

Nilai Gizi dan Komposisi Asam Amino Tempe Gembus serta Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan Tikus

Mohammad Sulchan, Endang Nur. W

*Program Pasca Sarjana, Prodi Gizi Biomedik, Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia*

Abstrak: Beberapa tahun terakhir diketahui tempe kedelai dapat memperbaiki profil lipid darah baik pada manusia maupun hewan percobaan. Selain tempe kedelai di Jawa Tengah dikenal pula tempe gembus yang dibuat dari ampas tahu (kedelai) dan difermentasi dengan kapang tempe *Rhizopus sp.* Penelitian dilakukan secara *in vivo* pada tikus jantan galur Sprague Dawley bertujuan menganalisis nilai gizi dan komposisi asam amino serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan tikus. Dalam penelitian digunakan 4 perlakuan ransum isokalori dan isoprotein dari *purified diet* (AIN 93M) dengan konsentrasi tempe gembus 0%, 4%, 8%, 12% (b/b). Dua puluh delapan tikus jantan Sprague Dawley berumur 10 minggu dengan bobot badan normal, dikandangan secara individual dan diaklimatisasi dengan pakan standar AIN 93M selama 1 Minggu. Selanjutnya tikus ditempatkan secara acak dalam kandang individual untuk diberi ransum pakan perlakuan (G-0, G-1, G-2, dan G-3) selama 5 minggu. Pada seluruh tahapan percobaan pakan dan minum diberikan secara *ad libitum*. Bobot badan ditimbang setiap minggu, sedangkan asupan ransum ditimbang setiap hari. Data yang dikumpulkan dianalisis secara statistik dengan uji *t* berpasangan dan Anova. Hasil penelitian menunjukkan nilai gizi tempe gembus tidak terlalu tinggi kandungan energi dan protein, namun bergizi asam amino esensial secara lengkap. Pengaruh tiga kelompok perlakuan tempe gembus tidak berbeda dibandingkan kelompok Diet Standar (G-0, berisi 0% tempe gembus).

Kata kunci: isokalori dan isoprotein, tikus Sprague Dawley

Nutritional Value and Amino Acid Composition of Tempe Gembus and Its Effect on Growth of Rats

Mohammad Sulchan, Endang Nur. W

Program Pasca Sarjana, Prodi Gizi Biomedik, Faculty of Medicine
UNDIP, Semarang, Indonesia

Abstract: It has recently been proven that soybean “tempe” can improve the blood lipid profile in human as well as in animal. People in Central Java also consume another traditionally fermented food called “tempe gembus” which is made from soybean solid waste of soya-curd factory fermented by tempe mold *Rhizopus* sp. The aim of this study was to analyze the nutritional value, amino-acid composition and its effect of some various concentration of “tempe gembus” on growth of rats. The concentrations of tempe gembus used in this study were 0%, 4%, 8%, and 12% (w/w basic). All diets were isocaloric and isoprotein based on the AIN 93M purified diet standard formula. Twenty eight male Spague Dawley rats 10 weeks old with normal body weight were housed in individual stainless-steel cage for acclimatization. Animal were then assigned to one of four dietary treatment groups by randomization (n=7). Dietary treatment (G-0, G-1, G-2 and G-3) was given for 5 weeks. At all steps of the experiments, diet and water were offered ad libitum. Body weight were recorded weekly, while food intake was recorded daily. Data collected were then analyzed using the paired t-test and oneway Anova, followed by Least Significant Difference at 95% confidence level. The result of study revealed that tempe gembus are not composed of high value energy and protein, but contains essential amino acid. The effect of three dietary treatment groups of tempe gembus are not different compared to standard dietary treatment (G-0, 0% tempe gembus).

