

**EVALUASI KESEPADANAN MUTU GIZI TEMPE KEDELAI
PANGAN REKAYASA GENETIK (PRG) DAN NON-PRG SERTA
DAMPAK KONSUMSINYA PADA TIKUS PERCOBAAN**

DADI HIDAYAT MASKAR



**SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2015**

PERNYATAAN MENGENAI DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi berjudul “Evaluasi Kesepadanan Mutu Gizi Tempe Kedelai Pangan Rekayasa Genetik (PRG) dan Non-PRG serta Dampak Konsumsinya pada Tikus Percobaan” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, September 2015

Dadi Hidayat Maskar
NIM I162100041

RINGKASAN

DADI HIDAYAT MASKAR. Evaluasi Kesepadanan Mutu Gizi Tempe Kedelai Pangan Rekayasa Genetik (PRG) dan Non-PRG serta Dampak Konsumsinya pada Tikus Percobaan. Dibimbing oleh HARDINSYAH, EVY DAMAYANTHI, MADE ASTAWAN dan TUTIK WRESDIYATI.

Tempe dan makanan olahan kedelai merupakan produk pangan yang banyak dikonsumsi dan menjadi sumber protein yang penting bagi penduduk Indonesia. Tingginya konsumsi tempe serta makanan olahan kedelai menyebabkan produksi kedelai lokal hanya mampu memenuhi sekitar 30% dari kebutuhan nasional. Data BPS tahun 2013 menyebutkan sekitar 70% dari total kebutuhan kedelai nasional yang setara dengan 2 juta ton per tahun dipenuhi dari impor. Indonesia mengimpor kedelai dari negara-negara yang menerapkan bioteknologi atau rekayasa genetika. Kedelai pangan rekayasa genetika (PRG) impor yang beredar di Indonesia adalah jenis tahan herbisida glifosat. Jenis kedelai PRG ini telah memperoleh surat izin peredaran dari Badan POM. Walaupun telah dinyatakan aman dan memperoleh izin edar, namun penggunaan kedelai PRG pada pembuatan tempe masih menimbulkan perbedaan pendapat terkait aspek keamanan dan kesehatan. Selain itu, terdapat isu-isu negatif seputar dampak konsumsi produk-produk kedelai, termasuk tempe terhadap kesehatan.

Penelitian ini bertujuan untuk: (1) Mengevaluasi kesepadanan mutu protein tempe PRG dan non-PRG pada tikus percobaan, (2) Mengevaluasi kesepadanan dampak konsumsi tempe PRG dan non-PRG terhadap profil darah, malonaldehida (MDA) dan superoksida dismutase (SOD) tikus percobaan dan (3) Mengevaluasi kesepadanan dampak konsumsi tempe PRG dan non-PRG terhadap profil spermatozoa tikus percobaan.

Kedelai yang digunakan untuk pembuatan tempe dalam penelitian ini adalah kedelai PRG dan kedelai non-PRG impor asal Amerika Serikat yang diperoleh dari KOPTI Bogor. Kedelai non-PRG dilengkapi dengan sertifikat bebas PRG. Kedelai diolah menjadi tempe di Rumah Tempe Indonesia, Bogor. Tempe ditepungkan, dan dianalisa proksimat sebagai dasar pembuatan ransum. Ransum dipersiapkan untuk lima kelompok perlakuan sebagai berikut: (1) Tempe PRG 10 %, (2) Tempe non-PRG 10%, (3) Tempe PRG 20%, (4) Tempe non-PRG 20%, dan (5) Kasein 10% sebagai kontrol.

Sebanyak 25 tikus putih jantan galur *Sprague dawley*, masing-masing terdiri dari lima ekor dikelompokkan ke dalam empat perlakuan dan satu kontrol di lab hewan SEAFast IPB, dimana setiap tikus ditempatkan dalam kandang individu. Penempatan ransum dengan komposisi 10% protein dari tempe mengacu kepada standar AOAC (1998). Adapun ransum dengan komposisi 20% protein dari tempe ditetapkan dengan tujuan untuk mengevaluasi dampak yang muncul jika dosis konsumsinya dinaikkan hingga dua kali lipat. Pengamatan untuk memperoleh data mutu protein dilakukan pada hari ke-28 hanya pada tiga kelompok dengan komposisi ransum 10% protein, meliputi total ransum yang dikonsumsi, penambahan berat badan, berat feses dan berat urin. Untuk mengevaluasi dampak kesehatan (profil darah, SOD, MDA & profil spermatozoa) dilakukan setelah perlakuan selama 90 hari pada seluruh kelompok perlakuan. Lamanya waktu percobaan pada tikus ini dilakukan untuk memperoleh gambaran sub-kronis yang mungkin terjadi sesuai pedoman *European Food Safety Authority* (EFSA, 2011). Pada hari ke-90, seluruh tikus dikorbankan untuk diambil darah dan organnya. Analisis hematologi meliputi pengukuran kadar hemoglobin, leukosit, trombosit, hematokrit, dan eritrosit. Parameter yang dianalisis pada serum meliputi kadar kolesterol, trigliserida, HDL, LDL, ureum, kreatinin, protein, albumin, asam urat, SGOT, dan SGPT. Organ hati dan ginjal ditimbang untuk dianalisis kadar MDA dan SOD. Organ testis ditimbang untuk dianalisis profil spermatozoa dan pewarnaan jaringan dengan Hematoksilin Eosin (HE). Data hasil analisa dan pengamatan kemudian diuji dengan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji jarak Duncan.

Hasil analisis terhadap total konsumsi dan kenaikan berat badan (BB) menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p < 0.01$) antar kelompok perlakuan. Total konsumsi ransum dan asupan protein kelompok tempe PRG lebih kecil dibanding kelompok non PRG dan kontrol. Demikian pula perubahan BB, kenaikan BB kelompok tempe PRG lebih kecil dibanding kelompok non PRG dan kontrol. Akan tetapi, perbedaan perubahan BB antar kelompok perlakuan lebih berkaitan dengan jumlah asupan ransum, bukan karena faktor mutu proteinnya. Tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p > 0.05$) antara tempe PRG, non PRG dan kontrol terhadap *Feed Conversion Efficiency* (FCE), *Protein Efficiency Ratio* (PER), *Net Protein Ratio* (NPR), *True Digestibility* (TD), *Biological Value* (BV), dan *Net Protein Utilization* (NPU). Penilaian mutu protein berdasarkan metode pertumbuhan dan metode keseimbangan nitrogen menunjukkan bahwa tempe PRG memiliki mutu protein yang sepadan dengan tempe dan non-PRG. Mutu protein tempe PRG dan non PRG dan sama baiknya dengan mutu protein kasein.

Hasil analisis hematologi menunjukkan perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap kadar hemoglobin, leukosit, trombosit, hematokrit dan eritrosit. Hasil analisis serum menunjukkan perlakuan berpengaruh secara nyata ($p < 0.05$) terhadap kadar kolesterol, ureum dan protein. Kelompok tempe PRG 10% memiliki total kolesterol lebih tinggi dibanding kelompok lainnya. Hasil analisis serum menunjukkan perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap kadar trigliserida, HDL, LDL, kreatinin, albumin, asam urat, SGOT dan SGPT. Hasil analisis terhadap organ hati dan ginjal menunjukkan perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap berat organ hati dan ginjal. Hasil ini sesuai dengan analisis albumin, trigliserida, SGPT dan SGOT yang menunjukkan semua parameter dalam rentang normal. Perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0.01$) terhadap MDA hati, dimana kelompok tempe PRG 10% dan 20% memiliki nilai MDA lebih tinggi dibanding kelompok tempe non PRG dan kontrol. Perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap MDA ginjal, SOD hati dan SOD ginjal.

Hasil analisis makroskopis organ testis dan semen menunjukkan perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap berat testis, pH, gerakan massa, motilitas spermatozoa, dan konsentrasi. Analisis mikroskopis organ testis menunjukkan perlakuan berpengaruh secara nyata ($p < 0.05$) terhadap gerakan individu dan konsentrasi. Analisis mikroskopis profil tubuli seminiferus testis menunjukkan perlakuan berpengaruh secara sangat nyata ($p > 0.01$) terhadap spermatogonium. Akan tetapi perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap spermatosit, spermatid awal, spermatid akhir, total sel spermatogenik, dan sel leydig. Hasil ini menunjukkan konsumsi tempe PRG dan non-PRG konsentrasi 10% dan 20% serta kasein memberikan hasil yang sama terhadap profil spermatozoa dan organ reproduksi tikus percobaan.

Hasil penelitian ini menyimpulkan: (1) Mutu protein tempe PRG sama dengan non-PRG dan kasein, artinya mutu protein tempe PRG sepadan dengan tempe non-PRG (2) Terdapat kesepadanan dampak konsumsi tempe PRG, non-PRG dan kasein terhadap profil darah dan SOD. Terdapat perbedaan dampak konsumsi antara tempe PRG dan non-PRG terhadap kadar kolesterol, ureum, protein, dan malonaldehida (MDA) hati tikus percobaan dan (3) Terdapat kesepadanan dampak konsumsi tempe PRG dan non-PRG terhadap profil spermatozoa secara umum dan organ reproduksi tikus percobaan. Terdapat perbedaan dampak konsumsi antara tempe PRG dan non-PRG terhadap gerakan individu, konsentrasi spermatozoa dan spermatogonium.

Kata kunci: Hematologi, MDA, SOD, Spermatozoa, Tempe PRG, Tempe Non-PRG

SUMMARY

DADI HIDAYAT MASKAR. Equivalence Evaluation of Genetically Modified (GM) Soybean Tempe and Conventional Soybean Tempe and its Consumption Impact in Mice. Supervised by HARDINSYAH, EVY DAMAYANTHI, MADE ASTAWAN and TUTIK WRESDIYATI.

Tempe and soybean processed food is food products that widely consumed and become important protein source for Indonesian people. High consumption of tempe and soybean processed food caused local soybean production can only fulfill 30% of national requirements. BPS-Statistic Indonesia data in 2013 showed that about 70% of total national soybean requirements which is equal to 2 million tons per year are fulfilled from import. Indonesia imports soybean from countries that applied biotechnology or genetic engineering. Imported genetically modified (GM) soybean distributed in Indonesia is the glyphosate herbicide resistant type, that already got approval from the National Agency of Drug and Food Control (NADFC). Although, it has been stated to be safe and obtained distribution permit, the use of GM soybean on tempe production still arise many different opinions on its safety and health aspects. There are also several negative issues about the effect of soybean products consumption, including tempe, on health.

This study was aimed to: (1) Evaluate protein quality of GM and non GM tempe on experimental rats, (2) Evaluate the consumption effect of GM and non GM tempe on blood profile, malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) level of experimental rats, and (3) Evaluate consumption effect of GM and non GM tempe on spermatozoa profile of experimental rats.

Soybean used to make tempe in this study was GM soybean imported from USA which was obtained from KOPTI Bogor. The non GM soybean supported with free GM certificate from the supplier. GM and non GM soybean was process to tempe at the Rumah Tempe Indonesia Bogor. Tempe was made into powder and proximate analysis was done as a reference to make the ration. Ration was prepared for five intervention groups which were: (1) GM Tempe 10 %, (2) Non GM Tempe 10%, (3) GM Tempe 20%, (4) Non GM Tempe 20% and (5) Casein 10% as control.

Twenty five male white rats of *Sprague Dawley* strain was grouped in four interventions and one control groups at animal laboratory in SEAFast IPB where every rat was caged individually. The determination of 10% protein composition in the ration of tempe and boiled soybean refers to AOAC standard (1998). Meanwhile, ration with 20% protein composition in tempe and boiled soybean was made to evaluate undesirable effects if consumption dosage was increased to 2-folds. Observation to obtain protein quality data was conducted on day-28 only in 3 groups with 10% protein ration composition. Data obtained including total ration consumed, weight gain, feces weight and urine weight. On the other hand, evaluation of health effects (hematology, SOD, MDA and sperm profile) were conducted after 90 days of intervention in all intervention groups. The length of experimental time on the rats was done to obtain sub-chronic overview which was possibly happened according to European Food Safety Authority (EFSA, 2011) guidelines. On the 90th day, all rats were euthanized to take their blood and organs. Hematology analysis included hemoglobin, leucocyte, thrombocyte, hematocrit, and erythrocyte levels. Serum was analyzed for cholesterol, triglyceride, HDL, LDL, ureum, creatinine, protein, albumin, uric acid, AST and ALT levels. Liver and kidney was weighed and used to analyze MDA and SOD levels. Testicle was weighed then used to analyze sperm profile and its tissue smear with

Hematoxylin Eosin (HE). Analytical and observational data then were tested statistically and continued with Duncan test.

Result analysis of the total consumption and body weight (BW) gain showed that there was significant difference ($p < 0.01$) among treatment groups on the total ration consumption, total protein intake and BW gain. The difference of BW gain was due to quantity of the protein intake rather than its quality. There was no significant difference ($p > 0.05$) among treatment groups on the Biological Value (BV), Net Protein Utilization (NPU), True Protein Digestibility (TPD), Feed Conversion Efficiency (FCE), Protein Efficiency Ratio (PER) and Net Protein Ratio (NPR). The finding suggested that the protein quality of GM tempe is substantially equivalent with non GM tempe and as good as casein protein.

Hematology analysis results showed no significant difference ($p < 0.05$) among treatment groups on the hemoglobin, leucocytes, platelet, hematocrit and erythrocytes. However there was significant difference ($p < 0.05$) on cholesterol, ureum and protein levels. The intervention groups which were given rations of 20%: GM tempe, non GM tempe, had total cholesterol values lower than other groups. This showed that consumption of tempe in high concentrations can lower cholesterol levels in the blood of rats. There was significant difference ($p < 0.05$) among treatment groups on ureum and protein level. Ureum and protein levels which is an indicator of protein metabolism was directly proportional to the concentration of protein in the ration, GM tempe 10% and non GM tempe 10% groups had lower values than the group of non GM tempe 20% and non GM tempe 20%. There was no significant difference ($p > 0.05$) among treatment groups on the levels of triglycerides, HDL, LDL, creatinine, albumin and uric acid. Analysis of the liver and kidney showed that there was no significant difference ($p > 0.05$) among treatment groups on the weight of the liver and kidney. There was highly significant difference ($p < 0.01$) among treatment groups on the MDA level in liver. However, there was no significant difference ($p > 0.05$) among treatment groups on the MDA level in kidney and SOD levels in liver and kidney.

Macroscopic analysis of the testicles and cement showed that there was no significant difference ($p > 0.05$) among treatment groups on testicle weight, pH, mass movement, motility and abnormality of the sperm. Microscopic analysis of the testicles showed that there was significant difference ($p < 0.05$) among treatment groups on individual movements and sperm concentration. Microscopic analysis of the seminiferous tubule of the testicles showed that there was highly significant difference ($p < 0.01$) among treatment groups on spermatogonium. However there was no significant difference ($p > 0.05$) among treatment groups on spermatogonia, spermatocyte, early spermatid, late spermatid, total spermatogenic and Leydig cells. This result suggested that there was no significant difference on the consumption effect between GM tempe and non GM to the spermatozoa profile of the rats.

The results of this study implied that: (1) The protein quality of GM tempe is substantially equivalent with non GM tempe (2) There was no significant difference on the consumption effect between GM and non GM tempe to the general haematological profile and SOD, but there was significant difference on cholesterol, ureum and MDA level in liver of the rats and (3) There was no significant difference on the consumption effect between GM and non GM tempe to the general profile of the experimental rats spermatozoa, except on individual movements, sperm concentration spermatogonium.

Key words: Haematology, MDA, SOD, GM Tempe, Non-GM Tempe, Spermatozoa

© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2015
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB

**EVALUASI KESEPADANAN MUTU GIZI TEMPE KEDELAI
PRG (PANGAN REKAYASA GENETIK) DAN NON-PRG SERTA
DAMPAK KONSUMSINYA PADA TIKUS PERCOBAAN**

DADI HIDAYAT MASKAR

Disertasi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Doktor
pada
Program Studi Gizi Manusia

**SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2015**

Penguji pada Ujian Tertutup: 1. Prof Dr Ir Ikeu Tanziha, MS

2. Dr Ir Hadi Riyadi, MS

Penguji pada Ujian Terbuka: 1. Dr Ir Gardjita Budi, MAgr

2. Prof Dr Ir Ikeu Tanziha, MS

Judul Disertasi: Evaluasi Kesepadanan Mutu Gizi Tempe Kedelai Pangan
Rekayasa Genetik (PRG) dan Non-PRG serta Dampak
Konsumsinya pada Tikus Percobaan

Nama : Dadi Hidayat Maskar
NIM : I162100041

Disetujui oleh
Komisi Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Hardinsyah, MS
Ketua

Prof. Dr. Ir. Evy Damayanthi, MS
Anggota

Prof. Dr. Ir. Made Astawan, MS
Anggota

Prof. drh. Tutik Wresdiyati, Ph.D. PAVet
Anggota

Diketahui oleh

Ketua Program Studi
Ilmu Gizi Manusia

Dekan Sekolah Pascasarjana

Prof. Dr. Ir Ali Khomsan, MS

Dr. Ir. Dahrul Syah, MSc. Agr

Tanggal Ujian:

Tanggal Lulus:

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Februari 2014 ini ialah Evaluasi Kesepadanan Mutu Gizi Tempe Kedelai Pangan Rekayasa Genetik (PRG) dan Non-PRG serta Dampak Konsumsinya pada Tikus Percobaan.

