Fitriana Dewi. Aktivitas Antioksidan, Kadar Total Fenol, Kadar Serat Pangan dan Kualitas Sensori Roti Tawar dengan Penambahan Bekatul dari Beras Merah dan Beras Hitam [SKRIPSI]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret; 2011.
18. (BPS) Badan Pusat Statistik. 2016. Produksi Padi Tahun 2015 Naik 6,37 Persen. <https://bps.go.id/brs/view/id/1271> (diakses pada 10 Juli 2018).
19. 22.Arab F., Alemzadehb I., dan Maghsoudi V. 2011. Determination of Antioxidant Component and Activity of Rice Bran Extract. *Scientia Iranica, Transactions C: Chemistry and Chemical Engineering.* Vol. 18(6) : 1402–1406
20. .Orthofer, F. T. Bailey's Industrial Oil and Fat Products .Chapter 10: Rice Bran Oil.. John Wiley & Sons, Inc; 2005.p465.
21. .Ricciarelli R, Tasinato A, Clément S, Ozer NK, Boscoboinik D, Azzi A. alpha-Tocopherol specifically inactivates cellular protein kinase C alpha by changing its phosphorylation state. *Biochem J.* 1998 ;334(Pt 1):243–9.
22. Nunes GL, Sgoutas DS, Redden RA, Sigman SR, Gravanis MB, King SB, et al. Combination of Vitamins C and E Alters the Response to Coronary Balloon Injury in the Pig. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 ;15(1):156–65
23. James M.L, Mark D.H. Effects of Dietary Fiber and Its Components on Metabolic Health. *Nutrients.* 2010;2 (12):1 266-1289.

24. AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. AOAC, Inc. Arlington, Virginia
25. Penalvo, J.L., T. Nurmi and H. Adlercreutz. 2004. A simplified HPLC method for total isoflavones in soy products. *Food Chem.*, 87: 297-305
26. Hermana, Mahmud M, Karyadi D, Compotiton value of food. Dalam "The complete handbook of tempe". The American Soybean Association. 1999).
27. Erdman JJ, Badger T, Lampe J, Setchell KK, Messine M. Not soy products are created equal: caution needed in interpretation of reseach result.. *The Journal of Nutrition.* 2004; 134: S1229-33
28. Utari DM. 2011. Efek intervensi tempe terhadap profil lipid, superoksida dismutase, LDL teroksidasi dan malondialdehyde pada wanita menopause [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor
29. Potter SM. 1995. Overview of proposed mechanism for hypocholesterolemic effect of soy. *J Nutr* 125(3S):606-611
30. Erdman JW Jr. 2000. Soy protein and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the nutrition committee of the AHA. *Circulation* 102(20):2555-2559
31. Baum JA, Teng H, Erdman JW Jr, Weigel RM, Klein BP, Persky VW, Freels S, Surya P, Bakhit RM, Ramos E, Shay NF, Potter SM. 1998. Long-term intake of soy protein improves blood lipid profiles and increases mononuclear cell low-density-lipoprotein receptor messenger RNA in hypercholesterolemic, postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 68(3):545-551
32. He J, Gu D, Wu X, Chen j, Duan X, Chen J, Whelton PK. 2005. Effcet of soybean protein on blood pressure: a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 143(1):1-9
33. Brocq ML, Leslie SJ, Milliken P, Megson IL. 2008. Endothelial dysfunction: from molecular mechanisms to measurement, clinical implications, and therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal* 10(9):1631-1673
34. Jobgen WS, Fried SK, Fu WJ, Meininger CJ, Wu G. 2006. Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. *J Nutr Biochem* 17(9): 571-588
35. Agranoff J and P Markham. Fatty acid components of tempe (and tapeh). In: Reinventing the hidden miracle of tempe. *Proceeding International Tempe Symposium July 13-15 1997*, p 205-210. Jakarta: Indonesian Tempe Foundation, 1997.
36. Orthoefer F T. 2005. Rice Bran Oil. Di dalam : Shahidi, F, editor. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Edible oil and Fat Products: Edible oils*. Ed ke-6. Canada : A John Wiley & Sons, Inc. Vol 2. hlm 465-487
37. Mann, Jim and A. Stewart Truswell (ed). *Essentials of human nutrition (Third edition)*. London: Oxford University Press, 2007

1

FORMULA KOMBINASI TEPUNG TEMPE DAN BEKATUL SEBAGAI PANGAN FUNGSIONAL TINGGI ANTIOKSIDAN UNTUK PENDERITA HIPERLIPIDEMIA.