Keywords: isocaloric isoprotein, Sprague Dawley rats

Pendahuluan

Sejak krisis multidimensi menjelang akhir abad ke 20, ketahanan pangan dan gizi masyarakat Indonesia masih mengkhawatirkan. Ketersediaan dan keterjangkauan pangan yang rendah, diperburuk dengan angka kemiskinan yang masih tinggi, bermuara pada status gizi anak balita yang buruk.^{1,3}

Survei yang dilakukan Departemen Kesehatan menunjukkan pada tahun 2003 masih terdapat 27,3% anak Balita dengan berat badan kurang, prevalensi defisiensi vitamin A masih tinggi, serta prevalensi anemia 48,1%.³

Berbagai upaya telah dilakukan untuk meningkatkan ketahanan pangan serta gizi, selain aspek produksi dan ketersediaan pangan. Konsep ketahanan pangan dan gizi memperhatikan aspek konsumsi dan dampaknya terhadap status gizi, artinya produksi dan ketersediaan pangan dapat diakses oleh setiap rumah tangga dan individu dalam jumlah yang memenuhi kebutuhan gizi. Namun, bagi rumah tangga miskin dengan daya beli yang rendah, akses atau keterjangkauan pangan menjadi langka bahkan nihil.⁴

Fakta menunjukkan, telah terjadi pergeseran preferensi oleh kelompok rumah tangga miskin terhadap akses komoditas pangan. Sumber-sumber pangan yang dapat diakses dengan harga beli murah/sangat murah menjadi pilihan utama, dan salah satunya adalah “tempe gembus”. Tempe gembus merupakan makanan fermentasi tradisional yang sangat populer dikonsumsi masyarakat lapisan bawah secara luas. Tempe gembus dibuat dari bahan dasar ampas tahu (yang bahan bakunya dari kedele), melalui proses fermentasi oleh mikroorganisme agen fermentasi yang sama yang digunakan pada pembuatan tempe kedele.

Sejalan dengan peningkatan konsumsi tempe, penelitian tentang tempe juga terus berkembang. Selain kandungan proteinnya yang cukup baik, tempe ternyata kaya akan zat gizi lain misalnya vitamin dan mineral. Selain itu juga telah ditemukan adanya kandungan senyawa isoflavonoid yang bersifat bioaktif (terutama genistein dan daidzein) yang potensial dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, karena mempunyai aktivitas antara lain sebagai antioksidan dan antihemolitik, antikolesterol dan antikanker.^{1,4}

Penelitian efek hipokolesterolemik tempe kedele pada hewan coba dan manusia telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Hasil yang positif ditunjukkan dengan kemampuannya memperbaiki fraksi lipid serum darah yang menyangkut: a) penurunan kadar trigliserida total, b) penurunan kolesterol total c) penurunan kolesterol *low density lipoprotein* (LDL) dan d) peningkatan kolesterol *high density lipoprotein* (HDL). Efek hipokolesterolemik pada tempe gembus terhadap hewan coba tikus menunjukkan hasil yang nyaris sama dengan tempe kedele.² Namun tempe gembus sebagai sumber protein dan sekaligus sumber asam amino esensial yang menjadi unsur terpenting bagi pertumbuhan belum pernah diteliti.

Tujuan penelitian adalah menganalisis nilai gizi, komposisi asam amino dan asam lemak, serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium, dengan *randomized pre-test control group design*, dilakukan dengan rancangan acak lengkap. Perlakuan yang digunakan adalah pemberian ransum tempe gembus pada tikus dengan keluaran perbedaan atau perubahan berat badan.

Jumlah unit percobaan 4 dengan ulangan masing-masing 7 untuk setiap unit, dengan ulangan yang ditentukan menurut rumus $(t-1)(r-1) > 15$.

Bahan Materi

Digunakan 28 ekor tikus jantan galur Sprague Dawley berumur 10 minggu, kondisi sehat dan bobot badan normal ($\pm 230-260$ gram). Faktor inklusi adalah bobot badan tikus normal 230-260 gram pada umur 10 minggu, kadar trigliserida awal > 89 mg/dl, kadar kolesterol awal > 123 mg/dl, aktivitas dan tingkah laku normal. Faktor eksklusi adalah tikus mengalami diare selama masa penelitian yang ditandai dengan feses yang tidak berbentuk, tikus mati dalam masa penelitian.

Tempe gembus berasal dari perajin dibuat dengan menggunakan ragi tempe dari LIPI dengan bahan baku ampas tahu dari satu sumber yang sama dan pembuatannya di bawah pengawasan peneliti.