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya penulis sampaikan kepada Prof Dr Ir Hardinsyah, MS, sebagai Ketua Komisi Pembimbing, Prof Dr Ir Evy Damayanthi, MS, Prof Dr Ir Made Astawan, MS dan Prof drh Tutik Wresdiyati, Ph.D. PAVet sebagai Anggota Komisi Pembimbing yang tiada henti-hentinya memberikan masukan, arahan, bimbingan dan dorongan moril sejak awal perencanaan, pelaksanaan penelitian hingga tahap akhir penulisan karya ilmiah ini. Terima kasih penulis sampaikan kepada Dr Ir Sri Ana Marliati, MS, Prof Dr Ir Dedy Muchtadi dan Dr Ir Nurheni Sri Palupi, MS sebagai pembahas pada prelim lisan dan kolokium, serta Dr Ir Hadi Riyadi, MS sebagai penguji pada ujian tertutup yang telah memberikan saran dan masukan untuk disertasi ini. Terima kasih dihaturkan kepada Prof Dr Ir Ikeu Tanziha, MS sebagai penguji pada ujian tertutup dan juga sebagai komisi promosi dari luar komisi serta Dr Ir Gardjita Budi, MAgr sebagai komisi promosi luar komisi, atas koreksi dan saran yang berharga dan bermanfaat pada tulisan disertasi ini.

Ucapan terima kasih juga dihaturkan kepada Dekan Sekolah Pascasarjana IPB, Dekan Fakultas Ekologi Manusia IPB, Ketua Departemen Gizi Masyarakat, Ketua Program Studi Ilmu Gizi Manusia dan segenap dosen yang telah memberikan wawasan ilmu selama penulis mengikuti perkuliahan. Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jendral Perguruan Tinggi, yang telah memberikan bantuan dana pendidikan melalui beasiswa program BPPS, serta Pimpinan AKBID/STAI Sayid Sabiq Indramayu. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Pihak pemberi dana penelitian, yaitu Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kantor Pusat Jakarta melalui Kerjasama Kemitraan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Nasional (KKP3N) atas nama Made Astawan, dan Forum Tempe Indonesia (FTI).

Terima kasih untuk rekan-rekan seperjuangan GMA angkatan 2010: Pak Ketua Dr Nurahman, Dr Muksin Pasambuna, Dr Slamet Widodo, Dr Tetty Herta, Dr. Ainia Herminiati Dr Betty Yoshepin atas kebersamaan, bantuan, support dan saling memotivasi selama menempuh pendidikan. Kepada rekan-rekan grup pasca GM: Ibu Made Darawati, Ibu Wiwit, Ibu Tita, Ibu Trini, Mba Nunung, Mba Nurul dan rekan-rekan lain yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih kawan atas kebersamaan kita, saling membantu dan saling memotivasi, "*my honor to be part of this group*". Terima kasih kepada Jefri, Armando, Tesa, Kholid, M. Armya, Roy Boska, Aci Zarkasy, Taufiq dan Pak Iwan yang telah banyak membantu selama proses penelitian. Terima kasih kepada Mrs. Yeong Boon Yee, Bp Ali Basry, Bp. Handiman dan Dina Pramecwari dari USSEC. Terima kasih juga kepada Pak Sukhaeri dan M. Ridha dari Rumah Tempe Indonesia. Terima kasih kepada Novita Puji, Melinda, dr. Nora dan team Sprim Indonesia atas doa dan supportnya.

Terima kasih tak terhingga untuk keluarga besar Abah Maskar dan AR. Partosentono, terutama untuk ibunda tercinta Hj. Uti Fatimah dan ibunda mertua Hj. Sri Sumirat yang tiada henti-hentinya memberikan dukungan moral dan

spiritual. Pencapaian ini terutama ingin penulis persembahkan untuk Ibunda Hj. Uti Fatimah dan almarhum ayahanda tercinta Papa Maskar, yang telah mendidik dan membesarkan kami di Jalaksana, desa kecil di kaki Gunung Ciremai. Walau jauh dari keramaian, tetapi kedua orang tua kami mempunyai visi jauh kedepan, sejak dini menanamkan betapa pentingnya pendidikan bagi ke-12 anak-anaknya. Terima kasih yang tak terhingga untuk Latifah Hanum, istri tercinta, atas curahan cinta dan kasih sayang serta ananda tercinta: Andien, Naufal dan Dyaz atas dukungan dan pengertiannya selama menempuh pendidikan.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah mendukung dan membantu penulis selama penelitian dan penulisan disertasi ini. Semoga disertasi ini bermanfaat khususnya untuk penulis dan umumnya untuk semua kalangan masyarakat. *Tak ada gading yang tak retak*, demikian juga dengan penulisan disertasi ini. Saran dan kririk yang sifatnya membangun, penulis selalu nantikan.

Bogor, September 2015

Dadi Hidayat Maskar

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
1 PENDAHULUAN	9
Latar Belakang	9
Tujuan	11
Hipotesis	11
Manfaat Penelitian	11
2 TINJAUAN PUSTAKA	12
Kedelai	12
Rekayasa genetik	13
Tempe	15
Tempe dan kesehatan	17
Tempe dan asam urat	18
Tempe dan kolesterol	19
Biologi umum tikus	19
3 METODOLOGI	21
Waktu dan tempat	21
Bahan	21
Alat	21
Tahapan penelitian	22
Pengolahan dan analisis data	27
4 HASIL DAN PEMBAHASAN	28
Total konsumsi dan kenaikan berat badan	28
Mutu protein berdasarkan metode pertumbuhan	29
Mutu protein berdasarkan metode keseimbangan nitrogen	30
Analisis hematologi	31
Berat organ hati dan ginjal	37
Kadar malonaldehida dan superoksida dismutase	38
Analisis spermaozoa	39
Profil tubuli seminiferis testis	40
5 KESIMPULAN DAN SARAN	43
Simpulan	43
Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	51
RIWAYAT HIDUP	70

DAFTAR TABEL

Tabel		Hal
1	Nilai gizi kedelai kering per 100 g bahan	
	14	
2	Komposisi dan nilai gizi kedelai dan tempe per 100 g bahan	17
3	Komposisi asam amino tempe kedelai	18
4	Kelompok perlakuan tikus	22
5	Rancangan komposisi ransum percobaan	23
6	Jumlah konsumsi ransum dan kenaikan berat badan	28
7	Perbandingan nilai FCE, PER, dan NPR	30
8	Perbandingan nilai TD, BV, dan NPU	30
9	Hematologi tikus setelah 90 hari	33
10	Profil kolesterol, trigliserida, HDL dan LDL darah setelah 90 hari	34
11	Profil ureum, kreatinin, protein dan albumin darah setelah 90 hari	36
12	Profil glukosa sewaktu, asam urat, SGOT, SGPT darat setelah 90 hari	37
13	Berat organ per 100 gram bobot badan tikus percobaan	37
14	Kadar MAD dan SOD ginjal dan hati	39
15	Berat testis dan analisis makroskopis spermatozoa	39
16	Analisis mikroskopis spermatozoa	40
17	Analisis mikroskopis jaringan testis	41

DAFTAR GAMBAR

Tabel		Hal
1	Kurva pertumbuhan berat badan tikus selama 28 hari perlakuan	29
2	Foto mikroskop tubuli seminiferi testis setelah 90 hari perlakuan	41
3	Foto sel leydig	42
4	Foto sel spermatogenik	42

DAFTAR LAMPIRAN

Tabel	Hal
1 Hasil sidik ragam (ANOVA) konsumsi ransum	52
2 Hasil sidik ragam (ANOVA) asupan protein	52
3 Hasil sidik ragam (ANOVA) berat badan	53
4 Tabel data mutu protein	53
5 Hasil sidik ragam (ANOVA) FCE	53
6 Hasil sidik ragam (ANOVA) PER	54
7 Hasil sidik ragam (ANOVA) NPR	54
8 Tabel data keseimbangan nitrogen	54
9 Hasil sidik ragam (ANOVA) TD	55
10 Hasil sidik ragam (ANOVA) BV	55
11 Hasil sidik ragam (ANOVA) NPU	55
12 Hasil sidik ragam (ANOVA) hemoglobin	56
13 Hasil sidik ragam (ANOVA) leukosit	56
14 Hasil sidik ragam (ANOVA) trombosit	56
15 Hasil sidik ragam (ANOVA) hematokrit	56
16 Hasil sidik ragam (ANOVA) eritrosit	57
17 Hasil sidik ragam (ANOVA) kolesterol	57
18 Hasil sidik ragam (ANOVA) trigliserida	57
19 Hasil sidik ragam (ANOVA) HDL	58
20 Hasil sidik ragam (ANOVA) LDL	58
21 Hasil sidik ragam (ANOVA) ureum	59
22 Hasil sidik ragam (ANOVA) kreatinin	59
23 Hasil sidik ragam (ANOVA) protein	60
24 Hasil sidik ragam (ANOVA) albumin	60
25 Hasil sidik ragam (ANOVA) asam urat	61
26 Hasil sidik ragam (ANOVA) SGOT	61
27 Hasil sidik ragam (ANOVA) SGPT	61
28 Hasil sidik ragam (ANOVA) berat ginjal	62
29 Hasil sidik ragam (ANOVA) berat hati	62
30 Hasil sidik ragam (ANOVA) MDA hati	63
31 Hasil sidik ragam (ANOVA) MDA ginjal	63
32 Hasil sidik ragam (ANOVA) SOD hati	64
33 Hasil sidik ragam (ANOVA) SOD ginjal	64
34 Hasil sidik ragam (ANOVA) berat testis	64
35 Hasil sidik ragam (ANOVA) pH	65
36 Hasil sidik ragam (ANOVA) gerakan masa	65
37 Hasil sidik ragam (ANOVA) motilitas	65
38 Hasil sidik ragam (ANOVA) gerakan individu	65
39 Hasil sidik ragam (ANOVA) konsentrasi	66
40 Hasil sidik ragam (ANOVA) abnormalitas	67
41 Hasil sidik ragam (ANOVA) spermatogonium	67
42 Hasil sidik ragam (ANOVA) spermatosit primer	68
43 Hasil sidik ragam (ANOVA) spermatid awal	68
44 Hasil sidik ragam (ANOVA) spermatid akhir	68
45 Hasil sidik ragam (ANOVA) total sel spermatogenik	69
46 Hasil sidik ragam (ANOVA) sel leydig	69

1. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Pangan berbasis kedelai seperti tempe, tahu, susu kedelai, tauco, oncom dan kecap telah sejak lama menjadi bagian dari menu makanan tradisional di Asia, termasuk Indonesia. Penyumbang protein berkualitas tinggi dan asam lemak yang menguntungkan bagi kesehatan (Messina *et al*, 2011). Tempe merupakan salah satu produk olahan kedelai yang paling banyak dikonsumsi dan menjadi sumber protein yang penting bagi penduduk Indonesia. Analisa data SUSENAS 2009, menyebutkan bahwa presentase rumah tangga di Indonesia yang mengkonsumsi tempe adalah 69,89%, tahu 63,72%, kecap 42,50%, oncom 2,76, tauco 0,85% dan susu kedelai 0,90% (Hardinsyah 2010). Tingginya konsumsi tempe serta makanan olahan kedelai menyebabkan produksi kedelai lokal hanya mampu memenuhi sekitar 30% dari kebutuhan nasional. Data BPS tahun 2013 menyebutkan sekitar 70% dari total kebutuhan kedelai nasional yang setara dengan 2 juta ton per tahun dipenuhi dari impor dari negara-negara yang menerapkan bioteknologi atau rekayasa genetika.

Bioteknologi dikembangkan untuk memenuhi kebutuhan manusia akan pangan, baik dari kuantitas maupun variasinya. Bioteknologi hadir sebagai cara yang dianggap mutakhir dalam peningkatan produksi tanaman. Salah satunya yaitu rekayasa genetik yang menghasilkan tanaman transgenik dengan sifat baru seperti tanaman tahan terhadap hama, misalnya pada tanaman kedelai yang tahan terhadap herbisida. Tanaman transgenik merupakan tanaman yang telah direkayasa bentuk maupun kualitasnya melalui penyisipan gen atau DNA hewan, bakteri, mikroba, atau virus untuk tujuan tertentu, misalnya untuk memenuhi kebutuhan pasar (Karmana 2009).

Banyak perdebatan mengenai keamanan produk-produk hasil rekayasa genetik. Salah satu tolok ukur keamanan produk pangan yang digunakan secara internasional adalah kesepadanan substansial antara produk hasil rekayasa genetik dan produk konvensional. Pada awalnya, istilah kesepadanan substansial secara tidak langsung menyatakan bahwa dua bahan pangan adalah sama (ekuivalen) dalam keseluruhan karakteristiknya yang penting untuk keamanan konsumen, gizi, flavor dan tekstur. Beberapa pertanyaan yang umum diajukan terhadap keamanan produk pangan hasil bioteknologi adalah (1) akankah gen yang ditransfer dan atau derivatnya memiliki efek nutrisi, toksik, atau alergi, (2) akankah ada komponen baru yang diproduksi, (3) akankah kadar komponen yang ada berubah? Pertanyaan-pertanyaan ini harus dijawab sebelum produk hasil bioteknologi dipasarkan (Council for Biotechnology Information 2001).

Sangat sulit bagi masyarakat umum membedakan produk pangan transgenik dan yang bukan, karena perbedaan tersebut hanya bisa dilihat melalui uji laboratorium. Sementara itu informasi mengenai kesimpangsiuran keberadaan dan dampak yang ditimbulkan dari produk berbahan baku transgenik semakin beredar di masyarakat. Dalam produk pangan rekayasa genetik ini sering dicurigai keberadaan zat-zat tertentu yang dapat menimbulkan dampak negatif bagi kesehatan manusia. Salah satu bahan pangan rekayasa genetik yang diimpor dari Amerika ke Indonesia adalah kedelai, karena pemenuhan kedelai dalam negeri belum tercukupi (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian 2013).

Kedelai (*Glycine max*) adalah salah satu tanaman polong-polongan yang menjadi bahan dasar banyak makanan dari Asia Timur seperti kecap, tahu, dan tempe. Kedelai merupakan sumber utama protein nabati dan minyak nabati dunia. Penghasil kedelai utama dunia adalah Amerika Serikat, meskipun kedelai baru dibudidayakan masyarakat di luar Asia setelah tahun 1910. Konsumsi kedelai di Indonesia mencapai 2.2 juta ton per tahun, dari jumlah itu sekitar 1.6 juta ton harus diimpor (75 persen). Kacang kedelai bagi industri pangan di Indonesia banyak digunakan sebagai bahan baku pembuatan tahu, tempe dan kecap. Jenis industri yang tergolong skala kecil-menengah ini membutuhkan kedelai lebih dari 2.24 juta setiap tahunnya. Padahal kapasitas produksi nasional tahun 2011 hanya mampu menghasilkan 851 ribu ton dari areal pertanaman kedelai seluas 622 ribu hektar. Pada tahun 2011, Indonesia mengimpor kedelai segar sebanyak 2.09 juta ton. Lonjakan impor kedelai disebabkan peningkatan konsumsi produk industri rumahan tahu dan tempe sebagai substitusi untuk produk hewani (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian 2013).

Selama ini pengujian kesepadanan substansial hanya dilakukan pada produk mentah. Pengujian terhadap produk pangan terolah belum banyak dilakukan, sehingga tidak diketahui apakah kesepadanan tersebut masih bertahan setelah produk hasil rekayasa genetik diolah menjadi produk-produk turunannya. Salah satu produk hasil olahan kedelai yang paling banyak dikonsumsi di Indonesia adalah tempe. Tempe merupakan pangan tradisional khas Indonesia yang berasal dari kedelai dan sangat populer di Indonesia. Tempe dipasarkan secara luas, baik di pasar tradisional maupun pasar modern, dan dikonsumsi oleh lebih dari separuh penduduk. Saat ini tempe juga dipertimbangkan sebagai pangan fungsional (*functional food*) karena kandungan gizi dan substansi aktifnya yang bermanfaat bagi kesehatan. Sebagai pangan tradisional, tempe mempunyai komposisi gizi yang jauh lebih baik dibanding kedelai (Astawan 2008).

Tempe yang ada di pasaran selama ini sebagian besar menggunakan kedelai yang diimpor dari Amerika Serikat. Jenis kedelai yang digunakan dalam pembuatan tempe di Indonesia adalah kedelai PRG (Produk Rekayasa Genetik).

Penggunaan kedelai PRG sebagai bahan dasar tempe di Indonesia sudah dilakukan sejak lama. Walaupun telah dinyatakan aman dan telah memperoleh izin edar dari BPOM, namun penggunaan kedelai PRG pada pembuatan tempe masih menimbulkan perbedaan pendapat terkait aspek keamanan dan kesehatan. Selain itu, terdapat isu-isu negatif seputar dampak konsumsi produk-produk kedelai, termasuk tempe, terhadap kesehatan, seperti memicu kenaikan asam urat, memicu *feminisme* pada pria, dan sebagainya.