Sufiati Bintanah¹, Siti Fatimah -Muis², Purwanto AP³, Hapsari Sulistya Kusuma⁴

¹Department of Nutritional Sciences University of Muhammadiyah Semarang, Indonesia

²Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang, Indonesia

³Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang, Indonesia

⁴Department of Nutritional Sciences University of Muhammadiyah Semarang, Indonesia

Email: sufiatibintanah@gmail.com, sitifatimahmuis@gmail.com, purwantoap@fk.undip.ac.id,

hapsa31@yahoo.co.id

ABSTRAK

Latar Belakang : Prevalensi dislipidemia di Indonesia makin meningkat, menurut data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013 menunjukkan bahwa 35,9% penduduk berusia di atas 15 tahun memiliki kadar kolesterol yang lebih tinggi.⁽⁴⁾ Salah satu upaya untuk memperbaiki profil lemak darah melalui upaya non-farmakologis dengan konsumsi bahan makanan yang mengandung antioksidan.**Tujuan :** Memperoleh kandungan antioksidan dari formula kombinasi pada tepung tempe dan bekatul yang optimum..**Metode:** Desain Penelitian eksperimen, waktu penelitian dilakukan pada bulan juli 2018, bahan: tepung tempe kuning, tepung tempe hitam, bekatul putih dan bekatul merah, tempat penelitian pembuatan tepung tempe, tepung bekatul dan formula dilakukan di Laboratorium pangan dan gizi Universitas Muhammadiyah Semarang, Analisa kandungan antioksidan dilakukan di Laboratorium PAU Universitas Gajahmada Yogyakarta. Analisa Vitamin E (AOAC, 2005) dan isoflavon (Penalvo *et al.*, 2004). Hasil: Kadar antioksidan yang paling tinggi terdapat pada formula kombinasi tepung tempe kuning +tepung bekatul putih dengan rerata $600,51 \pm 7,07$, Kadar isoflavon tertinggi terdapat pada formula kombinasi tempe kuning +tepung bekatul merah dengan rerata $90,80 \pm 1,20$. **Simpulan:** Ada perbedaan antar kelompok perlakuan kadar vitamin E dan kadar isoflavon $p > 0.05$.

KATA KUNCI: Formula kombinasi tepung tempe dan bekatul, pangan fungsional,tinggi antioksidan,hiperlipidemia

Korespondensi:

Nama Penulis : Sufiati Bintanah, Nama Institusi : Prodi Gizi Universitas Muhammadiyah Semarang Alamat : Jl. Kedung Mundu Raya no. 18 Semarang Indonesia telp 081228582866 , *e-mail* :sufiatibintanah@gmail.com

FORMULA COMBINATION OF TEMPE FLOUR AND RICE BRAN AS A HIGH FUNCTIONAL FOOD OF ANTIOXIDANT FOR HYPERLIPIDEMIA PATIENTS

Sufiati Bintanah¹, Siti Fatimah Muis², Purwanto AP³, Hapsari Sulistya Kusuma⁴

¹Department of Nutritional Sciences University of Muhammadiyah Semarang, Indonesia

²Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang, Indonesia

³Faculty of Medicine Diponegoro University Semarang, Indonesia

⁴Department of Nutritional Sciences University of Muhammadiyah Semarang, Indonesia

Email: sofi.bintanah@yahoo.com, sitifatimahmuis@gmail.com, purwantoap@fk.undip.ac.id, hapsa31@yahoo.co.id