Instrumen

Alat yang digunakan adalah 7 buah kandang hewan individual, timbangan elektronik AND, spektrofotometer Spectronic 21, sentrifuga, tabung reaksi, tabung endorf, pipet mikrohematokrit.

Tempat dan Waktu

Penelitian berlangsung selama 4 bulan dilakukan di Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM. Pembuatan pangan dan analisis ransum dilakukan di PAU Pangan dan Gizi UGM. Analisis proksimat tempe gembus dilakukan di Laboratorium Terpadu Institut Pertanian Bogor. Analisis asam amino

penyusun protein dengan HPLC, serta asam lemak dengan Gas Liquid Chromatography.

Prosedur Pengumpulan Data

Pembuatan Ransum Pakan

Ransum pakan dibuat berdasarkan standar diet murni (*purified diet*) American Institute of Nutrition (AIN) 93 M, dengan modifikasi penambahan kandungan tempe gembus kering ke dalam ransum dengan konsentrasi 0%, 4%, 8%, dan 12% (b/b). Ransum pakan dibuat secara isokalori dan isoprotein, dengan mengatur komposisi kasein dan kandungan minyak dalam ransum.

Aklimatisasi

Dua puluh delapan ekor tikus jantan galur Sprague Dawley yang sehat berumur 10 minggu dengan bobot badan normal, diaklimatisasi di laboratorium dengan dikandangkan secara individual dan diberi ransum pakan standar AIN-93M secara *ad libitum* selama satu minggu.

Pemberian Ransum Perlakuan

Hewan selanjutnya dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing 7 ekor yang ditentukan secara acak dengan komputer, masing-masing anggota kelompok dikandangkan secara individual.

Selama 5 minggu masing-masing kelompok tikus diberi pakan secara *ad libitum* dengan 4 macam jenis pakan perlakuan yang berbeda, yaitu: G-0 (pakan standar dengan kandungan 0% tempe gembus), G-1 (mengandung 4% tempe gembus), G-2 (mengandung 8% tempe gembus), dan G-3 (mengandung 12% tempe gembus). Setiap hari sisa pakan ditimbang untuk mengetahui konsumsi pakan per-hari, demikian pula setiap hari bobot tikus ditimbang.

Hasil Penelitian

Komposisi Gizi Tempe Gembus

Hasil analisis zat gizi termasuk kandungan asam amino dan asam lemak dari tempe gembus yang digunakan dalam penelitian disajikan pada Tabel 1, 2, dan 3.

Tabel 1. Nilai Gizi Tempe Gembus 100 gr (b.d.d.)

Nutrisi	Tempe gembus segar (berat basah)	Tempegembus kering (berat kering)
Energi (kkal)	65.10	77.70
Protein (g)	3.41	4.07
Lemak (g)	0.20	0.23
Karbohidrat total (g)	11.94	14.25
Serat (g)	3.93	4.69
Abu (g)	0.69	0.82
Kalsium (mg)	143.00	159.98
Fosfor - P (mg)	50.00	59.69
Besi - Fe (mg)	0.40	0.48
Air (% b.b)	83.76	6.00
B.d.d. (%)	100.00	100.00

Tabel 2. Komposisi Asam Amino Tempe Gembus 100 gr b.d.d.

No	Jenis asam amino	Kadar (% , b.b)	Kadar (% , b.k)
1.	Aspartat	0.22	0.27
2.	Glutamat	0.29	0.35
3.	Serine	0.06	0.07
4.	Histidin	0.05	0.60
5.	Glisin	0.13	0.16
6.	Threonin	0.08	0.95
7.	Arginin	0.09	0.11
8.	Alanin	0.13	0.16
9.	Tyrosin	0.06	0.72
10.	Methionin	0.01	0.12
11.	Valin	0.14	0.17
12.	Phenilalanin	0.08	0.09
13.	Isoleusin	0.10	0.12
14.	Leusin	0.14	0.17
15.	Lysin	0.12	0.14

Tabel 3. Komposisi Asam Lemak Tempe Gembus 100 gr b.d.d.