Tempe kaya akan kandungan protein dan asam amino esensial memiliki banyak manfaat bagi tubuh. Selain itu, tempe merupakan makanan tradisional asli Indonesia yang merupakan warisan budaya bangsa. Beberapa persepsi negatif yang beredar di masyarakat mengenai dampak konsumsi tempe dapat mengurangi makna dari tempe sebagai makanan yang penting bagi masyarakat Indonesia.

Dasar pemikiran di atas menarik penulis untuk meneliti kesepadanan mutu gizi tempe PRG dan non-PRG serta dampak konsumsinya pada tikus percobaan.

Tujuan

Tujuan Umum

Mengevaluasi kesepadanan mutu gizi tempe PRG dan non-PRG serta dampak konsumsinya terhadap profil kesehatan tikus percobaan.

Tujuan Khusus

1. Mengevaluasi kesepadanan mutu protein tempe PRG dan non-PRG pada tikus percobaan, terkait nilai gizi tempe
2. Mengevaluasi kesepadanan dampak konsumsi tempe PRG dan non-PRG terhadap profil darah, malondialdehida (MDA) dan superoksida dismutase (SOD) tikus percobaan, terkait aktivitas antioksidan tempe
3. Mengevaluasi kesepadanan dampak konsumsi tempe PRG dan non-PRG terhadap profil spermatozoa tikus percobaan, terkait isu feminisme akibat konsumsi tempe.

Hipotesis

1. Terdapat kesepadanan mutu protein tempe PRG dengan non-PRG, terkait nilai gizi tempe
2. Tidak ada pengaruh konsumsi tempe PRG dan non-PRG dengan konsentrasi 10% dan 20% terhadap profil darah, malondialdehida (MDA) dan superoksida dismutase (SOD) tikus percobaan, terkait aktivitas antioksidan tempe
3. Tidak ada pengaruh konsumsi tempe PRG dan non-PRG dengan konsentrasi 10% dan 20% terhadap profil spermatozoa tikus percobaan, terkait isu feminisme akibat konsumsi tempe

Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat luas tentang keamanan dari tempe berbahan dasar kedelai PRG, serta memberikan tambahan pustaka dan pengetahuan mengenai mutu gizi tempe berbahan dasar kedelai PRG. Di samping itu, penelitian ini juga diharapkan memberikan kontribusi untuk pengembangan ilmu pengetahuan bidang gizi kesehatan.

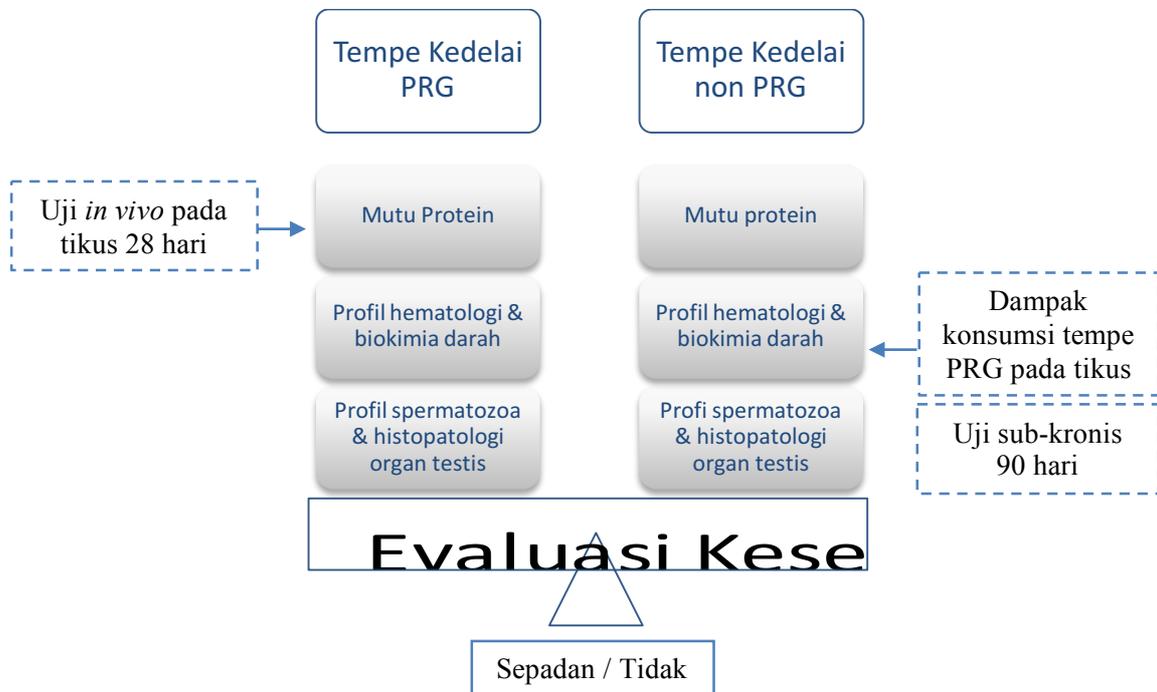
Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini meliputi: (1) pembuatan tempe yang kemudian ditepungkan dan dianalisis proksimat, (2) uji in vivo selama 28 hari pada tikus percobaan untuk mengkaji kesepadanan mutu protein, (3) uji sub-kronis pada tikus percobaan selama 90 hari untuk mengkaji dampak yang mungkin timbul terhadap profil hematologi dan biokimia darah, malondialdehida (MDA) dan superoksida dismutase (SOD) tikus percobaan (3) analisis mikroskopis profil spermatozoa dan

analisis histopatologi pada organ testis tikus percobaan untuk mengkaji dampak konsumsi tempe PRG dan non PRG terhadap profil spermatozoa.

Kerangka Pikir Penelitian

Tempe merupakan salah satu produk olahan kedelai yang paling banyak dikonsumsi dan menjadi sumber protein yang penting bagi penduduk Indonesia. Sebagian besar kedelai yang digunakan dalam proses pembuatan tempe adalah kedelai PRG. Terdapat berbagai persepsi mengenai dampak konsumsi tempe PRG terhadap kesehatan. Mengingat pentingnya tempe bagi masyarakat Indonesia, perlu dilakukan evaluasi kesepadanan antara tempe kedelai PRG dan non PRG. Untuk mengevaluasi dampak yang mungkin timbul dilakukan uji sub-kronis selama 90 hari pada tikus percobaan dengan konsentrasi 10% dan 20% protein berasal dari tempe PRG dan non PRG.



Gambar 1 Kerangka Pikir Penelitian

2. TINJAUAN PUSTAKA

Pangan Rekayasa Genetik dan Aspek Keamanan Pangan

Secara tradisional, pemuliaan tanaman dan rekayasa genetik sebenarnya telah dilakukan oleh para petani melalui proses penyilangan dan perbaikan tanaman. Tanaman hasil rekayasa genetik mempunyai potensi manfaat yang besar, karena dapat meningkatkan produktivitas, memperbaiki gizi, memperbaiki kesehatan dengan mengintroduksi vaksin ke dalam tanaman, serta mengurangi penggunaan pupuk dan pestisida. Kedelai hasil rekayasa genetik dapat dibuat mengandung lebih banyak protein dan zat besi untuk mengatasi anemia. Ilmuwan di Eropa sudah berhasil memasukkan karoten di padi (Karmana, 2009).

Teknologi rekayasa genetik telah berkembang pesat dan telah memberikan manfaat antara lain dalam menghasilkan pangan rekayasa genetik (PRG). PRG seperti tanaman transgenik telah dimanfaatkan sebagai bahan pangan. Pangan yang berasal dari PRG biasa dikenal sebagai pangan PRG. Menurut penelitian organisasi ISAA (2006), penanaman produk rekayasa genetik merupakan satu-satunya teknologi pertanian yang digunakan secara luas oleh petani sehingga mengalami peningkatan yang pesat setiap tahunnya. Dengan tanaman hasil rekayasa genetik, petani menjadi lebih puas terhadap produk pertanian, karena produk ini telah memberikan berbagai keuntungan bagi petani, seperti memberikan hasil yang meningkat, memudahkan budidaya pertanian, serta lebih ramah lingkungan karena berkurangnya penggunaan bahan-bahan pestisida kimiawi.

Sejak dilepas pada tahun 1996 untuk tujuan komersialisasi, telah terjadi peningkatan luas areal penanaman produk bioteknologi atau produk rekayasa genetik (PRG) secara global, yaitu dari 1.7 juta ha menjadi 114.7 juta ha pada tahun 2007. Produk bioteknologi ditanam di 23 negara yang terdiri atas 11 negara industri dan 12 negara berkembang. Luas tanam PRG paling tinggi di dunia adalah di Amerika Serikat, disusul Argentina dan Brazil. Tanaman produk bioteknologi yang ditanam dalam skala luas adalah kedelai, jagung, kapas dan kanola. Kedelai transgenik menempati urutan pertama sebagai produk bioteknologi hasil rekayasa genetik paling banyak ditanam (Darmasiwi 2007).

Di luar negeri telah dikeluarkan petunjuk dan rekomendasi mengenai bioteknologi dan keamanan pangan. Misalnya di Amerika Serikat keamanan pangan termasuk produk rekayasa genetika ditangani oleh suatu badan yaitu *Food and Drug Administration* (FDA). Badan ini membuat pedoman keamanan pangan yang bertujuan untuk memberikan kepastian bahwa produk baru (termasuk yang berasal dari hasil rekayasa genetik) sebelum dikomersialkan produk tersebut harus aman untuk dikonsumsi. FDA akan melakukan telaah ulang terhadap produk asal tanaman transgenik apabila terdapat keluhan atau pengaduan dari publik yang disertai dengan data yang bersifat ilmiah. Gen yang ditransfer pada tanaman menghasilkan tanaman transgenik oleh FDA disepadankan dengan *food additive* yang harus dievaluasi kesepadanan substansialnya (FAO/WHO 2000).

Tanaman transgenik direkayasa pertama kali pada tahun 1980-an, melalui proses mentransfer faseolin dari kacang-kacangan ke kromosom bunga matahari. Perkembangan lebih lanjut telah memungkinkan untuk melakukan transformasi genetik ke eksplan yang mampu beregenerasi seperti daun, batang dan akar.

Terobosan terakhir dalam hal meregenerasikan tanaman monocot transgenik telah menghilangkan penghambat utama dalam usaha untuk perbaikan sifat tanaman sereal. Pada kedelai hasil rekayasa genetik atau kedelai transgenik, gen bakteri tanah *Bacillus thuringiensis Sp.* atau sering disebut Bt digunting dan direkatkan pada gen kedelai untuk membuat kedelai tahan hama. Di alam, bakteri Bt menghasilkan senyawa yang bisa membunuh larva serangga tertentu. Mengawinkan gen Bt dengan gen kedelai akan membuat tanaman menghasilkan pestisidanya sendiri. Rekayasa genetik membuat kedelai transgenik didesain untuk tahan terhadap herbida (Anderson & Krathwohl 2001).

Organisasi kesehatan dunia (WHO) menyebutkan bahwa teknik rekayasa genetik pada pangan pada dasarnya tidak menunjukkan hasil yang kurang aman dibandingkan dengan kedelai konvensional (FAO/WHO 2000). Kenyataannya, proses bioteknologi yang menghasilkan pangan rekayasa genetik cenderung untuk mengurangi resiko karena mereka telah memperhitungkan segalanya lebih tepat dan juga telah memprediksi hasilnya (NIH 1992). *European Commission's Joint Research Centre* (2008) menyebutkan bahwa berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, kedelai hasil rekayasa genetik tidak menunjukkan efek negatif terhadap kesehatan dan belum pernah ada laporan mengenai hal tersebut. Kedelai PRG telah menggunakan teknologi yang tepat dan regulasi yang lebih besar menyebabkan produk PRG ini bahkan lebih aman dibandingkan pangan konvensional.

Jenis kedelai yang paling banyak digunakan adalah kedelai *Roundup Ready* atau biasa disebut dengan kedelai RR. Kedelai jenis ini adalah kedelai yang toleran terhadap senyawa aktif *glyphosate* yang terdapat dalam herbisida. Pengembangan tanaman ini dimulai pada awal tahun 1980-an. Persetujuan untuk komersialisasi kedelai toleran *glyphosate* diberikan oleh FDA dan USDA pada tahun 1994 dan oleh EPA pada tahun 1995. Kedelai *Roundup Ready* pertama kali dibuat untuk ditanam oleh petani di U.S pada tahun 1996 (Carpenter 2001).

Kedelai jenis ini dinilai tidak memiliki efek yang merugikan pada organisme yang bukan sasarannya. Enzim EPSPS (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) yang ada pada tanaman dan mikroorganisme, secara alami dapat kita temukan pada makanan dan pakan. Tidak ada efek yang ditimbulkan pada organisme yang tidak diharapkan. *Glyphosate* toleran terhadap EPSPS yang dimasukkan kedalam kedelai tidak menunjukkan sifat beracun. Observasi lapang menunjukkan tidak ada efek negatif pada organisme yang bukan target, termasuk serangga, burung, atau spesies lain (USDA APHIS 1994).

Kedelai

Kedelai merupakan tanaman polong-polongan yang menurut para ahli botani berasal dari daerah Asia Timur yaitu Manchuria dan sebagian Cina. Kedelai merupakan sumber utama protein dan minyak nabati yang kini sudah diproduksi luas di luar Asia, terutama Amerika yang merupakan produsen utama kedelai di dunia. Di Indonesia, kedelai merupakan komoditas tanaman pangan terpenting ketiga setelah padi dan jagung (Cahyadi 2007).

Kedelai yang banyak dikenal dewasa ini termasuk dalam genus *Glycine* dan spesies *max* sehingga dalam bahasa latinnya disebut *Glycine max*. Selain itu terdapat pula *Glycine soja* yang dikenal dengan kedelai hitam karena bijinya berwarna hitam. Beberapa kultivar kedelai putih budidaya Indonesia, di antaranya

adalah 'Ringgit', 'Orba', 'Lokon', 'Davros', dan 'Wilis'. "Edamame" adalah sejenis kedelai berbiji besar berwarna hijau yang belum lama dikenal di Indonesia dan berasal dari Jepang. Ditinjau dari aspek gizinya, kedelai merupakan sumber protein yang mudah diakses, di samping mengandung minyak dengan mutu yang baik. Beberapa varietas kedelai di Indonesia mempunyai kadar protein berkisar antara 30.53 - 44 persen dan kadar lemaknya berkisar antara 7.50 - 20.90 persen (Koswara 2006).

Tanaman kedelai tumbuh baik pada tanah dengan pH 4.5 pada ketinggian tidak lebih dari 500 m di atas permukaan laut serta iklim panas dan curah hujan rata-rata 200 mm/bulan. Umur tanaman kedelai berbeda-beda tergantung varietasnya, tetapi umumnya berkisar antara 75-105 hari. Di dunia diperkirakan sekitar 40 persen kedelai digunakan sebagai bahan pangan, khususnya di Asia Timur dan Tenggara, 55 persen sebagai pakan ternak, dan 5 persen sebagai bahan baku industri, khususnya di negara-negara maju (Boga 2005).

Di Indonesia, kebutuhan akan kedelai semakin meningkat seiring dengan pertumbuhan jumlah penduduk dan kebutuhan bahan industri olahan pangan seperti tahu, tempe, kecap, susu kedelai, tauco, snack, dan sebagainya. Konsumsi kedelai per kapita pada tahun 2011 sebesar 8.63 kg, meningkat menjadi 8.73 kg pada tahun 2012. Hal ini menunjukkan bahwa kebutuhan akan kedelai cenderung meningkat (Departemen Pertanian 2012). Tingginya konsumsi tempe serta makanan olahan kedelai menyebabkan produksi kedelai lokal hanya mampu memenuhi sekitar 30% dari kebutuhan nasional. Data BPS tahun 2013 menyebutkan sekitar 70% dari total kebutuhan kedelai nasional yang setara dengan 2 juta ton per tahun dipenuhi dari impor. Indonesia mengimpor kedelai dari negara-negara yang menerapkan bioteknologi atau rekayasa genetika. Kedelai pangan rekayasa genetika (PRG) impor yang beredar di Indonesia adalah jenis tahan herbisida glifosat. Jenis kedelai PRG ini telah memperoleh surat izin peredaran dari Badan POM. Menurut Balai Kliring Keamanan Hayat Indonesia, terdapat dua jenis kedelai PRG yang telah memperoleh surat izin peredaran di Indonesia, yaitu Kedelai Event GTS 40-3-2 (Tahan herbisida glifosat) berdasarkan surat Kepala Badan POM No: HK.04.1.52.04.11.03588 Tahun 2011 tentang Izin Peredaran Pangan Komoditas Kedelai PRG Event GTS 40.3-2. Kedelai Event MON 89788 (Tahan herbisida glifosat), berdasarkan surat Kepala Badan POM No: HK 04.1.52.04.11.03589 Tahun 2011 tentang Izin Peredaran Pangan Komoditas Kedelai PRG Event MON 89788 (BKKH, 2011).