ABSTRACT

Background: The prevalence of dyslipidemia in Indonesia is increasing, according to the 2013 Basic Health Research (RISKESDAS) data, which shows that 35.9% of the population aged over 15 years have higher cholesterol levels. (4) One attempt to improve blood fat profile through non-pharmacological efforts with the consumption of foodstuffs containing antioxidants. **Objective:** Obtain antioxidant content from the optimum formula combination on tempeh and bran flour. **Method:** **Design** Experimental research, the time of the study was conducted in July 2018, ingredients: yellow tempe flour, black tempeh flour, white bran and red bran, a place for making tempeh flour, rice bran and formula was conducted at the Food and Nutrition Laboratory of Muhammadiyah University Semarang, Analysis of antioxidant content was carried out at PAU Laboratory of Gajahmada University Yogyakarta. Analysis of Vitamin E (AOAC, 2005) and isoflavones (Penalvo et al., 2004). **Results:** The highest antioxidant content was found in the combination formula of yellow tempe flour + white bran flour with an average of 600.51 ± 7.07 , the highest level of isoflavone was found in the combination of tempeh yellow + red bran flour with a mean of 90.80 ± 1.20 . **Conclusion:** There are differences between groups of vitamin E levels and isoflavone levels $p > 0.05$.

KEY WORDS: Formula combination of tempeh and bran flour, functional food, high antioxidant, hyperlipidemia

Korespondensi:

Nama Penulis : Sufiati Bintanah, Nama Institusi : Prodi Gizi Universitas Muhammadiyah Semarang Alamat : Jl. Kedung Mundu Raya no. 18 Semarang Indonesia telp 081228582866 , e-mail :sufiatibintanah@gmail.com

PENDAHULUAN

Hiperlipidemia atau dislipidemia, merupakan kondisi Ketidakseimbangan lemak dalam darah, yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol ≥ 240 mg/dL dan trigliserida ≥ 150 .⁽¹⁾ akibat dari gaya hidup tidak sehat (asupan makan tinggi lemak jenuh dan lemak trans, kurang olahraga, merokok dan minum alkohol) sehingga menimbulkan resiko terjadinya penyakit kardiovaskuler⁽²⁾. Pada keadaan normal, kolesterol berfungsi sebagai pembentuk garam empedu dan hormon steroid^{(1),(3)}.

Prevalensi dislipidemia di Indonesia makin meningkat, menurut data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2013 menunjukkan bahwa 35,9% penduduk berusia di atas 15 tahun memiliki kadar kolesterol yang lebih tinggi.⁽⁴⁾

Salah satu upaya untuk memperbaiki profil lemak darah melalui farmakologis, non-farmakologis, dan gabungan farmakologi dan non-farmakologis untuk mencapai kadar kolesterol total bawah 200 mg / dl, kadar kolesterol LDL di bawah 100 mg / dl, dan kadar kolesterol HDL di atas 45 mg / dl darah.⁽⁵⁾

Upaya non-farmakologis untuk mencegah dan memperbaiki profil lipid dengan mengontrol berat badan, diet rendah kolesterol, olahraga teratur, dan konsumsi bahan makanan yang mengandung antioksidan dari vitamin A,E dan C yang mampu menurunkan kadar kolesterol darah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa vitamin E memiliki efek terbaik untuk stres oksidative dibandingkan vitamin A dan C dalam mengurangi peroksidasi lemak⁽⁶⁾. Salah satu sumber vitamin E terdapat pada bekatul berupa tokoferol. Selain vitamin E antioksidan dari kelompok flavonoid (1,2-diarylpropane) juga berpotensi untuk mengurangi kadar kolesterol darah melalui katabolisme sel lemak sebagai sumber energi, yang meningkatkan pembersihan LDL dari aliran

darah dan mengurangi kadar kolesterol darah⁽⁷⁾. Sumber isoflavon salah satunya terdapat pada kedele.