No	Jenis	Kadar (% , b.b)
1.	Caprylic acid (8:0)	0.26
2.	Capric acid (10:0)	0.39
3.	Lauric acid (12:0)	3.46
4.	Myristic acid (14:0)	1.71
5.	Palmitic acid (14:0)	8.23
6.	Stearic acid (18:0)	3.42
7.	Oleic acid (18:1)	16.72
8.	Linoleic acid (18:2)	21.51
9.	Linolenic acid (18:3)	1.82

Pengaruh Ransum pada Pertumbuhan

Bobot badan tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang digunakan pada awal perlakuan ransum 324.1 - 389.9 gram, dan setelah perlakuan ransum selama 5 minggu kisaran bobot badan tikus untuk perlakuan ransum G-O (0% tempe gembus), G-1 (4% tempe gembus), G-2 (8% tempe gembus), dan G-3 (12% tempe gembus) berturut-turut menjadi : 400.4 - 445.0 gram; 412.0 - 473.8 gram; 377.3 - 485.1 gram; dan 435.5 - 447.8 gram.

Tabel 4. menyajikan nilai rerata dan simpang baku konsumsi pakan total dan konsumsi pakan per hari antar semua perlakuan yang diberikan.

Tabel 4. Konsumsi Pakan Selama Percobaan dan Konsumsi Ransum Pakan Harian

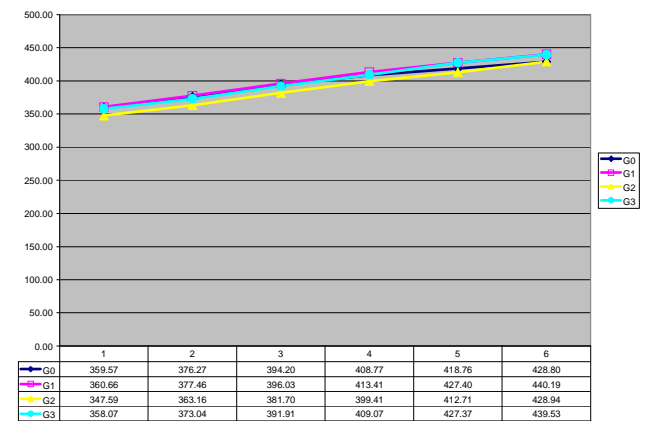
Perlakuan	Konsumsi ransum selama percobaan (gr)	Konsumsi ransum/hari (gr)
G-0	368.54 ± 22.61	9.96 ± 0.61
G-1	393.20 ± 35.94	10.96 ± 1.05
G-2	366.41 ± 71.46	9.90 ± 1.93
G-3	349.84 ± 29.05	9.41 ± 1.09

Pada semua kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan berat badan tikus percobaan pada awal dan setelah perlakuan (P > 0.05).

Tabel 5. Berat Badan Awal dan Akhir Perlakuan Ransum

Perlakuan	Berat badan awal (gr)	Berat badan akhir (gr)
G-0	360.80 ± 15.53	425.07 ± 17.26
G -1	360.63 ± 26.32	440.18 ± 29.01
G- 2	347.58 ± 23.71	428.94 ± 42.64
G-3	360.93 ± 14.63	439.56 ± 5.50

Pola pertumbuhan tikus selama percobaan pada setiap perlakuan ransum terlihat pada grafik 1.



Keterangan: G-O = ransum dengan konsentrasi tempe gembus 0%
 G-1 = ransum dengan konsentrasi tempe gembus 4%
 G-2 = ransum dengan konsentrasi tempe gembus 8 %
 G-3 = ransum dengan konsentrasi tempe gembus 12%

Pertambahan bobot badan tikus selama penelitian menunjukkan pola kurva yang sama pada setiap perlakuan ransum pakan. Pola ini ternyata sesuai dengan pola pertambahan bobot badan tikus yang dipelihara dengan ransum standar. Pada semua kelompok perlakuan terjadi kenaikan bobot badan secara bertahap setiap minggu, yang mempunyai kecenderungan yang sama.