Kedelai PRG *event* MON 87705 merupakan produk kedelai dengan perubahan asam lemak dengan tujuan meningkatkan nilai gizi. Kedelai PRG *event* MON 87705 memiliki kurang dari setengah asam lemak jenuh minyak kedelai non PRG, sehingga profil asam lemak tidak jenuhnya mirip dengan minyak zaitun dan minyak canola. Kedelai PRG *event* MON 87705 ditransformasi untuk menekan gen *FAD2* dan *FATB* yang menyandi dua enzim utama dalam jalur biosintesis asam lemak sehingga terjadi penurunan kadar asam palmitat (C16:0), peningkatan kadar asam oleat (C18:1) dan penurunan kadar asam lemak tidak jenuh jamak. Kedelai PRG *event* MON 87705 juga mengandung gen *5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase* yang berasal dari *Agrobacterium* sp. strain *cp4* (*CP4 EPSPS*) yang menyandi protein *CP4 EPSPS*. *Agrobacterium* sp. strain *cp4* adalah mikroba yang umum dijumpai di tanah dan di *rizhofir* tanaman, tidak patogen terhadap manusia atau hewan, dan tidak bersifat alergenik (FAO/WHO, 1991). Selain itu,

menurut FAO/WHO (2001), tidak ada populasi individu yang diketahui peka terhadap protein bakteri ini (Padgett *et al.*, 1996; FAO/WHO, 1991; FAO/WHO, 2001). RNA yang disisipkan untuk menekan gen *FATB* dan *FAD2* pada kedelai PRG event MON 87705 adalah asam nukleat yang mempunyai riwayat penggunaan yang aman (U.S. FDA, 1992). Beberapa produk tanaman hasil bioteknologi yang sebelumnya disetujui U.S. FDA, dikembangkan dengan menggunakan mekanisme berbasis RNA *interference*, termasuk pepaya tahan patogen virus, kedelai oleat tinggi, labu tahan patogen virus, tomat FLAVR SAVR, plum tahan patogen virus, dan kentang pati tinggi. Selain di Indonesia, kedelai PRG event MON 87705 telah memperoleh sertifikat aman pangan di 4 negara yaitu Amerika (2011), Australia (2011), Kanada (2011), dan Meksiko (2011).

Kedelai PRG event GTS 40-3-2 merupakan produk kedelai pertama yang mengandung protein CP4 EPSPS yang bertanggung jawab dalam toleransi terhadap herbisida glifosat. Gen EPSPS (5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase) berasal dari *Agrobacterium tumefaciens* strain CP4. Kedelai PRG event GTS 40-3-2 mengandung satu gen interes yaitu CP4 EPSPS. EPSPS adalah 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase yang bertanggung jawab dalam toleransi terhadap herbisida glifosat. Promoter yang digunakan adalah CaMV-35S (35S dari cauliflower mosaic virus), dengan terminator NOS (nopaline synthase) dari *Agrobacterium tumefaciens*. Padgett *et al.* (1996) yang melakukan pengkajian kesepadanan substansial kedelai PRG event GTS 40-3-2 secara lengkap melaporkan bahwa kedelai PRG event GTS 40-3-2 sepadan secara substansial dengan kedelai non PRG.

Komposisi Kedelai

Kedelai merupakan sumber protein yang paling baik di antara jenis kacang-kacangan. Di samping itu, kedelai juga dapat digunakan sebagai sumber lemak, vitamin, mineral, dan serat. Komposisi rata-rata kedelai dalam bentuk biji kering dapat dilihat dalam Tabel 1. Biji kedelai terdiri dari 7.30 persen kulit, 90.30 persen kotiledon, dan 2.40 persen hipokotil (Koswara 2006).

Produk berbahan dasar kedelai memiliki kandungan gizi yang tinggi. Kandungan protein yang terdapat pada kedelai tergolong dalam jenis yang mudah dicerna dan juga memiliki nilai *protein efficiency ratio* (PER) yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan protein hewani (Imran *et al.* 2003). Selain mengandung senyawa yang berguna, ternyata pada kedelai terdapat juga senyawa antigizi dan senyawa penyebab *off flavor*. Senyawa antigizi yang terdapat pada kedelai antara lain antitripsin, hemaglutinin, asam fitat, dan oligosakarida penyebab flatulensi. Timbulnya bau langu pada kedelai diakibatkan oleh aktifitas enzim lipoksigenase atau lipoksidase yang terdapat dalam biji kedelai. Enzim tersebut menghasilkan *etil vinil* keton yang menyebabkan rasa dan bau langu. Dalam pengolahan, senyawa-senyawa tersebut harus dinaktifkan terlebih dahulu agar diperoleh mutu produk yang baik. Proses *pretreatment* seperti perendaman, pengupasan (*dehulling*), pemasakan (*cooking*), dan proses fermentasi dilakukan untuk mengurangi senyawa-senyawa antigizi. Sebagian besar senyawa antitripsin tanaman dapat dirusak oleh pemanasan (Astawan 2009).

Penelitian yang dilakukan Egounlety dan Aworh (2003) menunjukkan pemasakan dapat secara signifikan mengurangi tripsin inhibitor, proses *dehulling*

dapat menghilangkan tanin, dan fermentasi dapat mengurangi asam fitat hingga 30.7 persen. Proses *pretreatment* dan fermentasi juga mengurangi stakiosa dan rafinosa, yang merupakan oligosakarida penyebab flatulensi.

Tempe

Tempe merupakan makanan tradisional Indonesia yang merupakan hasil fermentasi kedelai atau beberapa bahan lainnya. Tempe dibuat dari biji kedelai yang difermentasi dengan bantuan ragi (Boga 2005). Ragi yang terdapat dalam pembuatan tempe adalah *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus chlamdosporus*, dan *Rhizopus arrhizus*. *Rhizopus oligosporus* lebih banyak mensintesis enzim pemecah protein (protease) dan *Rhizopus oryzae* lebih banyak mensintesis enzim pemecah pati (alfa amilase) selama proses fermentasi. Kedua jenis ragi tersebut digunakan dalam pembuatan tempe dengan kadar *Rhizopus oligosporus* lebih banyak atau dengan perbandingan 1:2 (Astawan 2008). Standar Nasional Indonesia atau SNI (2009) menyatakan bahwa tempe merupakan produk yang diperoleh dari fermentasi biji kedelai dengan menggunakan ragi *Rhizopus sp.*, berbentuk padatan kompak, berwarna putih sedikit keabu-abuan, dan berbau khas tempe.

Tempe adalah makanan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia (Astuti *et al.* 2003). Tempe biasa diolah menjadi tempe goreng, keripik tempe, dan tempe bacem. Beberapa negara telah mengembangkan inovasi produk olahan tempe, seperti pengalengan tempe, sosis tempe, nugget tempe, dan lain-lain (Astawan 2008). Tempe telah merambah ke lima benua. Tempe mulai populer di Eropa pada tahun 1946 melalui negeri Belanda. Perusahaan tempe pada tahun 1984 di Eropa tercatat sebanyak 18 perusahaan, Amerika sebanyak 53 perusahaan, dan Jepang sebanyak 8 perusahaan (Boga 2005). Tempe juga sudah mulai dikenal di beberapa negara lain, seperti Cina, India, Taiwan, Srilanka, Kanada, Australia, Amerika Latin, dan Afrika, walaupun masih dalam kalangan terbatas. Indonesia merupakan negara produsen tempe terbesar di dunia dan menjadi pasar kedelai terbesar di Asia. Sebanyak 50 persen kedelai Indonesia dikonsumsi dalam bentuk tempe, 40 persen dalam bentuk tahu, dan 10 persen dalam bentuk produk lain (seperti tauco, kecap, dll). Konsumsi tempe rata-rata per orang per tahun di Indonesia saat ini diduga sekitar 7.5 kg. Penduduk Indonesia yang cukup banyak mengonsumsi tempe adalah Daerah Istimewa Yogyakarta, Jawa Tengah, Jawa Timur, Jawa Barat, Lampung, dan DKI Jakarta (Astawan 2009).

Tempe memiliki komposisi gizi yang lebih baik daripada kedelai. Kandungan komposisi zat gizi tempe rata-rata dalam 100 gram adalah 201 kkal energi, 64 g air, 20.8 g protein, 8.8 g lemak, 13.5 g karbohidrat, 155 mg kalsium, 326 mg fosfor, dan 4 mg zat besi. Perbandingan komposisi dan nilai gizi kedelai dan tempe dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Komposisi dan nilai gizi kedelai dan tempe per 100 g bahan

Faktor Mutu Gizi	Kedelai Rebus	Tempe
Padatan terlarut (persen)	14	34
Nitrogen terlarut (persen)	6.5	39
Asam amino bebas (persen)	0.5	7.3-12
Asam lemak bebas (persen)	0.5	21
Nilai cerna (persen)	75	83
Nilai efisiensi protein	1.6	2.1
Skor kimia	75	78

Sumber : Astawan (2009)

Ragi tempe menghasilkan enzim-enzim pencernaan, seperti amilase, lipase, dan protease. Enzim-enzim pencernaan tersebut mempermudah karbohidrat, lemak, dan protein untuk dicerna di dalam tubuh (Astawan 2009). Protein kedelai dipecah menjadi asam amino dan peptida yang lebih kecil, serta larut dalam air selama proses fermentasi tempe. Hal ini menjadikan tempe sebagai pangan sumber protein nabati esensial. Kandungan beberapa asam amino dalam tempe kedelai dapat dilihat dalam Tabel 2. Fermentasi kedelai selama 48 jam akan meningkatkan jumlah asam lemak bebas dari 1 persen dalam kedelai menjadi 30 persen setelah menjadi tempe. Asam lemak yang dominan pada tempe adalah asam lemak tidak jenuh yaitu sekitar 80 persen dari total asam lemak. Asam lemak tidak jenuh tersebut bersifat esensial yang berarti tidak disintesis dalam tubuh dan harus diperoleh dari makanan. Asam lemak tidak jenuh esensial dominan yang terdapat dalam tempe adalah asam linoleat, asam oleat, dan asam linolenat (Utari *et al.* 2010). Asam lemak tidak jenuh mempunyai efek penurunan kandungan kolesterol dalam serum sehingga dapat menetralkan efek negatif kolesterol tubuh (Astawan 2009).

Tabel 2 Komposisi asam amino tempe kedelai

Asam Amino	Kadar (mg/g nitrogen total)
Isoleusin	333
Leusin	529
Lisin	370
Sistin	100
Fenilalanin	305
Treonin	245
Valin	332
Arginin	407
Histidin	169
Alanin	283
Asam Aspartat	715
Asam Glutamat	987
Glisin	266
Prolin	308

Sumber : Liu (1997)

Dua kelompok vitamin yang terdapat dalam tempe adalah vitamin larut air (vitamin B kompleks) dan vitamin larut lemak (vitamin A, D, E, dan K). Tempe merupakan sumber vitamin B yang sangat potensial. Jenis vitamin yang terkandung

dalam tempe adalah vitamin B1 (thiamin), vitamin B2 (riboflavin), asam pantotenat, asam nikotinat (niasin), vitamin B6 (piridoksin), dan vitamin B12 (sianokobalamin). Selama fermentasi, vitamin B12 jumlahnya meningkat sampai 33 kali, riboflavin meningkat 847 kali, piridoksin meningkat 4-14 kali, niasin meningkat 2-5 kali, biotin meningkat 2-3 kali, asam folat meningkat 4-5 kali, dan asam pantotenat meningkat 2 kali. Keberadaan vitamin B12 dalam tempe adalah sangat istimewa karena vitamin B12 umumnya terdapat pada produk-produk hewani dan tidak dijumpai pada makanan nabati (sayuran, buah-buahan, dan biji-bijian). Kenaikan jumlah vitamin B12 merupakan kenaikan yang paling mencolok pada pembuatan tempe sehingga tempe menjadi satu-satunya sumber vitamin B12 yang potensial dari bahan pangan nabati. Kadar vitamin B12 dalam tempe berkisar antara 1.5 sampai 6.3 mikrogram per 100 gram tempe kering. Jumlah ini telah dapat mencukupi kebutuhan vitamin B12 satu orang per hari. Vitamin B12 sangat diperlukan dalam pembentukan sel-sel darah merah karena kekurangan vitamin ini akan mengakibatkan terjadinya anemia pernisiiosa (Astawan 2009).

Tempe dan Kesehatan

Tempe memiliki keunggulan dari segi gizi dan manfaat untuk kesehatan. Mutu protein, kandungan vitamin, dan aktivitas antioksidan tempe menjadikannya lebih unggul secara gizi dibandingkan dengan produk pangan lain. Tempe juga memiliki kandungan asam amino yang lengkap. Tempe mengandung delapan macam asam amino esensial meliputi isoleusin, leusin, lisin, fenilalanin, treonin, triptofan, valin, dan metionin. Lisin merupakan asam amino yang paling banyak terkandung dalam tempe dan metionin merupakan asam amino pembatas (Liu, 1997). Tempe mengandung berbagai gizi yang diperlukan oleh tubuh seperti protein, lemak, karbohidrat, dan mineral. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa zat gizi tempe lebih mudah dicerna, diserap, dan dimanfaatkan tubuh. Hal ini dikarenakan kapang yang tumbuh pada kedelai menghidrolisis senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana yang mudah dicerna oleh manusia. Tempe juga memiliki kandungan zat yang berkhasiat sebagai antibiotik yaitu senyawa peptida berantai pendek yang diproduksi oleh kapang *Rhizopus sp.* Senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif secara efektif (Syarief *et al.* 1999).. Penelitian-penelitian mutakhir menunjukkan bahwa tempe mengandung senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam tubuh manusia, yaitu isoflavon berupa daidzein dan genestein (Haron *et al.* 2009). Isoflavon dalam tubuh manusia bermanfaat sebagai antioksidan, antikanker, antiosteoporosis, dan hipokolesterolemik (Messina *et al.* 2006).

Tempe dan Asam Urat

Asam urat atau *gout arthritis* adalah penyakit yang disebabkan oleh metabolisme abnormal purin yang ditandai dengan meningkatnya kadar asam urat dalam darah. Hal ini diikuti dengan terbentuknya timbunan kristal berupa garam urat di persendian yang menyebabkan peradangan sendi pada lutut dan/ atau jari. Setiap hari orang dewasa membuang 700 mg asam urat melalui ginjal, sedangkan cadangan asam urat yang tersimpan dalam tubuh kurang lebih 1.000 mg. Penderita asam urat memproduksi asam urat berlebihan sehingga yang tersimpan dalam

cadangan meningkat menjadi 3-15 kali dibandingkan dalam keadaan normal. Asam urat adalah produk terakhir dari purin. Purin menggabungkan nitrogen dengan gula residu sehingga menghasilkan nukleosida yang kemudian diubah lagi menjadi nukleotida. Purin juga dapat ditemukan sebagai basa bebas. Manusia mengubah nukleosida, adenosine dan guanine menjadi asam urat (Murray *et al.* 2003).

Banyak orang yang menganggap kedelai dan produk-produk olahannya sebagai penyebab utama kenaikan asam urat dalam darah. Salah satu penyebab asam urat adalah konsumsi makanan yang mengandung purin. Makanan yang mengandung kadar purin tinggi di antaranya adalah daging merah, jeroan (seperti babat, usus, paru, otak, hati, dan ginjal) dan melinjo. Pangan asal kedelai umumnya memiliki kandungan purin sedang, yaitu berkisar 50-100 mg/100 g. Tempe adalah salah satu hasil olah dari kedelai yang memiliki kadar purin sedang. Selama ini sebagian orang menganggap bahwa konsumsi kacang-kacangan dan hasil olahannya termasuk tempe sebaiknya dibatasi atau dikurangi konsumsinya. Penelitian yang dilakukan oleh Yu *et al.* (2008) di Cina menunjukkan hasil yang berbanding terbalik dengan anggapan yang ada. Penelitian yang mencakup 2.176 orang dewasa di Taiwan, 987 orang (45 persen) pria dan 1.189 orang (55 persen) wanita, tidak memberikan bukti bahwa mengkonsumsi pangan berbahan kedelai menyebabkan kadar asam urat menjadi lebih tinggi.

Hasil penelitian yang dilakukan tersebut berbanding lurus dengan penelitian yang dilakukan oleh Chavarro *et al.* (2008) yang menyebutkan bahwa pria yang mengonsumsi produk kedelai lebih sedikit akan memiliki risiko lebih tinggi mengalami kadar asam urat tinggi.

Tempe dan Kolestrol

Penelitian terkini menunjukkan tempe memiliki keunggulan fungsional di antaranya dapat menurunkan kolesterol (Brata-Arbai 2001) dan memiliki aktivitas antioksidan yang berpotensi mencegah penyakit degeneratif (Astuti 2008). Fermentasi yang terjadi pada kedelai akan meningkatkan jumlah asam lemak bebas, salah satunya adalah asam lemak linolenat (Bisping *et al.* 1993). Dari segi gizi, kenaikan asam lemak linolenat ini menguntungkan karena merupakan asam lemak tidak jenuh esensial. Lemak yang terkandung dalam tempe tidak mengandung kolesterol sehingga menguntungkan bagi orang yang melakukan diet.

Efek isoflavon terhadap penurunan kolesterol terbukti tidak saja pada hewan percobaan seperti tikus dan kelinci, tetapi juga manusia. Pada penelitian dengan menggunakan tepung kedelai sebagai perlakuan, menunjukkan bahwa tidak saja kolesterol yang menurun, tetapi juga trigliserida VLDL (*very low density lipoprotein*) dan LDL (*low density lipoprotein*). Di sisi lain, tepung kedelai dapat meningkatkan HDL (*high density lipoprotein*). Mekanisme lain penurunan kolesterol oleh isoflavon dijelaskan melalui pengaruh peningkatan katabolisme sel lemak untuk pembentukan energi yang berakibat pada penurunan kandungan kolesterol (Koswara 2006).