Antioksidan pada kedelai berupa *isoflavon* (*genistein* dan *daidzein*) merupakan suatu *fitoestrogen* yang dapat berikatan dengan *reseptor endogen* dan bersifat *kardioprotektif* karena bertindak menyerupai estrogen sebagai antioksidan yang menetralkan radikal bebas dengan cara memberikan efek terhadap peningkatan aktivitas *up regulating* reseptor LDL kemudian akan meningkatkan *LDL clearances* dari peredaran darah dan mengurangi kadar LDL dalam darah^{(8),(9)}

Produk dari kedeleleai adalah tempe kedelai. Salah satu alternatif untuk memperpanjang masa simpan tempe adalah dengan cara dibuat tepung tempe.⁽¹⁰⁾ Kandungan isoflavon pada tepung tempe kedelai lebih tinggi dibandingkan dengan tempe maupun tepung kedelai⁽¹¹⁾. Aktifitas biologis tempe meningkat dibanding kedelai yaitu meningkatkan isoflavon sebesar 222,5% dan menurunkan asam fitat sebesar 65% akibat reaksi enzim fitat yang diproduksi oleh *Rhizopus oligosporus*. Tempe diduga berkaitan dengan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) yang terbentuk pada proses fermentasi setelah 24 hingga 60 jam yang sebelumnya tidak ditemukan dalam biji kedelai sehingga dapat meningkatkan kadar SOD didalam tubuh.⁽¹²⁾

Tepung tempe dan bekatul apabila dikombinasikan akan menghasilkan antioksidan yang saling melengkapi untuk menangkal radikal bebas sehingga perlu dilihat kandungan antioksidan dari formula kombinasi pada tepung tempe dan bekatul.

BAHAN DAN METODE

Desain Penelitian eksperimen, waktu penelitian dilakukan pada bulan juli 2018, tempat penelitian pembuatan tepung tempe, tepung bekatul

dan formula dilakukan di Laboratorium pangan dan gizi Universitas Muhammadiyah Semarang, Analisa kandungan antioksidan dilakukan di Laboratorium PAU Universitas Gajahmada Yogyakarta.

Pembuatan tepung tempe : Bahan tempe kedelai kuning dan kedelai hitam, di *blancing* dengan cara dikukus selama 15 menit, dipotong-potong dengan ketebalan 1 cm, di keringkan, di tepungkan dan di ayak menggunakan ayakan 80 mesh.

Pembuatan tepung tepung bekatul : Bahan bekatul beras putih dan beras merah yang diperoleh dari *rice mill*, dilakukan proses pemanasan menggunakan cabinet dreyer dengan suhu 100°C selama 20-30 menit, kemudian di ayak dengan ukuran ayakan 80 mesh.

Pembuatan variasi formula, (1) tepung tempe kedelai kuning + tepung bekatul kuning,(2) tepung tempe kedelai kuning + tepung bekatul merah,(3) tepung tempe kedelai hitam + bekatul kuning,(4) tepung tempe kedelai hitam + bekatul merah, masing-masing dengan komposisi 1:1 dan berat masing-masing 112 gram, tambahkan pemanis non kalori 3 gram dan perasa makanan 3 gram. Setelah tercampur masing-masing dilarutkan dengan air dingin sebanyak 250 cc.

Analisis Kimia

Analisa Vitamin E (AOAC,2005) dan isoflavon (Penalvo *et al*,2004).^{(13),(14)}

Penetapan kadar Vitamin E (Alfa-Tokoferol) : Sampel ditimbang 10 g, kemudian dihancurkan dengan mortar, ditambahkan 50 ml etanol 40 % dan 2,5 g asam askorbat, direfluks sampai terkondensasi, ditambahkan 20 ml KOH 60 %, dilanjutkan refluks 5 menit. Didinginkan dengan air mengalir dan disaring dengan pompa vakum. Residu diekstrak dengan aseton (2 kali) dan saring kembali. Filtrat yang dihasilkan, diekstrak dengan 30 ml heksan (2 kali), gunakan labu pemisah. Fase

organik dicuci dengan 25 ml NaCl jenuh (2 kali). Disaring dengan Na₂SO₄ anhidrat. Diambil 10 ml kemudian uapkan dengan rotavapor pada suhu 40°C selama 1 jam. kemudian uapkan dengan rotavapor pada suhu 40°C selama 1 jam.