Pembahasan

Kandungan Nutrisi tempe Gembus

Hasil analisis terhadap kandungan nutrisi tempe gembus yang digunakan sebagai perlakuan ternyata tidak sama dengan yang terdapat di dalam buku acuan. Hal ini mungkin terjadi karena kandungan nutrisi suatu makanan fermentasi sangat tergantung dari jenis dan varietas bahan mentah serta mikroorganisme yang digunakan untuk melakukan fermentasi.⁵⁻¹⁵

Dibandingkan dengan tempe kedele yang dibuat dengan menggunakan inokulum tempe yang sama, terdapat berbagai perbedaan kandungan nutrisi. Tempe gembus mempunyai kandungan energi yang besarnya kurang lebih 50% energi tempe kedele, demikian juga kadar protein dan lemaknya lebih rendah, sedangkan kadar serat 3 kali lebih besar dari tempe. Kondisi ini dapat dipahami mengingat tempe gembus terbuat dari ampas kedele sisa pembuatan tahu, sehingga kandungan gizinya sudah berkurang.

Bila dibandingkan dengan tempe kedele komposisi asam amino pada tempe gembus sangat mirip, hanya pada tempe gembus tidak terdeteksi adanya prolin, cystein dan tryptophan. Meskipun jenis asam amino pada tempe gembus sama dengan tempe kedele, namun kadarnya jauh lebih kecil.

Tempe gembus ternyata mengandung asam lemak esensial yaitu asam linoleat (21,51%), asam lemak tak jenuh oleat (16,72%) dan linolenat (1,82%). Jenis-jenis asam lemak ini sama dengan yang ditemukan pada tempe kedele namun secara kuantitatif tidak dapat dibandingkan karena data tidak tersedia (Tabel 3).¹⁷⁻¹⁹

Komposisi nutrisi tempe gembus mirip dengan tempe kedele meskipun kadarnya lebih kecil, maka diharapkan tempe gembus juga mempunyai sifat hipokolesterolemik. Dari berbagai zat nutrisi yang terkandung dalam tempe gembus, ada komponen yang menurut penelitian diduga dapat mempengaruhi profil lipid darah, antara lain: protein, asam lemak tak jenuh (PUFA), serat, dan kalsium.²¹

Protein tempe diduga dapat menurunkan umpan balik negatif perubahan kolesterol menjadi empedu di dalam hati, di samping juga meningkatkan aktivitas reseptor LDL. Asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) menurunkan kadar kolesterol dengan merangsang ekskresi kolesterol menjadi asam empedu. Serat akan meningkatkan ekskresi asam empedu ke dalam feses, sehingga mengurangi kadar kolesterol dalam darah. Kalsium menurunkan kolesterol dengan mengikat asam empedu dalam usus, sehingga ekskresi garam empedu meningkat.

Pengaruh Ransum pada Pertumbuhan

Pertumbuhan dan perkembangan yang baik dari makhluk hidup ditandai dengan terjadinya kenaikan berat badan yang mengikuti bentuk kurva pertumbuhan yang sigmoid. Pertumbuhan dan perkembangan berat badan sangat dipengaruhi oleh kandungan nutrisi makanan terutama protein, kandungan energi, aktivitas metabolisme, dan aktivitas fisik hewan yang bersangkutan. Pada fase pertumbuhan protein memegang peranan yang sangat penting, karena pada fase tersebut proses biosintesis berlangsung dengan cepat terutama pembentukan protein tubuh, sedangkan energi dibutuhkan untuk berlangsungnya proses metabolisme tubuh. Dalam kondisi diet seimbang (protein-energi), kenaikan berat badan akan terjadi sesuai dengan pola pertumbuhan yang seharusnya, dan akan menjadi lebih buruk bila hewan mendapatkan ransum yang tidak bergizi seimbang.²³