Kedelai dan produk olahannya dapat menurunkan kadar LDL kolesterol hingga 30 persen (Jenkins *et al.* 2002). Penelitian yang dilakukan oleh Apsari (2007) menunjukkan terdapat pengaruh yang sangat nyata pada pemberian tempe kedelai terhadap kadar kolesterol total, kolesterol LDL, dan trigliserida, kecuali

pada parameter kolesterol HDL. Dosis tempe kedelai terbaik dalam menurunkan kadar kolesterol darah adalah 25 gram. Penelitian yang dilakukan oleh Purwantiastuti (2007) juga menyebutkan bahwa peningkatan asupan tempe sangat berhubungan dengan penurunan nilai lipid peroksida. Selain itu juga, terdapat hubungan negatif yang signifikan antara jumlah konsumsi tempe dan nilai LDL pada orang usia lanjut ($p=0.05$; $r=-0.117$). Disimpulkan konsumsi tempe paling sedikit 7 potong seminggu sangat berhubungan dengan nilai lipid peroksida dan kolesterol LDL yang rendah.

Biologi Umum Tikus

Tikus laboratorium yang banyak digunakan dalam penelitian adalah *Rattus norvegicus* dan berasal dari galur albino Norway. Peternakan tikus pertama didirikan pada tahun 1925 oleh Mr. Robert Worthington Dawley (1897-1949). Ahli kimia-fisika Universitas Wisconsin ini memberi nama galur tikus dari kombinasi nama gadis istrinya (*Sprague*) dengan namanya sendiri sehingga membentuk nama *Sprague-Dawley*. Galur *Sprague-Dawley* dikembangkan dari hibridisasi tikus jantan yang memiliki ukuran dan tenaga luar biasa dan secara genetik berwarna setengah putih. Tikus jantan ini dikawinkan dengan tikus betina putih galur Douredoure yang mungkin berasal dari Wistar selama tujuh generasi. Seleksi dilakukan untuk mempertahankan atau mendapatkan karakteristik unggul seperti laktasi tinggi, pertumbuhan cepat, kuat, temperamen baik, dan resistan tinggi terhadap arsenik trioksida (Suckow *et al.* 2006).

Tikus termasuk ke dalam ordo Rodentia dan family Muridae. Tikus dewasa secara umum memiliki berat badan antara 300-500 g, dengan berat tikus jantan lebih besar daripada betina. Kebanyakan tikus laboratorium adalah albino dengan rambut putih dan mata merah muda (Hrapkiewicz & Medina 1998). Tikus memiliki sifat unggul untuk tujuan percobaan, yaitu rentang kehidupan pendek, waktu kebuntingan pendek, jumlah anak seperindukan banyak, keberagaman genetik besar, biaya pembelian dan pemeliharaannya murah, dan mudah dalam perawatan. Tikus merupakan hewan sosial dan dapat berkembang dengan baik meskipun dikandangkan sendiri atau dalam kelompok kecil yang jumlah individunya sedikit. Tikus jarang berkelahi satu sama lain dan tikus-tikus jantan dapat dikandangkan bersama. Tikus menggali dan membuat sarang untuk tikus muda (Hrapkiewicz & Medina 1998).

Tikus berukuran jauh lebih besar dibandingkan mencit, memiliki kepala berbentuk kerucut, bertubuh silindris panjang, dan ditutupi oleh rambut. Tikus memiliki kaki yang pendek dan berekor panjang. Anatomi dari sistem gastrointestinal tikus secara umum mirip dengan mencit. Rumus gigi tikus adalah 2(1/1 seri, 0/0 taring, 0/0 premolar, 3/3 molar). Lambung dibagi menjadi *aglandular forestomach* dan *glandular stomach*. Tikus tidak dapat muntah karena lipatan pada batas punggung yang memisahkan dua bagian perut yang menutupi jalan masuk esophagus. Hal unik sistem digesti tikus adalah tidak adanya kantung empedu, adanya difus pankreas, serta sejumlah kelenjar saliva dan organ-organ yang mirip kelenjar di kepala dan leher. Sekum tikus sangat berkembang dan berfungsi untuk mencerna selulosa melalui bantuan mikroba seperti pada rumen. Tikus dengan mikroba sekum yang tidak berkembang menjadikan sekum sangat menggelembung

dan kadang-kadang berputar pada sumbu aksis sehingga dapat terjadi torsio sekal yang fatal (Hrapkiewicz & Medina 1998).

Keuntungan dalam menggunakan tikus percobaan pada penelitian adalah biaya yang relatif lebih murah, mudah dikontrol, tidak mampu memuntahkan isi perutnya karena tidak memiliki kantung empedu, dan tidak berhenti tumbuh, namun kecepatan pertumbuhannya akan menurun setelah berumur 100 hari. Secara garis besar, fungsi dan bentuk organ, proses biokimia dan proses biofisik antara tikus dan manusia memiliki banyak kemiripan. Tikus percobaan juga merupakan sarana yang baik untuk memanipulasi keadaan / perlakuan yang tidak mungkin diterapkan pada manusia, oleh karena itu, cukup menggunakan tikus putih sebagai hewan model untuk percobaan.

Evaluasi Nilai Gizi Protein

Nilai gizi protein dapat diartikan sebagai kemampuan suatu protein untuk dapat dimanfaatkan oleh tubuh sebagai sumber nitrogen untuk sintesis protein tubuh. Terdapat dua faktor yang menentukan nilai gizi suatu protein, yaitu daya cerna dan kandungan asam amino essensialnya. Daya cerna menentukan ketersediaan asam-asam amino secara biologis atau dapat/tidaknya zat gizi tersebut digunakan oleh tubuh (Muchtadi 2010).

Terdapat dua macam metode eveluasi nilai gizi protein, yaitu metode *in vitro* (secara kimia, enzimatis, mikrobiologis) dan metode *in vivo* (secara biologis menggunakan hewan percobaan atau manusia). Metode biologis untuk evaluasi nilai gizi protein pada umumnya menggunakan tikus putih, mencit, hewan lain (kera ekor panjang) atau bahkan manusia. Parameter yang ditetapkan dalam evaluasi nilai gizi protein secara biologis antara lain PER (*protein efficiency ratio*), DC (daya cerna), BV (*biological value*), dan NPU (*net protein utilization*).

3 METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Desember 2014, diawali dengan penelitian pendahuluan, pembuatan tempe yang dilaksanakan di Rumah Tempe Indonesia (RTI), Bogor. Tahap penelitian intervensi pada tikus percobaan (*in-vivo*) dilaksanakan di Laboratorium Hewan *Southeast Asean Food Agricultural Science Technology Center* (SEAFST Center), Institut Pertanian Bogor. Perlakuan dan pengamatan histologi jaringan testis tikus percobaan dilaksanakan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Hewan IPB.

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah tempe berbahan dasar kedelai PRG dan tempe berbahan dasar kedelai non-PRG sebagai ransum tikus percobaan dan tikus putih galur *Sprague-Dawley* sebagai hewan percobaan. Kedelai yang digunakan dalam pembuatan tempe ini adalah kedelai impor asal USA yang paling umum digunakan sebagai bahan baku oleh para pengrajin tempe. Untuk kedelai jenis non-PRG, kedelai dikemas dalam kemasan khusus 30 kg, dilengkapi dengan sertifikat bebas PRG/ *free Genetically Modified Organism* (GMO). Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus berjenis kelamin jantan, usia sapih 23 hari, dengan komposisi ransum mengacu pada standard AOAC (2005). Pemilihan tikus jantan dikarenakan pada penelitian ini juga melihat profil sel spermatozoa. Komposisi penyusun ransum tikus dibedakan menjadi dua jenis yakni ransum dengan tempe kedelai PRG dan tempe kedelai non-PRG, dan juga kasein (protein standar).

Alat

Alat yang digunakan untuk memelihara tikus dan membuat makanan tikus adalah kandang, botol minum, timbangan, baskom plastik, sendok dan blender. Alat yang digunakan dalam preparasi sampel adalah wadah merendam kedelai, baskom, kompor, oven, *disc mill*, penggiling kedelai, *slicer*, dan blansir. Alat yang digunakan dalam pembedahan tikus adalah gunting, pinset, jarum suntik, papan pembedahan dan alat-alat gelas.

Alat yang digunakan untuk analisis proksimat antara lain oven, labu lemak, *hotplate*, tanur, ekstraktor *Soxhlet*, labu *Kjeldahl*, labu Erlenmeyer, labu takar, desikator, cawan aluminium, kertas saring, buret, pH meter, cawan porselen. Alat-alat yang digunakan untuk analisis profil serum darah dan hematologi meliputi *clinical chemistry analyzer*, *sentrifuse*, vortex, penangas air, tabung *sentrifuse*, pipet mikro, dan alat-alat gelas. Alat yang digunakan untuk analisis malondialdehida (MDA) adalah sentrifus, *waterbath*, spektrofotometer, neraca analitik, alat penggerus dan desikator. Alat yang digunakan untuk analisis superoksida dismutase (SOD) meliputi sentrifus, alat penggerus, tabung reaksi, *spektrofotometer* dan vortex.

Tahapan Penelitian

Penelitian terdiri dari tahap pembuatan tempe, pembuatan tepung tempe, pembuatan ransum, dan analisis produk. Analisis produk meliputi analisis proksimat, analisis secara *in vivo* pada tikus percobaan yang diberi pakan tempe PRG dan non-PRG, analisis SOD, MDA, penimbangan & analisis histologi organ testis dan analisis profil spermatozoa. Analisis proksimat dilakukan pada kasein, tempe PRG dan Non-PRG. Hasil analisis proksimat menjadi acuan dalam formulasi ransum tikus percobaan.

Tahap Pembuatan Tempe

Proses pembuatan tempe dilakukan dengan menerapkan prinsip *Good Hygienic Practices* (GHP) di Rumah Tempe Indonesia (RTI), Bogor yang telah mendapatkan sertifikasi HACCP, dengan cara: pembersihan atau penyortiran kedelai, perendaman menggunakan air selama 1 jam, perebusan selama 30 menit, perendaman kembali selama 12 jam dan pengupasan kulit ari. Kedelai yang telah dikupas kulit arinya dibersihkan dan dipisahkan dari tunas yang telah tumbuh, dan disiram dengan air panas. Setelah itu, kedelai didinginkan lalu diberi ragi secara merata kemudian dikemas dan diinkubasi selama 40 jam.

Tahap Persiapan Hewan Percobaan

Tikus jantan yang digunakan dalam penelitian ini adalah usia lepas sapih 20 hari. Tikus ditempatkan dalam kandang plastik dengan tutup terbuat dari kawat ram dan dialas sekam. Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Lingkungan kandang dibuat agar tidak lembab, ventilasi yang cukup serta penyinaran yang cukup yaitu 12 jam terang dan 12 jam gelap. Masing-masing tikus ditempatkan dalam kandang sesuai kelompok perlakuan. Hewan percobaan terlebih dahulu diadaptasikan selama lima hari dan diberikan ransum standar. Hal ini bertujuan untuk penyesuaian dengan lingkungan (Tabel 3).

Tabel 3 Kelompok perlakuan tikus

Kelompok perlakuan (berdasarkan sumber dan % kadar protein dalam ransum)	Σ tikus
Tempe PRG 10% (T-PRG 10)	5 ekor
Tempe PRG 20% (T-PRG 20)	5 ekor
Tempe Non-PRG 10% (T-NPRG 10)	5 ekor
Tempe Non-PRG 20% (T-NPRG 20)	5 ekor
Kasein 10% (Kontrol)	5 ekor

Tahap Pembuatan Ransum

Pembuatan ransum tikus percobaan dibedakan berdasarkan sumber proteinnya, yaitu ransum tempe PRG, ransum tempe *non*-PRG dan ransum kasein sebagai standar. Tempe ditepungkan terlebih dahulu untuk memudahkan saat mencampur bahan-bahan ransum. Ransum yang diberikan disesuaikan dengan kebutuhan harian tikus dan disusun berdasarkan AOAC (2005) pada Tabel 4.

Tabel 4 Rancangan komposisi ransum percobaan

Komponen	Sumber	Jumlah
Protein	- Tep. Tempe PRG	10% dan 20%
	- Tep. Tempe non-PRG	10% dan 20%
	- Kasein	10%
Lemak	Minyak jagung	8%
Mineral	Campuran mineral	5%
Vitamin	Campuran vitamin	1%
Serat	CMC	1%
Air	Air minum	5%
Karbohidrat	Pati jagung	% sisanya

Uji Pengaruh Konsumsi Kedelai dan Tempe PRG dan *non*-PRG Secara *In Vivo*

Analisis pengaruh konsumsi tepung tempe PRG dan *non*-PRG secara *in vivo* menggunakan tikus putih jantan *Sprague-Dawley* selama 90 hari. Metode ini mengikuti pedoman pengujian pangan yang berasal dari tanaman transgenik yang dikeluarkan oleh *European Food Safety Authority* (EFSA, 2011) yaitu pedoman pelaksanaan studi toksisitas pangan/pakan dengan dosis berulang 90 hari pada hewan percobaan (*Guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed*) dengan beberapa modifikasi. Konsentrasi tempe PRG dan non PRG sebesar 10% dan 20% di dalam ransum ditetapkan dengan tujuan untuk mengevaluasi dampak yang mungkin timbul jika level konsumsinya dinaikan hingga dua kali lipat secara terus menerus dalam jangka waktu yang panjang. Penggunaan tikus sebagai hewan coba pada penelitian ini mengikuti prosedur kelayakan etik penggunaan hewan dalam kegiatan pendidikan dan penelitian dan telah memperoleh persetujuan etik dari Komisi Etik Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan IPB, ACUC No. 06-2013 IPB.

Tikus yang digunakan adalah tikus lepas sapih usia 20 hari yang diadaptasikan terlebih dahulu selama lima hari dengan pemberian ransum kasein (standar) dan air minum secara *ad libitum*. Setelah masa adaptasi selama lima hari, sejumlah 25 ekor tikus diseleksi berdasarkan keseragaman bobot tubuh dan dikelompokkan menjadi lima, yaitu kelompok tikus yang diberi pakan: (1) 10% protein dari tempe PRG, (2) 10% protein dari tempe *non*-PRG, (3) 20% protein dari tempe PRG, (4) 20% protein dari tempe *non*-PRG, (5) 10% protein dari kasein. Setiap kelompok tikus memiliki perbedaan bobot kurang dari 10 gram dan antar tikus dalam setiap kelompok memiliki perbedaan maksimal 5 gram. Selama masa percobaan dilakukan pengamatan terhadap konsumsi ransum setiap hari dan berat badan tikus setiap enam hari sekali.

Penentuan parameter mutu protein

Untuk evaluasi mutu protein diperoleh dari pengamatan berat badan, konsumsi ransum serta berat feses dan urin selama 28 hari. Beberapa parameter yang dianalisis pada penelitian ini adalah: *Feed Conversion Efficiency* (FCE), *Protein Efficiency Ratio* (PER), *Net Protein Ratio* (NPR), *True Digestibility* (TD),

Biological Value (BV), dan *Net Protein Utilization* (NPU). Pengamatan untuk mengevaluasi mutu protein hanya dilakukan terhadap tiga kelompok perlakuan yaitu (1) Tempe PRG 10% (T-PRG 10) (2) Tempe non PRG 10% (T-NPRG 10), dan (3) Kasein 10% (Kontrol).

Feed Conversion Efficiency (FCE)

Penentuan nilai FCE yaitu dengan pengujian selama 28 hari. Nilai FCE diperlukan untuk semua kelompok tikus percobaan. Perhitungan FCE dilakukan dengan menggunakan rumus berikut.

$$\text{FCE (\%)} = \frac{\text{pertambahan berat badan (g)}}{\text{jumlah ransum yang dikonsumsi (g)}} \times 100\%$$

Protein Efficiency Ratio (PER)

Penentuan nilai PER yaitu dengan pengujian selama 28 hari dengan menggunakan kasein sebagai protein referensi. Perhitungan dilakukan untuk setiap ekor tikus, dan nilai rata-rata dihitung untuk tiap grup. Perhitungan PER tidak berlaku untuk kelompok tikus non protein. Perhitungan PER dilakukan dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{PER (\%)} = \frac{\text{pertambahan berat badan (g)}}{\text{jumlah protein yang dikonsumsi (g)}}$$

Nilai PER yang diperoleh dari percobaan dikoreksi sebagai berikut :

$$\text{PER sampel terkoreksi} = \frac{\text{PER sampel}}{\text{PER kasein}} \times 2.5$$

Net Protein Ratio (NPR)

Perhitungan nilai NPR dilakukan sama seperti persyaratan PER, akan tetapi NPR memerlukan waktu percobaan selama 10 hari dan diikutsertakan satu grup tikus yang diberi ransum non-protein untuk memperhitungkan jumlah protein yang digunakan untuk pemeliharaan tubuh. NPR dihitung berdasarkan rumus berikut.

$$\text{NPR} = \frac{\text{pertambahan berat badan tikus grup protein uji} + \text{Penurunan berat badan tikus grup non protein}}{\text{Jumlah konsumsi protein yang diuji}}$$

Penurunan berat badan tikus grup non protein diperlukan dalam perhitungan ini. Penurunan berat badan dihitung sebagai rata-rata dari grup tikus non protein.