Larutan kerja: dilarutkan 10 mg standar tokoferol ke dalam 100 ml etanol absolut. Larutan standar: dibuat seri larutan standar dengan mengencerkan larutan kerja menggunakan etanol absolut dengan komposisi sebagai berikut:

Konsentrasi (mg/l)	5	10	15	20
Larutan Kerja (ml)	0.5	1	1.5	2
Etanol absolut (ml)	9.5	9	8.5	8

Prosedur: Diambil 200 µl baik sampel maupun standar, ditambahkan 200 µl asam askorbat 20 % lalu vorteks selama 30 detik. Ditambahkan 1 ml etanol 95 %, vorteks kembali selama 30 detik, ditambahkan heksan, vorteks kembali 30 detik. Dibiarkan beberapa detik, kemudian ambil fase atas. Sentrifuse pada 2000 rpm selama 10 menit. Ukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang eksitasi 295 nm dan panjang gelombang emisi 340 nm. Analisa Isoflavon: Sampel sebanyak 100 gram dihancurkan, kemudian dikeringkan pada suhu 40°C dan dihancurkan lagi. Bubuk sampel 1 – 2 gram diekstrak dengan 5 ml 1M HCl di dalam 80% etanol dan diinkubasi selama 1jam pada suhu 80°C. Selanjutnya di shaker selama 2menit dan disentrifus 2140 x g selama 2 menit. Supernatan disaring, sedangkan ampas ditambah 2,5ml 80% etanol kemudian dishaker dan disentrifus kembali. Disaring dan supernatan yang diperoleh digabung dengan supernatan pertama (Penalvo *et al*,2004). Kondisi HPLC: HPLC Merk Simadzu, isokratik, volume sampel 20 µl, kolom: C 18, eluen: methanol dan asetonitril (97:3), detektor: SPD 10A, laju aliran: 1ml/min, temperatur: 25 - 27°C, panjang gelombang 260 nm dan pompa LC10AD.

Pengolahan dan analisa data: Data yang diperoleh dirata-rata dan ditampilkan dalam bentuk tabel, kemudian dibandingkan antar perlakuan

HASIL

Tabel 1. Rerata Kandungan Vitamin- E Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul /100 gr

Prelakuan	Kadar Vitamin E (mg)
5. Tepung tempe kedele kuning + tepung bekatul putih	600,51± 7,07^d
6. Tepung tempe kedele hitam+ tepung bekatul putih	362,79± 1,37 ^a
7. Tepung tempe kedele kuning +tepung bekatul merah	550,35± 2,76 ^c
8. Tepung tempe kedele hitam +n tepung bekatul merah	415,43± 2,29 ^b

Keterangan:
Tanda huruf berbeda menunjukkan beda nyata ($p \leq 0,05$)

Hasil analisis kadar vitamin-E formula dari ke empat perlakuan dapat dilihat pada tabel 1. Rerata kandungan vitamin E formula antara $362,79 \pm 1,37$ - $600,51 \pm 7,07$. Rerata paling rendah pada perlakuan 2 kombinasi tepung tempe hitam dengan tepung bekatul putih sebesar $362,79 \pm 1,37$ dan rerata paling tinggi pada perlakuan 1 yaitu kombinasi tepung tempe kedele kuning + tepung bekatul putih. Kadar vitamin E pada tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok perlakuan $p > 0,05$.

Tabel 2. Rerata Kandungan Isoflavon Formula Kombinasi Tepung tempe dengan Bekatul/100 gr

Prelakuan	Kadar Isoflavon (mg)
5. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul putih	$77,28 \pm 0,76^b$
6. Tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul putih	$70,82 \pm 0,55^a$
7. Tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul merah	$90,80 \pm 1,20^d$
8. Tepung tempe kedele hitam dengan tepung bekatul merah	$86,88 \pm 0,66^c$

Keterangan:
Tanda huruf berbeda menunjukkan beda nyata ($p \leq 0,05$)

Rerata kandungan isoflavon antara $70,82 \pm 0,55$ - $90,80 \pm 1,20$. Rerata pada kelompok perlakuan 1,2,3 dan 4 paling rendah pada kelompok perlakuan 2 yaitu kombinasi tepung tempe hitam dengan tepung bekatul putih sebesar $362,79 \pm 1,37$ dan rerata paling tinggi pada kelompok perlakuan 3 yaitu kombinasi tepung tempe kedele kuning dengan tepung bekatul merah sebesar $90,80 \pm 1,20$. Kadar isoflavon pada tabel 2 menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok perlakuan $p > 0,05$.