Pertumbuhan ditentukan berdasarkan asupan makanan yang berhubungan dengan kandungan energi dalam ransum. Kebutuhan protein untuk pertumbuhan secara tepat dinyatakan dalam ratio protein - energi dalam ransum. Dalam penelitian ini seluruh ransum perlakuan dibuat dalam kondisi isokalori dan isoprotein. Nisbah antara protein dan energi diupayakan dalam nilai yang tetap. Hal ini diberlakukan untuk menghilangkan kemungkinan terjadinya reaksi akibat perbedaan kandungan protein dan energi yang merupakan dua aspek penting dalam menentukan pertumbuhan suatu hewan. Semua jenis ransum yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai energi sekitar 3.865 kkal per kg ransum, dengan kandungan protein 16% dan nilai nisbah (protein: energi) berkisar 0,41, mengacu pada standar AIN (1993) bagi tikus percobaan, yaitu sekitar 3.800 kkal per kg.^{21,23}

Penyusunan ransum isokalori dilakukan mengingat perbedaan kandungan energi akan menyebabkan perbedaan konsumsi. Konsumsi pakan akan semakin menurun dengan semakin meningkatnya kandungan energi ransum pakan. Bila hal ini terjadi, hewan akan mengalami defisiensi baik protein, vitamin, maupun unsur nutrisi lain yang akhirnya akan mengganggu pertumbuhan dan aktivitas metabolisme tubuh. Energi ransum yang terlalu rendah akan memacu hewan untuk mengkonsumsi lebih banyak. Hal tersebut akan menghadapi kendala dengan daya tampung maksimum dari lambung hewan untuk mengkonsumsi pakan.²³

Untuk menyediakan ransum pakan yang mengandung tempe gembus dengan kondisi isoprotein dan isokalori (\pm 3860 kkal) dilakukan penyesuaian kadar minyak di dalam ransum sampai batas maksimum yang diperkenankan, yaitu sekitar 30% dari total energi ransum, mengingat asupan energi per hari akan tetap konstan jika pakan mengandung lemak 0 sampai 30%. Penyesuaian dengan penambahan kadar minyak dalam ransum pakan diperlukan mengingat energi tempe gembus sangat rendah (0,7 kkal/gr), sehingga untuk mencapai energi ransum sekitar 3860 kkal/kg dengan konsentrasi tempe gembus 4% - 12% pada keadaan isoprotein dan isokalori harus dilakukan substitusi bahan-bahan yang mempunyai energi lebih tinggi.²³

Semua tikus yang mendapatkan berbagai jenis ransum ternyata mengikuti pola pertumbuhan yang sama. Hal tersebut membuktikan bahwa jenis perlakuan ransum pakan 0, 4, 8, dan 12% (G-0, G-1, G-2, dan G-3) tidak memberikan pengaruh yang berbeda terhadap pertumbuhan bobot badan tikus. Mutu protein tempe gembus (perlakuan G-1, G-2, dan G-3) tidak berbeda dengan kelompok kontrol (G-0). Bila dilakukan analisis lebih jauh dengan menghitung nilai PER (*Protein Efficiency Ratio*) yang menjadi salah satu parameter mutu protein hasilnya tidak berbeda.²⁴

Bobot badan tikus sebelum dan sesudah perlakuan tidak berbeda bermakna pada semua kelompok perlakuan. Kenyataan ini juga didukung dengan tidak adanya perbedaan bermakna antara asupan total ransum selama percobaan, asupan total ransum per hari dan pertambahan bobot dari

masing-masing kelompok perlakuan.²³

Saran

Disarankan kepada konsumen, khususnya dengan daya beli rendah tempe gembus dapat diakses sebagai komoditas pangan sumber protein sebagai alternatif pengganti tempe kedele.