True Protein Digestibility, Biological Value, dan Net Protein Utilization

Penetapan nilai TPD, BV, dan NPU memerlukan data feses dan urin masing-masing tikus percobaan selama percobaan berlangsung. Berikut rumus untuk menentukan nilai-nilai tersebut.

$$\text{TPD (\%)} = \frac{\text{N yang dikonsumsi} - (\text{N feses} - \text{N metabolik})}{\text{N yang dikonsumsi}} \times 100$$

$$BV = \frac{N \text{ yang dikonsumsi} - (N \text{ feses} - N \text{ metabolik}) - (N \text{ urin} - N \text{ endogen})}{N \text{ yang dikonsumsi} - (N \text{ feses} - N \text{ metabolik})} \times 100$$

$$\begin{aligned} NPU &= \frac{N \text{ yang dikonsumsi} - (N \text{ feses} - N \text{ metabolik}) - (N \text{ urin} - N \text{ endogen})}{N \text{ yang dikonsumsi}} \times 100 \\ &= TD \times BV \end{aligned}$$

Penentuan parameter hematologi, biokimia serum, kadar MDA, SOD dan Profil Spermatozoa

Untuk evaluasi hematologi, biokimia serum, kadar MDA, SOD dan Profil Spermatozoa diperoleh dari hasil pengamatan selama 90 hari terhadap lima perlakuan yaitu (1) Tempe PRG 10% (T-PRG 10), (2) Tempe non PRG 10% (T-NPRG 10), (3) Tempe PRG 20% (T-PRG 20), (4) Tempe non PRG 20% (T-NPRG 20), dan (5) Kasein 10% (Kontrol).

Analisis Hematologi dan Biokimia Serum

Analisis hematologi dilakukan menggunakan alat *hematology analyzer*. Analisis meliputi analisis kadar hemoglobin, eritrosit, leukosit, trombosit dan hematokrit. Profil lemak darah meliputi, kolesterol, trigliserida, *high density lipoprotein*, *low density lipoprotein*. Profil protein darah meliputi ureum, protein dan albumin. Selain itu juga dilakukan analisa kadar asam urat, serum *glutamic oxaloacetic transaminase* (SGOT), serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT). Analisis hematologi dan biokimia darah tikus percobaan ini dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Bogor. Sampel darah dikirim dalam kontainer khusus yang berpendingin tidak lebih dari empat jam setelah pengambilan darah dilaksanakan.

Analisis Kadar Malondialdehida (AOAC 2005)

Analisis tingkat stress oksidatif mengukur malondialdehida (MDA) sebagai hasil oksidasi asam lemak tidak jenuh dalam hati/ginjal dengan membandingkannya dengan kurva standar TEP (*tetraetoksi propana*). Sebanyak 1,00 g sampel hati atau ginjal dihancurkan dan dihomogenisasi dengan ditambahkan 4 mL larutan PBS (*phosphate buffer saline*) yang mengandung 0,15 M. Homogenat kemudian disentrifus 3000 rpm dengan jari-jari sentrifus sebesar 17,90 cm selama 20 menit sehingga diperoleh supernatan jernih. Untuk tahap analisis, 1 mL supernatan hati atau larutan kerja standar TEP dicampur dengan 4 mL larutan HCl 0,25 N dingin yang mengandung TCA, TBA, dan BHT. Larutan kemudian divortex dan dipanaskan 80°C menggunakan penangas air selama 1 jam. Setelah dingin, larutan dipisahkan menggunakan sentrifus 3000 rpm. Kemudian diukur absorbansi supernatan jernih pada panjang gelombang 532 nm dan dibandingkan dengan kurva standar TEP untuk menghitung kadar MDA sampel.

Analisis Aktivitas Superoksida Dismutase (Misra 1972)

Sampel hati atau ginjal dihancurkan dan diekstrak dengan buffer fosfat pH 7, dengan perbandingan 1 : 10. Hasil ekstraksi disentrifus dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit dalam keadaan dingin. Sebanyak 1 ml homogenat hati atau ginjal ditambahkan dengan 1.6 ml campuran kloroform dan etanol 96 %, dengan perbandingan 3 : 5. Kemudian homogenat hati atau ginjal dicampur menggunakan vorteks 1 menit dan sentrifus pada 3,000 rpm selama 10 menit pada 4 °C . Supernatan disimpan pada suhu -15 °C hingga siap dianalisis. Pengukuran serapan dilakukan dengan cara memasukkan 2,800 µl buffer natrium karbonat pH 10.2, 100 µl sampel yaitu supernatan yang mengandung SOD dan 100 µl larutan epinefrin ke dalam tabung reaksi.

Serapan dibaca pada panjang gelombang 480 nm pada menit ke 1, 2, 3, dan 4 setelah penambahan epinefrin 0.003 M. Sebagai faktor pengoreksi atau blanko digunakan campuran HCl dan air bebas ion. Larutan tanpa sampel yaitu larutan yang diberi pereaksi seperti pereaksi sampel, namun sampel diganti air bebas ion, lalu diukur absorbansinya. Pembuatan larutan tanpa sampel ini dilakukan dengan menambahkan 2,800 µl buffer natrium karbonat konsentrasi 0.05 M pH 10.2 ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 100 µl larutan epinefrin yang memiliki konsentrasi 0.003 M dan 100 µl air bebas ion. Serapan diukur setelah penambahan epinefrin pada panjang gelombang 480 nm.

Analisis Profil Spermatozoa (Chavarro 2008)

Metode pengamatan motilitas spermatozoa mengikuti metode Chavarro (2008), yaitu satu tetes sperma diletakkan di atas gelas obyek kemudian ditambahkan satu tetes aquades steril, kemudian diaduk rata dan ditutup dengan gelas penutup serta diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 10x40. Metode penilaian motilitas sperma menurut Hag dalam Toelihere (1985) adalah sebagai berikut: (1) Nilai 0, spermatozoa immotil atau tidak bergerak, (2) Nilai 1, gerakan berputar di tempat, (3) Nilai 2, gerakan berayun atau melingkar, kurang dari 50% bergerak progresif dan tidak ada gelombang, (4) Nilai 3, antara 50% sampai 80% spermatozoa bergerak progresif dan menghasilkan gerakan massa, (5) Nilai 4, pergerakan progresif yang gesit dan segera membentuk gelombang dengan 90% sperma motil, dan (6) Nilai 5, gerakan yang sangat progresif, gelombang yang sangat cepat menunjukkan 100% motil aktif.

Bobot Testis

Tikus-tikus dimatikan secara pembiusan. Pengukuran berat testis relatif dilakukan dengan cara menimbang kedua testis yang terlebih dahulu dibersihkan dari *caput* dan *cauda epididymis* dimana hasilnya dihitung sebagai berikut:

$$\text{Berat testis relatif} = \frac{\text{berat testis (g)}}{\text{berat badan (g)}} \times 100\%$$

Kualitas Spermatozoa

Spermatozoa diperoleh dari *cauda epididymis* kanan yang diambil dari hewan yang telah dimatikan. *Cauda epididymis* dimasukkan kedalam gelas arloji

yang berisi 1 ml garam fisiologis hangat (37° C), kemudian dipotong-potong dengan gunting kecil hingga halus dan diaduk dengan gelas pengaduk. Larutan ini disebut suspensi spermatozoa. Suspensi spermatozoa ini digunakan untuk pengamatan kualitas spermatozoa. Adapun kualitas spermatozoa yang dianalisis adalah konsentrasi spermatozoa, morfologi spermatozoa dan viabilitas spermatozoa.

Konsentrasi Spermatozoa

Suspensi spermatozoa dihisap dengan pipet leukosit sampai tanda 1.0. Pipet yang telah berisi suspensi spermatozoa kemudian diencerkan dengan larutan garam fisiologis sampai tanda 11. Kemudian pipet dikocok rata. Sebelum menghitung spermatozoa, terlebih dahulu beberapa tetes campuran spermatozoa dibuang agar yang terhitung nanti adalah bagian yang benar-benar mengandung spermatozoa homogen. Campuran spermatozoa dimasukkan ke dalam kotak – kotak kamar hitung Neubauer. Jumlah spermatozoa pada 5 x 16 kotak dihitung di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 kali. Hasil perhitungan merupakan jumlah spermatozoa dalam mm³ suspensi.

Morfologi Spermatozoa

Pengamatan morfologi, dilakukan dengan cara mengambil satu tetes suspensi sperma, kemudian dibuat sediaan ulas, difiksasi dengan methanol selama 15 menit dan diwarnai dengan giemsa 10% selama 30 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan. Setelah kering preparat diamati dibawah mikroskop perbesaran 400 kali. Diamati sebanyak 200 spermatozoa. Pemeriksaan morfologi menentukan apakah sperma tersebut mengalami kelainan bentuk baik abnormalitas primer maupun sekunder. Abnormalitas primer terdiri atas *macrocephalic*, *microcephalic*, kepala ganda atau ekor ganda, serta bentuk kepala yang tidak normal. Abnormalitas sekunder terdiri atas bentuk kepala pecah, ekor putus (pada bagian leher atau tengah-tengah), ekor melipat, terpinil atau tertekuk. Hasil pengamatan spermatozoa yang abnormal dinyatakan dalam persen (%).

Viabilitas Spermatozoa

Viabilitas spermatozoa diperiksa dengan cara pewarnaan supravital, dengan cosin –v 0.5% (serbuk jingga). Pada gelas objek, satu tetes suspensi sperma ditambah satu tetes cosin, kemudian dibuat sediaan hapus. Pengamatan sediaan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali dan dihitung dengan menggunakan counter. Penghitungan dilakukan pada 200 spermatozoa, spermatozoa hidup tidak berwarna, sedang spermatozoa yang mati berwarna merah. Hasilnya dinyatakan dalam persen (%) hidup.

Pemrosesan dan Pewarnaan Jaringan dengan Hematoksilin Eosin (HE)

Sesaat setelah pengambilan contoh, jaringan testis dari kelima kelompok tikus percobaan difiksasi dalam larutan Bouin selama 24 jam, yang kemudian diikuti dengan proses dehidrasi dengan alkohol bertingkat sebelum dilakukan *embedding* dalam paraffin. Potongan jaringan (5 μ m) selanjutnya diproses dengan pewarnaan umum hematoksilin eosin (HE) untuk mengetahui morfologi umum jaringan testis. Potongan jaringan testis tikus yang sudah diwarnai dengan HE diamati dibawah mikroskop. Pengamatan dan penghitungan jumlah sel-sel spermatogonik dilakukan pada tubuli seminiferi yang memiliki fase yang sama. Penghitungan jumlah sel-sel spermatogenik dilakukan menggunakan *software ImageJ* dan difoto dengan alat *Dino Eye*.

Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan *Microsoft Excel 2010* dan *SPSS 17.0 for Windows*. Semua data kualitatif disajikan secara deskriptif. Data kuantitatif diuji dengan menggunakan *Analysis of Variance (ANOVA)* yang dilanjutkan dengan uji jarak Duncan untuk menentukan beda nyata antarperlakuan.

4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Proksimat Ransum

Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui kandungan gizi pada sampel sumber protein untuk ransum. Hasil analisis proksimat ketiga sampel disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil analisis proksimat sampel basis kering

Sampel	Kadar (%bk)				
	Air (%bb)	Abu	Protein	Lemak	Serat
Kasein	9,9	0,6	89,4	0,3	0,5
Tepung tempe PRG	3,9	1,9	47,9	27,1	8,8
Tepung tempe <i>non</i> -PRG	4,7	1,8	50,7	26,5	9,5

Keterangan: Hasil analisis proksimat dari ketiga sampel menjadi acuan dalam formulasi ransum.

Setelah diperoleh hasil analisis proksimat sampel, dapat ditentukan formulasi bahan untuk ransum yang diberikan kepada tikus percobaan. Formulasi bahan yang digunakan untuk ransum masing-masing kelompok tikus dibedakan atas sumber proteinnya, sedangkan komponen yang lain menyesuaikan sesuai dengan proporsinya. Pada kelompok tikus dengan perlakuan pemberian pakan tepung tempe PRG dan tepung tempe *non*-PRG tidak ditambahkan CMC karena bahan baku tepung tempe mengandung jumlah serat yang cukup untuk kebutuhan harian tikus percobaan. Untuk mengetahui kesesuaian kandungan zat gizi yang diberikan dengan formulasi, dilakukan analisis proksimat pada kelima jenis ransum yang diberikan (Tabel 6).

Hasil analisis proksimat ransum basis basah pada Tabel 6 menunjukkan kadar protein untuk setiap kelompok tikus sebesar 10% dan 20%. Hal ini sudah sesuai dengan yang diinginkan yaitu memberikan asupan protein yang sama untuk setiap kelompok tikus percobaan.

Tabel 6. Hasil analisis proksimat ransum tikus percobaan berdasarkan perlakuan

Perlakuan (Sumber dan Kadar Protein)	Kadar (%bb)				
	Air	Abu	Protein	Lemak	Karbohidrat
Kasein 10%	13,7	4,2	10,6	8,8	62,8
Tepung tempe PRG 10%	14,8	4,0	10,1	5,2	65,9
Tepung tempe PRG 20%	11,9	4,0	19,7	9,3	55,1
Tepung tempe <i>non</i> -PRG 10%	13,5	3,9	9,8	3,7	69,1
Tepung tempe <i>non</i> -PRG 20%	11,7	3,8	19,4	7,7	57,4

Total Konsumsi dan Kenaikan Berat Badan selama 28 hari

Total konsumsi ransum, asupan protein dan perubahan berat badan tikus selama 28 hari pengamatan disajikan pada Tabel 7. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa jenis bahan baku tempe berpengaruh sangat nyata ($p < 0.01$) terhadap total konsumsi ransum, total asupan protein dan perubahan berat badan (Lampiran 1, 2 dan 3). Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa total konsumsi ransum dan total asupan protein kelompok tempe PRG 10%, tempe non-PRG 10% dan kasein seluruhnya berbeda sangat nyata. Kelompok kasein menunjukkan nilai tertinggi dan kelompok tempe PRG 10% menunjukkan nilai terendah (Tabel 7). Total konsumsi ransum kelompok tempe PRG 10% dan non-PRG 10% sangat nyata lebih rendah dibandingkan kelompok kasein. Hal tersebut diduga disebabkan oleh kandungan serat pada tempe yang cukup tinggi sehingga membuat tikus lebih cepat kenyang. Selain itu, menurut Anderson *et al.* (1999) menunjukkan tempe memiliki indeks glikemik yang rendah yang dapat mempertahankan glukosa darah tikus lebih stabil, sehingga tidak mudah lapar. Selain itu, faktor organoleptik tempe non PRG yang lebih baik dibanding tempe PRG diduga lebih disukai oleh tikus percobaan sehingga dikonsumsi dalam jumlah yang lebih banyak. SEAFast (2008) melaporkan bahwa tempe yang dibuat dari kedelai jenis non PRG memiliki karakteristik yang paling baik dibandingkan dengan jenis kedelai PRG karena memiliki intensitas *beany flavor*, rasa pahit, aroma dan rasa asam yang lebih rendah. Tingginya asupan protein sangat dipengaruhi oleh total konsumsi ransum pada setiap jenis perlakuan.

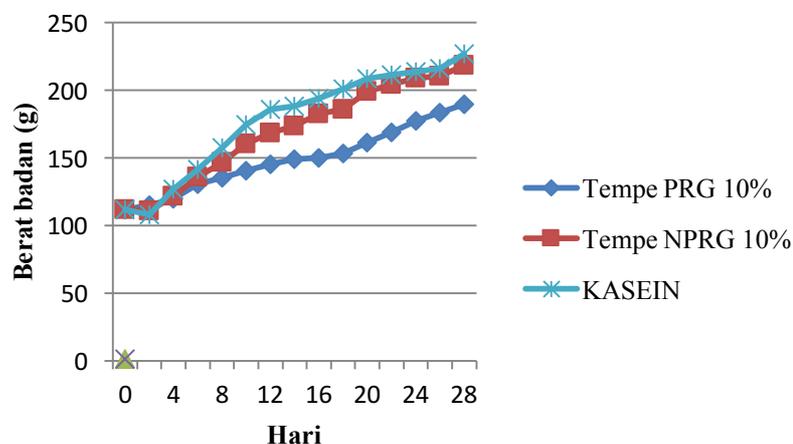
Tabel 7 Total konsumsi ransum, asupan protein dan perubahan berat badan selama 28 hari

Jenis bahan baku tempe	Total Konsumsi Ransum (gram)	Total Asupan Protein (gram)	Perubahan Berat Badan (gram)
T-PRG 10	475.90±38.64 ^a	48.08±3.90 ^a	71.80±16.79 ^a
T-NPRG 10	562.07±14.27 ^b	59.04±1.49 ^b	98.60±8.73 ^b
Kontrol (Kasein)	627.62±27.46 ^c	66.65±2.91 ^c	104.40±14.15 ^b

Keterangan: n = 5. Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0.01$) dengan uji jarak Duncan; T-PRG 10: Tempe PRG 10%, T-N PRG 10: Tempe non-PRG 10%.