BAHASAN

Tempe mengandung suatu zat antioksidan dalam bentuk isoflavon. Isoflavon dalam tempe antara lain daidzein, glisitein, genistein, dan antioksidan faktor II (6,7,4 trihidroksi isoflavon).¹⁷ Bekatul beras mengandung senyawa tokoferol (vitamin E).

Vitamin E (tokoferol) merupakan antioksidan larut dalam lemak dan mencegah terbentuknya metabolit oksidasi yang bersifat toksik seperti lipid peroksidasi dibentuk dari asam lemak yang tidak tersaturasi dengan cara menangkap radikal bebas.⁽¹⁵⁾ Tokoferol menekan peroksidasi lipid melalui penangkapan radikal dan

pemecah rantai radikal bebas yang kuat dan isomer sehingga menghambat sintesis kolesterol dan menurunkan kadar kolesterol dalam berbagai percobaan pada binatang. Menurut Hernawati, dkk., 2013 dan Park, dkk., 2014 dalam penelitiannya menunjukkan bahwa suplementasi bekatul dalam diet terbukti mampu menurunkan bobot badan, konsentrasi total kolesterol serum dan hati, trigliserida dan LDL, serta menaikkan konsentrasi HDL (*High Density Lipoprotein*), tanpa mengubah konsentrasi glukosa darah mencit^{(16),(17)} Efek hipokolesterolemik bekatul yang terjadi melalui penurunan sintesis kolesterol hati, yang ditandai dengan penurunan aktivitas ACAT-2 (*acetyl-CoA acetyltransferase 2*), HMG-CoA (*3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A*) reduktase, dan SREBP-2 (*sterol-regulatory element-binding protein 2*), serta dengan meningkatkan degradasi kolesterol hati melalui CYP7a1 (*human cholesterol 7-hydroxylase*) dan CYP8b1 (*human cholesterol 12-hydroxylase*) pada mencit yang diberi diet hiperkolesteromia.

Aktivitas hipokolesterolemik bekatul juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan pigmen warnanya. Kharisma (2015) melaporkan perbedaan aktivitas hipokolesterolemik pada tikus yang diberikan bekatul dengan pigmen warna yang berbeda. Adapun bekatul yang digunakan adalah Formula kombinasi tepung tempe kuning + Bekatul putih menunjukkan kandungan vitamin E yang paling tinggi yaitu $600,51 \pm 7,07$ dibandingkan dengan kombinasi bekatul beras merah maupun tempe hitam.

Tempe mengandung zat antioksidan dalam bentuk isoflavon. Isoflavon dalam tempe antara lain daidzein, glisitein, genistein, dan antioksidan faktor II (6,7,4 trihidroksi isoflavon).⁽¹⁸⁾ genistein mampu menekan generasi hidroperoksida; dan meningkatkan aktivitas enzim

antioksidan dari SOD, katalase, GSH Px dan GSH reduktase⁽¹⁹⁾

Tempe mengandung suatu zat antioksidan dalam bentuk isoflavon. Isoflavon dalam tempe antara lain daidzein, glisitein, genistein, dan antioksidan faktor II (6,7,4 trihidroksi isoflavon). Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar isoflavon tertinggi terdapat pada formula kombinasi tepung tempe kuning dan bekatul merah sebesar rata-rata $90,80 \pm 1,20$. Bekatul beras merah mengandung senyawa fenolik yaitu antosianin. Antosianin merupakan salah satu jenis flavonoid yang diketahui mampu berperan sebagai antioksidan^{(20),(21)} Antosianin bersifat tidak stabil terhadap pH, suhu, dan konsentrasi oksigen. Suhu tinggi pada saat selama pemanasan memungkinkan terjadinya degradasi antosianin.⁽²²⁾ Hasil dari berbagai penelitian menunjukkan bahwa Isoflavon terutama *daidzein* dan *genistein* merupakan komponen kimia yang diduga memiliki sifat fungsional dari kedelai dan produknya. Menurut Mazmur, (1998) menyatakan bahwa Isoflavon merupakan *phytoestrogen* yang mempunyai sifat estrogenik, antiestrogenik, antikarsinogenik, antifungal dan antioksidan yang dapat berikatan dengan reseptor estrogen, sehingga mampu berperan sebagai hormon estrogen.⁽²³⁾ Beberapa peneliti lain menyatakan bahwa isoflavon dapat menurunkan resiko penyakit osteoporosis⁽²⁴⁾ kanker payudara⁽²⁵⁾, dan arteriosklerosis⁽²⁶⁾