Daftar Pustaka

1. Sudarmadji S, Haryono B, Suhadi. Prosedur analisis untuk bahan makanan dan pertanian. Ed. ke-4. Yogyakarta, Liberty, 1997.
2. Sabudi NS, Marsono Y, Astuti M, Pengaruh tempe sebagai sumber protein terhadap profil lipid pada Tikus. Prosiding seminar Nasional Teknologi Pangan, PATPI, November 1997.
3. Rajasa MH, Keynote Speaker Menteri Ristek dalam Widya Karya Pangan dan Gizi di era Otonomi Daerah dan Globalisasi, Jakarta, 2004.
4. Wijaya A. Faktor risiko penyakit kardiovaskuler erspektif baru. Forum Diagnosticum. 1998;2:1-11.
5. Wijaya A. Oksidasi LDL, Aterosklerosis dan antioksidan. Forum Diagnosticum. 1997;3.
6. Lukito W. Peranan Kedele untuk mengurangi Risiko Kanker dan Penyakit Kardiovaskuler. The Soy Connection. (ed. Indonesia). American Soybean Association. 1998.
7. Carroll KK, Korowska EM. Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. J.Nutr. 1995;125(3):594S-7S.
8. Adnan M, Sudarmadji S. Contribution of tempe for the economy and health of Indonesian. Proceeding International Tempe Symposium, "Reinventing the Hidden Miracle of Tempe, Bali 13-15 juli 1997:11-21.
9. Winarno FG. Production and utilization of tempeh in Indonesian Foods. Am.Oil. Chem. Soc. 1989;4:363-8.
10. Ikehata H, Wakaizumi M, Murakata K. Antioxidative and antihaemolytic activity of new isoflavon "Factor-2" isolated from tempeh. Agr Biol Chem 1968;32(6):740-6.
11. Naim B, Geddetner B, Bondi A, Birk Y. Antioxidative and antihaemolytic activities of soybean isoflavon. J Agr Food Chem, 1976;24(6):1174-7.
12. Murakami H, Akasawa T, Terao J, Matsushita S. Antioxidative Stability of tempeh and liberation of isoflavon by fermentation. Agr Biol Chem 1984;48(12):2971-5.
13. Kodyat B. Penuntasan masalah gizi utama (Posisi Repelita VI, Kebijaksanaan dan Strategi Menghadapi Pelita VII). Semiloka Pra Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi VI "Gizi dan Kualitas Hidup". Semarang, 9 -11 Nopember 1997.
14. Brody T. Nutritional Biochemistry. London: Academic Press Inc. 1994:75,261.
15. Tanuwidjaya L. Perkembangan industri tempe di Indonesia. Prosiding Simposium Sehari Pengembangan Industri Makanan dan Kedele. Jakarta, 23 September 1995:72-80.
16. Gandjar I. Soybean fermentation and other tempe products in Indonesia. In: Hesseltin CW & Wang HW. Indigenous Fermented Food of Non-Western Origin. Berlin-Stuttgart; J. Cramer: 1986.p. 55-6.
17. Prawiroharsono S. Potensi Tempe dan pengembangan industri tempe generasi ke III. Proceeding International Tempe Symposium, "Reinventing the Hidden Miracle of Tempe" Bali, July 13-15,1997:86-99.
18. Fatimah S N. Pengaruh komplementasi ampas tahu dengan bekatul beras, bekatul jagung, terhadap mutu tempe gembus oleh dua jenis *Rhizopus*. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya. 1998.
19. Mahmud M K, Slamet D S, Apriyantono R R. Komposisi Zat Gizi Pangan Indonesia. Departemen Kesehatan RI - Direktorat Bina Gizi Masyarakat dan Pusat Pengembangan Penelitian dan Pengembangan Gizi. 1990:18,60.
20. Brata-Arbai A. Tempe dan sifat-sifat hipokolesterolemik. Beberapa pengamatan sifat-sifat hipokolesterolemik tempe pada pasien-pasien hiperlipidemia. Prosiding Widyakarya Nasional Khasiat Makanan Tradisional. Kantor Menteri Negara Urusan Pangan Republik Indonesia. 1995 83-94.
21. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. J Nutr 1993;123:1939-51.
22. Brata-Arbai A M. Tempe & Hiperkolesterolemia (Daya Hipolipidemik Tempe). Dalam: Sapuan & Soetrisno,N. (eds). Bunga Rampai Tempe Indonesia. Yayasan Tempe Indonesia. Jakarta. 1996:101-45.
23. National Research Council. Nutrient Requirement of Laboratory Animal. No.10 3r" Rev. ed. Washington, D.C. National Academy of Sciences. 1978;8-33.
24. Atmana. Pengaruh diit kedelai dan kelapa terhadap kadar total kolesterol, kolesterol-LDL dan - HDL dalam serum marmut. Medika. 1991;17(11):876-9.