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada : Rektor Unimus, Ristek Dikti, Kopertis wilayah VI Jawa, atas dukungan dana dan fasilitas pada penelitian ini. Penelitian ini telah memperoleh ijin etik dari Komisi Etik, Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang No. 073 / KEPK-FKM / UNIMUS / 2018.

RUJUKAN

1. Goodman dan Gilman, 2008, Dasar Farmakologi Terapi, diterjemahkan oleh

- Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB, Volume 1, Penerbit BukuKedokteran EGC, Jakarta
2. Arjatmo, T. dan Utama, H., 2004, Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I, Edisi 3, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
 3. Murray, R. K., Granner, D. K., dan Rodwell, V. W., 2009, Biokomia Herper, diterjemahkan oleh Pendit, B. U., Ed. 27, ECG, Jakarta
 4. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Profil Kesehatan Indonesia. Jakarta: .2013: 162-189
 5. Erwinanto, Santoso,A, Putranto.J.N.E, Tedjasukmana,P, Suryawan,R, Rif,S. Pedoman Tatalaksana Dislipidemia. 1st ed. Centra Communications. 2013;1:5-36.
 6. Zaidi SMKR, Banu N. Antioxidant potential of vitamins A, E and C in modulating oxidative stress in rat brain. *Clin Chim Acta*. 2004;340(1-2):229-33.
 7. Clair RS, Anthony M. Soy, isoflavones and atherosclerosis. *Handb Exp Pharmacol*. 2005;(170):301-23
 8. ilsakova L, Riečanský I, Jagla F. The physiological actions of isoflavone phytoestrogens. *Physiol Res*. 2010;59(5):651.
 9. Cena ER, Steinberg FM. Soy may help protect against cardiovascular disease. *Calif Agric*. 2011;65(3):118-23.
 10. Nout MJR, Kiers JI., 2005. Tempe Fermentation, innovation, and functionality: update into the third millennium. *App Environ Microbiol* 98:789-805.
 11. Sussi Astuti. Soybean Isoflavone and Its Potentially as Scavenger Free Radicals. *Teknol Ind Dan Has Pertan*. 2008 ;13(2):126-36.
 12. Astuti M, Meliala A, Dalais FS, Wahlqvist ML. Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2000;9(4):322-325
 13. AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemests. AOAC, Inc. Arlington, Virginia
 14. Penalvo, J.L., T. Nurmi and H. Adlercreutz. 2004. A simplified HPLC method for total isoflavones in soy products. *Food Chem.*, 87: 297-305
 15. Damyanti E, Kustiyah L, Khalid M, dan Farizal H. Aktivitas antioksidan bekatul lebih tinggi daripada jus tomat dan penurunan aktivitas antioksidan serum setelah intervensi minuman kaya antioksidan. Departemen Gizi Masyarakat. Fakultas Ekologi Manusia IPB; *Jurnal gizi dan pangan*, 2010, 5 (3): 205-210
 16. Hernawati, Manalu W., Suprayogi A., dan Astuti D.A. 2013. Perbaikan Parameter Lipid Darah Mencit Hiperkolesterolemia dengan Suplemen Pangan Bekatul. *Majalah Kedokteran Bandung*. Vol. 45(1) : 1-9.
 17. Park Y., Park E., Kim E., dan Chung I. 2014. Hypocholesterolemic Metabolism of Dietary Red Pericarp Glutinous Rice Rich in Phenolic Compounds in Mice Fed a High Cholesterol Diet. *Nutrition Research and Practice*. Vol. 8(6). Dec : 632-637.
 18. Made Astawan. Sehat dengan hidangan kacang dan biji-bijian. Jakarta: Penebar Swadaya; 2009. p. 4-130.
 19. Lissin LW, Cooke JP: *Phytoestrogens and cardiovascular health*. *J Am Coll Cardiol*. 2000, 35: 1403-1410.
 20. Tyagita Fitriana Dewi. Aktivitas Antioksidan, Kadar Total Fenol, Kadar Serat Pangan dan Kualitas Sensori Roti Tawar dengan Penambahan Bekatul dari Beras Merah dan Beras Hitam [SKRIPSI]. Surakarta: Universitas Sebelas Maret; 2011.
 21. Red and Black Rice Decrease Atherosclerotic Plaque Formation and Increase Antioxidant Status in Rabbits
 22. Umar Santoso. Antioksidan. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada; 2006
 23. Mazur, W.M., J.A. Duke, K. . and S. Rasku. 1998. Isoflavonoids and lignans in legumes: Nutritional and health aspects in humans. *J. Nutr. Biochem*, 9:193 - 200.
 24. Fitzpatrick, L.A. 2003. Reprint of soy isoflavones: hope or hype?. *Mat.*, 6(1-2): 132-140.
 25. Messina, M. and A.H. Wu. 2009. Perspectives on the soy-breast cancer relation. *Am J Clin Nutr.* 89:1673 - 1679
 26. Akhlaghi, M. And B. Bandy. 2009. Mechanisms of flavonoid protection myocardial against myocardial ischemia-reperfusion injury. *J. Mole and Cel Cardiol.*, 46: 309-317.

Lampiran 2 . DOKUMENTASI
PENELITIAN

1. Pembuatan tempe kedele kuning dan
kedele hitam





2. Pembuatan Tepung tempe kedele dan bekatul



Pengeringan tempe dan bekatul



Pengukusan tempe

Pemotongan tempe



Pengeringan



Tepung tempe Kedele kuning



Tepung tempe Kedele hitam

Tepung bekatul beras putih



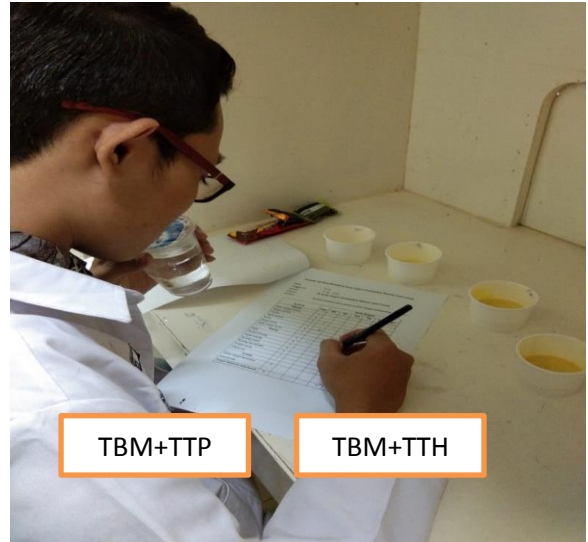
3. Pembuatan Formula





TBP+TTH

TBP+TTP



TBM+TTP

TBM+TTH



4. Uji Organoleptik

Kualifikasi Tim Pelaksana dan Komponen Interprofesional

Judul Penelitian : Potensi Kombinasi Tepung Ricebran dan Tepung Tempe Kedele Terhadap Profil Lipid dan Stres oksidatif (LDL-ox,MDA dan SOD) pada wanita menopause hyperlipidemia

No	Nama	Kedudukan Dalam Tim/Relevansi Skill Tim	Komponen Interprofesional
1	Sufiati Bintanah, M.Si	Ketua	Ahli Gizi
2	Siti Aminah, M.Si	Pihak Eksternal	Ahli Pangan
3	dr. Rhesa Milzam Favian	Pihak Eksternal	Dokter
4	Dr. Sri Darmawati, M.Si	Pihak Eksternal	Ahli Mikrobiologi dan Analisis Kesehatan