Hasil uji lanjut dengan uji jarak Duncan menunjukkan bahwa perubahan berat badan kelompok tempe PRG 10% sangat nyata lebih rendah dibandingkan dengan kelompok tempe non-PRG 10% dan kasein. Hal ini berkaitan dengan asupan ransum dan asupan protein kelompok tempe PRG yang lebih rendah dibanding kelompok tempe non-PRG 10% dan kelompok kasein. Total asupan protein yang lebih tinggi pada kelompok tempe non PRG 10% dan kontrol terbukti meningkatkan pertambahan berat badan yang lebih besar. Protein dalam tempe dan kasein setelah dikonsumsi akan dihidrolisis oleh enzim-enzim protease menjadi unit-unit penyusunnya, yaitu asam-asam amino. Asam-asam amino inilah yang selanjutnya diserap oleh tubuh melalui usus kecil, yang kemudian dialirkan ke seluruh tubuh untuk digunakan dalam pembentukan jaringan-jaringan baru dan mengganti jaringan-jaringan yang rusak (Muchtadi 2010).

Pertumbuhan berat badan selama pengamatan 28 hari disajikan pada Gambar 2. Kenaikan berat badan kelompok kasein tampak lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Perbedaan kenaikan berat badan ini diduga lebih berkaitan dengan kuantitas asupan ransum, bukan karena faktor mutu proteinnya. Total konsumsi ransum kelompok kasein lebih tinggi dibanding kelompok tempe non-PRG dan tempe PRG, hal ini menunjukkan bahwa asupan ransum dan asupan protein berbanding lurus dengan kenaikan berat badan tikus percobaan. Suwarno *et al* (2013) yang mengevaluasi keamanan tempe transgenik melaporkan bahwa tempe sebagai sumber protein nabati memiliki mutu protein yang sama baiknya dengan protein hewani (kasein). Menurut Schaafsman (2000) mutu protein merupakan gambaran bagaimana protein yang terkandung dalam bahan pangan tersebut mempengaruhi pertumbuhan, baik dilihat dari komposisi asam amino essensial, kemampuan tubuh untuk mencerna, serta bioavailabilitas asam amino yang terkandung.



Keterangan: n = 5. T-PRG: Tempe PRG, T-N PRG: Tempe *non*-PRG, K-PRG

Gambar 2 Laju pertumbuhan berat badan tikus selama 28 hari percobaan

Mutu Protein Berdasarkan Metode Pertumbuhan

Penetapan mutu protein dengan metode pertumbuhan meliputi: *Feed Conversion Efficiency* (FCE), *Protein Efficiency Ratio* (PER) dan *Net Protein Ratio* (NPR) menghubungkan secara kuantitatif antara laju pertumbuhan hewan percobaan dengan jumlah konsumsi protein (Mursyid *et al* 2013). Perbandingan FCE, PER, dan NPR disajikan pada Tabel 8.

Data pada Tabel 8 menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai FCE (Lampiran 5). Nilai FCE perlakuan ransum tempe PRG 10% dan non-PRG 10% tidak berbeda nyata dengan perlakuan kasein sebagai kontrol. Kierss *et al* (2003) menunjukkan kedelai yang difermentasi dengan menggunakan *Rhizopus sp* mengalami peningkatan FCE sebesar 3% pada anak babi.

Metode yang digunakan untuk melihat hubungan antara kenaikan berat badan dengan konsumsi protein adalah metode *protein efficiency ratio* (PER).

Hoffman dan Falvo (2004) menjelaskan bahwa PER digunakan untuk mengetahui seberapa efektif protein yang terdapat dalam bahan pangan mempengaruhi pertumbuhan hewan coba. PER sampel protein coba akan dibandingkan dengan PER kasein sebagai standar. Kasein digunakan sebagai standar karena kandungan asam amino esensial yang cukup lengkap untuk pertumbuhan hewan coba. Data yang disajikan pada Tabel 8 menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap nilai PER (Lampiran 6).

Analisis mutu protein dengan menggunakan metode PER memiliki kelemahan, yaitu adanya asumsi bahwa seluruh protein digunakan untuk pertumbuhan, sementara untuk pemeliharaan jaringan tubuh tidak diperlukan (Muchtadi 2010). Mengatasi permasalahan pada PER, digunakan metode *net protein ratio* (NPR) dengan menambahkan satu kelompok non-protein. Pada penentuan parameter NPR diperlukan data penurunan berat badan yang dihitung sebagai rata-rata dari kelompok tikus yang memperoleh ransum non-protein (Mursyid *et al.* 2013). Berdasarkan hasil NPR pada Tabel 8, dapat diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan nyata ($p>0.05$) antar kelompok perlakuan terhadap nilai NPR (Lampiran 7). Nilai FEC, PER dan NPR perlakuan ransum tempe PRG 10% sama dengan non-PRG 10% dan kelompok kasein sebagai kontrol. Hasil ini menunjukkan adanya kesepadanan mutu protein FEC, PER, dan NPR antara PRG dan non-PRG serta kasein sebagai kontrol.

Tempe yang merupakan produk fermentasi kedelai memiliki protein yang mengandung asam amino esensial lengkap yang dibutuhkan oleh manusia dan hewan, yaitu: isoleusin, leusin, lisin, metionin dan sistein, fenilalanin dan tirosin, treonin, triptofan, valin dan histidin. Walaupun demikian, kedelai dan produk turunannya memiliki keterbatasan dalam dua asam amino esensial, yaitu metionin dan triptofan (Liu, 1997). Hasil dari nilai PER dan NPR yang disajikan pada Tabel 8 dapat memberikan gambaran bahwa asupan protein yang terdapat dalam ransum tersebut dapat digunakan dan dimanfaatkan dengan baik oleh tikus percobaan baik untuk pertumbuhan maupun untuk pemeliharaan tubuh. Hal ini menunjukkan bahwa penilaian mutu protein berdasarkan metode pertumbuhan, tempe PRG memiliki mutu protein yang sepadan dengan tempe dan non-PRG 10% dan sama baiknya dengan kasein dalam meningkatkan berat badan.

Tabel 8 Kesepadanan Mutu Protein *in vivo* berdasarkan metode pertumbuhan Tempe PRG dan non PRG

Perlakuan	<i>Feed conversion efficiency</i>	<i>Protein Efficiency Ratio (%)</i>	<i>Net Protein Ratio (%)</i>
T-PRG10	19.28±1.94 ^a	1.91±0.19 ^a	2.16±0.19 ^a
T-NPRG 10	18.16±2.73 ^a	1.72±0.26 ^a	1.94±0.24 ^a
Kontrol (Kasein)	18.32±2.03 ^a	1.72±0.19 ^a	1.91±0.18 ^a

Keterangan: n = 5. T-PRG 10: Tempe PRG 10%, T-N PRG 10: Tempe *non*-PRG 10%. Semua kelompok perlakuan memiliki nilai yang tidak berbeda nyata dengan uji Anova ($p>0.05$)

Mutu Protein Berdasarkan Metode Keseimbangan Nitrogen

Daya cerna protein adalah jumlah fraksi nitrogen dari bahan makanan yang dapat diserap oleh tubuh. Tidak semua protein dapat dihidrolisis oleh enzim pencernaan menjadi asam-asam amino. Daya cerna protein akan menentukan ketersediaan asam amino secara biologis. Daya cerna ini berarti kemampuan suatu protein untuk dihidrolisis menjadi asam-asam amino oleh enzim-enzim protease (Muchtadi 2010). Pengukuran mutu protein dengan metode keseimbangan nitrogen dapat dilakukan dengan parameter *true protein digestibility* (TPD), *biological value* (BV), serta *net protein utilization* (NPU).

Nilai biologis (BV) adalah nilai untuk menentukan jumlah berat nitrogen tubuh yang terbentuk dari setiap 100 bagian nitrogen yang telah diserap dari suatu makanan yang diperiksa. BV dapat didefinisikan sebagai presentase protein terabsorpsi yang diubah menjadi protein tubuh, semakin banyak protein yang ditahan oleh tubuh, semakin tinggi nilai biologisnya. Sejumlah protein yang telah dicerna dan diserap oleh usus tidak semuanya dapat dimanfaatkan oleh tubuh sehingga daya cerna tinggi tidak menjamin nilai biologis akan tinggi pula (Muchtadi 2010). Kadar nitrogen total dalam kedelai setelah menjadi tempe relatif konstan, tetapi kadar nitrogen yang larut meningkat dari 0,5 menjadi 2,5%. Nilai gizi tempe kedelai sebanding dengan susu skim dan lebih tinggi dari kedelai yang tidak mengalami fermentasi (Hachmeister 1993).

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 9, diketahui bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai TPD, BV, dan NPU (Lampiran 9). Hasil ini menunjukkan adanya kesepadanan mutu protein TPD, BV, dan NPU antara PRG dan non-PRG serta kasein sebagai kontrol

Tabel 9 Kesepadanan Mutu Protein *in vivo* berdasarkan metode keseimbangan nitrogen Tempe PRG dan non PRG

Perlakuan	<i>True Protein Digestibility</i> (%)	<i>Biological Value</i> (%)	<i>Net Protein Utilization</i> (%)
T-PRG10	99.83±0.11 ^a	99.16±0.42 ^a	99.79±0.47 ^a
T-NPRG 10	99.89±0.07 ^a	99.96±0.13 ^a	99.86±0.14 ^a
Kontrol (Kasein)	99.85±0.04 ^a	99.94±0.15 ^a	99.79±0.15 ^a

Keterangan: n = 5. T-PRG: Tempe PRG, T -N PRG: Tempe *non*-PRG. Semua kelompok perlakuan memiliki nilai yang tidak berbeda nyata dengan uji Anova ($p > 0.05$)

Total Konsumsi dan Kenaikan Berat Badan selama 90 hari

Total konsumsi ransum, asupan protein dan perubahan berat badan tikus selama 90 hari pengamatan disajikan pada Tabel 10. Berdasarkan data tersebut diketahui bahwa jenis bahan baku tempe berpengaruh sangat nyata ($p < 0.01$) terhadap total konsumsi ransum, total asupan protein dan perubahan berat badan. Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa total konsumsi ransum dan total asupan protein kelompok tempe PRG 10%, tempe non-PRG 10% dan kasein seluruhnya berbeda sangat nyata. Kelompok kasein menunjukkan nilai tertinggi dan kelompok tempe PRG 10% menunjukkan nilai terendah (Tabel 9).

Tabel 9 Total konsumsi dan kenaikan berat badan tikus percobaan selama 90 hari

Perlakuan	Ransum yang dikonsumsi (gr)	Pertambahan berat badan (gr)
T-PRG 10	1620.18±81.24 ^a	202.40±38.00 ^a
T-PRG 20	1829.79±92.90 ^b	367.00±33.76 ^b
T-NPRG 10	1779.39±58.79 ^{ab}	250.60±42.50 ^a
T-NPRG 20	1835.11±117.83 ^b	356.20±34.95 ^b
Kontrol (Kasein)	1973.85±118.16 ^b	243.40±43.94 ^a

Keterangan: n = 5. T-PRG 10: Tempe PRG 10%, T -N PRG 10: Tempe *non*-PRG 10%, T-PRG 20: Tempe PRG 20%, T -N PRG 20: Tempe *non*-PRG 20%. Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0.01$) dengan uji jarak Duncan.

Profil Hematologi

Analisis hematologi merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui keadaan darah dan komponen-komponennya. Menurut Zhu *et al* (2004) hematologi merupakan indikator yang cukup sensitif untuk menggambarkan kesehatan tikus secara umum. Turner *et al* (2008) menjelaskan bahwa tujuan analisis hematologi adalah mengamati kelainan hematologi seperti jumlah dan fungsi sel darah, membantu mendiagnosis penyakit infeksi serta mengetahui kelainan sistemik pada ginjal dan hati.

Sebagai komponen yang penting dalam sistem transport tubuh, darah berfungsi menyalurkan oksigen, gizi penting yang diperlukan oleh metabolisme, dan sisa zat makanan yang tidak diperlukan oleh tubuh. Beberapa parameter yang dapat dianalisis dalam pengujian hematologi antara lain: hemoglobin (Hb), eritrosit, leukosit, trombosit, dan hematokrit.

Hemoglobin merupakan pigmen eritrosit yang terdiri dari protein kompleks terkonjugasi yang mengandung besi. Protein Hb adalah globin, dan warna merah disebabkan oleh warna heme. Heme adalah senyawa yang mengandung satu atom besi (Bastiansyah 2008). Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai hemoglobin (Lampiran 12). Kadar hemoglobin pada setiap kelompok tikus percobaan memiliki nilai yang normal. Menurut Arrington (1972), nilai normal hemoglobin pada tikus percobaan sebesar 12.0-17.5 g/dl. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok ransum tempe PRG dan non-PRG yang merupakan bahan pangan nabati mampu memberikan asupan zat besi yang sama baiknya dengan kasein dari pangan hewani sehingga menghasilkan kadar haemoglobin yang sama (Tabel 10). Menurut Astuti, *et al* (2003), protein tempe termasuk mudah dicerna sehingga protein dapat digunakan untuk membentuk hemoglobin bersama senyawa besi ataupun senyawa lain. Hal tersebut sesuai dengan Astawan (2008) yang mengatakan bahwa kadar zat besi yang terdapat pada kedelai sebesar 11 mg/100 gram dan tempe sebesar 9 mg/100 gram.

Eritrosit merupakan sel darah merah yang berperan membawa hemoglobin di dalam sirkulasi. Eritrosit dibentuk di dalam sumsum tulang dan limfa (Bastiansyah 2008). Fungsi utama eritrosit adalah mengangkut hemoglobin, dan seterusnya mengangkut oksigen dari paru-paru ke jaringan (Guyton dan Hall 2010). Beberapa bahan penting yang dibutuhkan dalam pembentukan eritrosit antara lain protein (asam amino), vitamin (vitamin B2, B6, B12, folat, tiamin, vitamin C, dan E), dan

mineral (Fe, Cu, Mn, dan Co). Bila tubuh mengalami defisiensi salah satu bahan-bahan penting tersebut, maka proses pembentukan eritrosit akan terganggu dan dapat menyebabkan terjadinya anemia (Sacher dan Pherson 2004). Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai eritrosit (Lampiran 16). Hal ini menunjukkan bahwa kelompok tempe PRG dan non-PRG menghasilkan kadar eritrosit yang sama dengan kontrol. Semua perlakuan memberikan asupan zat besi yang cukup sehingga jumlah eritrosit berada dalam angka normal (Tabel 10). Nilai eritrosit normal pada tikus percobaan sebesar 7.2 - 9.6 juta/mm³ darah (Arrington 1972). Hasil ini sesuai dengan penelitian Zhu *et al.* (2004) pengukuran 7 minggu terhadap tikus jantan dan betina menunjukkan bahwa pemberian ransum kedelai PRG dan non-PRG memberikan nilai yang sama terhadap kadar leukosit dan eritrosit.

Peran leukosit di dalam tubuh adalah untuk mempertahankan imunitas seluler dan humoral organisme terhadap zat-zat asing. Leukosit dapat melakukan amuboid dan melalui proses diapedesis leukosit dapat meninggalkan kapiler dengan menerobos sel-sel endotel dan menembus ke jaringan penyambung (Effendi 2003). Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai leukosit (Lampiran 13). Kadar leukosit pada setiap kelompok tikus percobaan memiliki nilai yang normal (Tabel 10). Menurut Arrington (1972), nilai normal leukosit pada tikus percobaan sebesar 5-25x10³/mm³. Penelitian Zhu *et al.* (2004) pengukuran 7 minggu terhadap tikus jantan dan betina menunjukkan bahwa pemberian ransum kedelai PRG dan non-PRG memberikan nilai yang sama terhadap kadar leukosit dan eritrosit.

Trombosit berperan penting dalam pembekuan darah. Trombosit dalam keadaan normal bersirkulasi ke seluruh tubuh melalui aliran darah. Jumlah trombosit yang rendah dapat menyebabkan pemanjangan waktu dalam proses pembekuan darah. Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai trombosit (Lampiran 14). Menurut Suckow *et al.* (2006), jumlah trombosit normal tikus berkisar 140-450x10³/mm³. Jumlah trombosit pada semua kelompok tikus percobaan memiliki nilai trombosit di atas batas normal (Tabel 10). Tingginya nilai trombosit pada tikus percobaan sudah terjadi sejak awal (baseline) yang tidak diketahui penyebabnya, namun kondisi ini diduga karena variasi individu dan bukan disebabkan karena adanya penyakit lain yang menyertainya seperti infeksi akut, perdarahan, hemolisis dan lain lain. Hal ini didukung oleh parameter hematologi lain yaitu hemoglobin, leukosit, hematokrit dan eritrosit berada dalam kisaran normal, baik saat baseline maupun setelah 90 hari percobaan. Konsumsi tempe mampu mempertahankan kadar trombosit. Hal ini diduga tempe dapat digunakan sebagai pangan alternatif untuk meningkatkan nilai trombosit yang turun pada penderita demam berdarah. Akan tetapi perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang berfokus pada aspek ini untuk lebih mengkonfirmasi temuan ini.

Hematokrit dapat digunakan untuk mendiagnosis kondisi normal, anemia, dan polisitemia. Nilai hematokrit dapat dipengaruhi oleh faktor psikologi atau patologi. Nilai hematokrit yang rendah menunjukkan anemia atau perdarahan. Nilai hematokrit yang tinggi dapat disebabkan oleh terjadinya dehidrasi pada specimen (Estridge *et al.* 2000). Pemeriksaan hematokrit dilakukan bersamaan dengan pemeriksaan Hb dan eritrosit yang digunakan untuk menentukan keadaan anemia, kehilangan darah, anemia hemolitik, polisitemia (Stockham dan Scott 2008).

Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap nilai hematokrit (Lampiran 15). Kandungan protein pada ransum yang dikonsumsi berpengaruh terhadap kadar hematokrit tikus. Konsumsi protein yang rendah dapat menyebabkan terganggunya sintesis hormon eritropoietin yang membantu mengatur kecepatan pembentukan sel darah merah di dalam sumsum tulang belakang, serta merangsang proses pembelahan sel menjadi lebih cepat. Semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar hematokrit yang berada pada kisaran normal yaitu sebesar 33-50% (Booth *et al* 2010).

Tabel 10 Profil hematologi tikus setelah 90 hari percobaan

Perlakuan	Hemoglobin (g/dl)	Eritrosit ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	Leukosit ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Trombosit ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Hematokrit (%)
T-PRG 10	13.34 \pm 0.41 ^a	7.65 \pm 0.68 ^a	8.58 \pm 1.76 ^a	611.40 \pm 41.37 ^a	34.32 \pm 1.12 ^a
T-PRG 20	14.02 \pm 1.17 ^a	8.14 \pm 0.93 ^a	6.92 \pm 1.30 ^a	633.40 \pm 40.59 ^a	36.22 \pm 2.70 ^a
T-NPRG 10	13.14 \pm 0.45 ^a	7.73 \pm 0.21 ^a	5.50 \pm 1.35 ^a	557.00 \pm 41.66 ^a	33.84 \pm 1.99 ^a
T-NPRG 20	13.64 \pm 0.94 ^a	7.80 \pm 0.33 ^a	9.26 \pm 3.25 ^a	634.60 \pm 53.39 ^a	36.32 \pm 1.77 ^a
Kontrol(kasein)	13.84 \pm 0.72 ^a	7.91 \pm 0.44 ^a	7.36 \pm 2.31 ^a	614.60 \pm 62.47 ^a	36.56 \pm 1.37 ^a
Nilai Rujukan	12.00-17.50	7.00-9.70	5.00-25.00	140.00-450.00	33.00-50.00

Keterangan: n = 5. T-PRG 10: Tempe PRG 10%, T-N PRG10: Tempe *non*-PRG 10%, T-PRG 20: Tempe PRG 20%, T -N PRG20: Tempe *non*-PRG 20%. Semua kelompok perlakuan memiliki nilai yang tidak berbeda nyata dengan uji Anova ($p>0.05$)

Secara umum, tidak terdapat nilai yang melebihi batas normal pada pengukuran parameter hematologi pada penelitian selama 90 hari, kecuali untuk nilai trombosit. Penelitian-penelitian sebelumnya melaporkan bahwa tidak ada kelainan hematologi yang diakibatkan oleh kedelai PRG (Zhu *et al.* 2004, Hemre *et al.* 2005, Appenzeller *et al.* 2008, Sakamoto *et al.* 2012, Daleprene *et al.* 2009, Qi *et al.* 2012, Suwarno *et al.* 2013). Pada penelitian-penelitian sebelumnya, walaupun ditemukan adanya perbedaan yang nyata ($p<0.05$) pada beberapa parameter hematologi kelompok perlakuan PRG, namun hal tersebut bukan disebabkan oleh dampak pemberian kedelai PRG dalam jangka panjang, namun lebih dikarenakan adanya keragaman antara individu tikus percobaan.

Tidak ditemukan kelainan pada analisis hematologi yang dilakukan pada penelitian ini dan beberapa hasil penelitian sebelumnya. Hasil ini menunjukkan adanya kesepadanan tempe PRG dan non-PRG untuk profil sel darah pada pemberian tempe PRG dan non PRG secara terus menerus selama 90 hari pada konsentrasi 10% dan 20% serta kasein sebagai kontrol tidak mengakibatkan adanya kelainan pada profil hematologi.

Profil Lemak dalam Darah

Profil lemak dalam darah yang terdiri dari Total Kolesterol, Trigliserida, LDL dan HDL disajikan pada Tabel 11. Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan berpengaruh nyata ($p<0.05$) terhadap nilai kolesterol (Lampiran 17). Hasil uji lanjut dengan uji jarak Duncan menunjukkan bahwa nilai kolesterol kelompok tempe PRG 10% sangat nyata lebih tinggi dibandingkan tempe PRG 20%, tempe non-PRG 20%, tempe non-PRG 10%, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Tabel 11). Nilai kolesterol semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar yang berada pada kisaran normal, yaitu sebesar 40-130 mg/dl. Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar kolesterol pada tikus percobaan dengan konsumsi tempe dalam konsentrasi yang tinggi lebih rendah daripada tikus

dengan konsumsi tempe dalam konsentrasi yang lebih kecil. Tempe yang merupakan produk fermentasi kedelai secara alami bebas dari kolesterol, rendah lemak jenuh, mengandung protein berkualitas tinggi dan juga isoflavon. Pada tahun 1999, Badan Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat (US FDA) telah menyetujui klaim kesehatan bahwa konsumsi 25 gram protein kedelai setara dengan 250 gram tempe sebagai bagian dari pola makan rendah lemak dan rendah kolesterol, dapat meningkatkan fungsi kardiovaskuler. Persetujuan terhadap klaim kaitan kedelai dan penyakit jantung koroner didasarkan kepada kemampuan protein kedelai dan isoflavon dalam menurunkan kadar kolesterol. Asosiasi Jantung Amerika (*The American Heart Association/AHA*) melaporkan bahwa kedelai mengandung protein berkualitas tinggi dan rendah lemak jenuh sehingga mampu menurunkan resiko PJK jika diterapkan dalam pola makan (Sack *et al*, 2006). Hasil penelitian sebelumnya melaporkan bahwa kedelai dapat menurunkan kadar kolesterol total, triasilgliserol dan glukosa darah serta berperan sebagai antioksidan yang potensial (Ridges *et al* 2001). Menurut Messina (2011), pemberian sampel produk fermentasi kedelai dapat menurunkan kadar kolesterol lebih baik dibandingkan dengan obat penurun kolesterol (provakol). Konsumsi tempe juga dapat menurunkan resiko kanker dan sangat efektif dalam menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Menurut Gardner *et al.* (2001), 60% penurunan kolesterol disebabkan oleh kandungan isoflavon dan protein dari tempe. Selain itu, kandungan vitamin B kompleks dan niasin di dalam tempe juga dapat mempengaruhi penurunan kolesterol dengan cara meningkatkan metabolisme VLDL oleh enzim lipoprotein lipase.

Tabel 11 Profil lemak dalam darah tikus setelah 90 hari percobaan

Perlakuan	Kolesterol (mg/dl)	Trigliserida (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
T-PRG 10	68.14±16.26 ^b	47.14±4.81 ^a	53.60±6.81 ^a	32.20±7.79 ^a
T-PRG 20	47.14±3.39 ^a	68.43±16.03 ^a	51.27±9.02 ^a	26.20±2.51 ^a
T-N PRG 10	53.00±12.42 ^a	41.57±12.71 ^a	45.57±9.68 ^a	37.02±16.28 ^a
T-N PRG 20	48.14±7.15 ^a	52.00±14.96 ^a	46.29±6.05 ^a	39.60±14.88 ^a
Kontrol (Kasein)	59.57±12.43 ^{ab}	55.80±15.96 ^a	54.43±11.63 ^a	32.40±5.47 ^a
Nilai Rujukan	40.00-130.00	26.00-145.00	>35.00	<100.00

Keterangan: n = 5. Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan uji jarak Duncan; T-PRG 10: Tempe PRG 10%, T-N PRG 10: Tempe *non*-PRG 10%, T-PRG 20: Tempe PRG 20%, T-N PRG 20: Tempe *non*-PRG 20%

Jumlah trigliserida menunjukkan kadar lemak yang terdapat di dalam darah. Pada Tabel 11, analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai trigliserida (Lampiran 18). Nilai trigliserida semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar yang berada pada kisaran normal, yaitu sebesar 26-145 mg/dl (Bresnahan 2004). Tabel 11 menunjukkan bahwa hampir semua jenis perlakuan dapat mempertahankan kadar trigliserida tetap normal selama percobaan hingga 90 hari percobaan. Hal ini diduga disebabkan oleh kandungan serat pada tempe. Meta analisis yang dilakukan oleh Anderson *et al* (1995) menunjukkan secara konsisten efek penurunan kadar kolesterol akibat asupan protein kedelai. Wagermans *et al* (2003) melaporkan bahwa konsumsi kedelai mengakibatkan penurunan kolesterol total sebesar 10% dan kenaikan HDL sebesar 3%. HDL merupakan kolesterol baik, yang

keberadaannya diperlukan untuk kesehatan tubuh. Selain itu, Sacks *et al* (2006) mengamati adanya penurunan LDL sebesar 3%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsumsi tempe PRG dan non-PRG tidak meningkatkan nilai trigliserida hingga diatas batas normal.

Kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) merupakan jenis lipoprotein yang mempunyai efek antiaterogenik kuat. Pada Tabel 11, analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap nilai HDL (Lampiran 19). Nilai HDL semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar yang berada di atas normal, yaitu sebesar >35 mg/dl (Schaerfer *et al.* dalam Hartoyo *et al.* 2008). Tabel 11 menunjukkan bahwa hampir semua jenis perlakuan dapat meningkatkan kadar HDL diatas normal selama percobaan hingga 90 hari percobaan. Tempe dapat dijadikan sebagai pangan alternatif untuk meningkatkan HDL darah sehingga mengurangi terjadinya pengendapan lemak dalam sistem peredaran darah. Menurut Liu (1997) kacang kedelai yang mengandung senyawa isoflavon berpengaruh besar terhadap peningkatan kadar HDL, selain mampu menurunkan kadar kolesterol dan LDL. Semakin banyak kedelai yang digunakan maka efeknya terhadap peningkatan kadar HDL semakin besar Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa konsumsi tempe PRG dan non-PRG dapat meningkatkan kadar HDL.

Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) dalam darah diharapkan rendah karena jenis lipoprotein ini mempunyai efek aterogenik yang dapat menempel pada pembuluh darah dan mengakibatkan penyempitan. Pada Tabel 11, analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap nilai LDL (Lampiran 20). Nilai LDL semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar yang berada pada kisaran normal, yaitu <100 mg/dl (Herwiyarirasanta 2010). Studi yang dilakukan oleh Rie *et al.* (2005), menyimpulkan bahwa kedelai kuning dapat menurunkan kadar kolesterol LDL karena tingginya kandungan polyphenol yang berfungsi sebagai antioksidan. Isoflavon pada kedelai memiliki efek terhadap reseptor LDL. Isoflavon memberikan efek peningkatan aktivitas *up regulating reseptor* LDL (Messina 2006). Hal ini seperti pada estrogen yang juga memiliki efek peningkatan aktivitas *up regulating reseptor* LDL. Peningkatan reseptor LDL tersebut akan meningkatkan LDL *clearance* dari peredaran darah sehingga jumlah kolesterol LDL dalam darah berkurang (Murray *et al* 2003). Meta analisis yang dilakukan oleh Anderson *et al* (1995) menunjukkan secara konsisten efek penurunan kadar kolesterol akibat asupan protein kedelai. Konsumsi produk olahan kedelai mengakibatkan penurunan kolesterol total sebesar 10% dan kenaikan kolesterol HDL sebesar 3%.

Tidak ditemukan kelainan pada analisis profil lemak darah yang dilakukan pada penelitian ini. Hasil ini menunjukkan adanya kesepadanan tempe PRG dan non-PRG serta kasein sebagai kontrol. untuk profil lemak darah trigliserida, HDL dan LDL dengan pemberian tempe PRG dan non-PRG secara terus menerus selama 90 hari pada konsentrasi 10% dan 20%. Namun tidak terdapat kesepadanan tempe PRG dan non-PRG pada konsentrasi 10% dan 20% serta kasein sebagai kontrol. untuk profil lemak darah kolesterol.

Profil Ureum, Kreatinin, Protein dan Albumin dalam Darah

Stockham dan Scoot (2008) menjelaskan bahwa kadar ureum yang tinggi di dalam darah mengindikasikan adanya gangguan terhadap fungsi hati dan ginjal. Adanya gangguan hati dan ginjal dapat dilihat dari kondisi ginjal dan hati seperti terjadinya pembengkakan. Profil ureum, kreatinin, protein dan albumin dalam darah disajikan pada Tabel 12. Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap nilai ureum (Lampiran 21). Hasil uji lanjut dengan uji Duncan menunjukkan bahwa nilai ureum kelompok tempe PRG 20% dan tempe non-PRG 20% nyata lebih tinggi dibandingkan kelompok tempe PRG 10% dan tempe non-PRG 10%, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Tabel 12). Kadar ureum merupakan indikator metabolisme protein, karenanya kadar ureum berbanding lurus dengan konsentrasi protein dalam ransum. Nilai ureum semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar yang berada pada kisaran normal, yaitu sebesar 28.79-68.18 mg/dl (Sumaryono *et al* 2008).

Pada Tabel 12 hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai kreatinin (Lampiran 22). Nilai kreatinin semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar yang berada di atas kisaran normal, yaitu sebesar 0.16-0.30 mg/dl (Sumaryono *et al* 2008). Tingginya kadar kreatinin pada setiap kelompok tikus percobaan diduga disebabkan oleh jumlah protein yang dikonsumsi. Menurut Bresnahan J (2004) menyatakan bahwa kreatinin merupakan hasil sisa dari metabolisme protein otot.

Pada Tabel 12 hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan berpengaruh nyata ($p < 0.05$) terhadap nilai protein darah (Lampiran 23). Hasil uji lanjut dengan uji Duncan menunjukkan bahwa nilai protein kelompok kontrol lebih tinggi secara nyata dibandingkan kelompok tempe PRG dan non-PRG, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok tempe PRG 20%, tempe non-PRG 20%.

Tabel 12 Profil ureum, kreatinin, protein dan albumin darah tikus setelah 90 hari percobaan

Perlakuan	Ureum (mg/dl)	Kreatinin (mg/dl)	Protein (g/dl)	Albumin (g/dl)
T-PRG 10	24.66±5.17 ^a	0.74±0.10 ^a	5.82±0.55 ^{ab}	3.11±0.48 ^a
T-PRG 20	33.63±4.45 ^b	0.64±0.07 ^a	6.28±0.48 ^{abc}	3.12±0.24 ^a
T-N PRG 10	25.53±3.74 ^a	0.71±0.14 ^a	5.64±0.55 ^a	2.93±0.18 ^a
T-N PRG 20	37.08±9.11 ^b	0.67±0.08 ^a	6.41±0.52 ^{bc}	3.33±0.20 ^a
Kontrol (Kasein)	32.47±6.31 ^{ab}	0.84±0.16 ^a	6.59±0.52 ^c	3.36±0.33 ^a
Nilai Rujukan	28.79-68.18	0.16-0.30	-	3.00-3.50

Keterangan: n = 5. Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan uji jarak Duncan; T-PRG 10: Tempe PRG 10%, T-N PRG 10: Tempe non-PRG 10%, T-PRG 20: Tempe PRG 20%, T-N PRG 20: Tempe non-PRG 20%

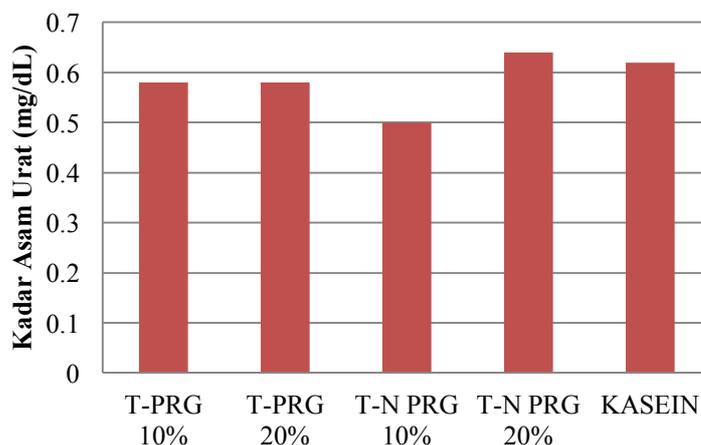
Pada Tabel 12 hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai albumin (Lampiran 24). Nilai albumin semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar yang berada di kisaran normal, yaitu sebesar 3-3.5 g/dl (Trisnarizki 2007). Hasil ini menunjukkan bahwa konsumsi tempe PRG dan non-PRG dapat mempertahankan kadar albumin

darah. Saryono *et al* (2006) menyatakan bahwa tempe dan kedelai dapat digunakan sebagai pangan alternatif bagi pasien rawat inap yang cenderung memiliki kadar albumin yang rendah agar kadar albumin plasma pasien rawat inap kembali normal.

Hasil ini menunjukkan adanya kesepadanan tempe PRG dan non-PRG serta kasein sebagai kontrol terhadap kadar kreatinin dan albumin dengan pemberian tempe PRG dan non-PRG secara terus menerus selama 90 hari pada konsentrasi 10% dan 20%. Namun tidak terdapat kesepadanan tempe PRG dan non-PRG pada konsentrasi 10% dan 20% serta kasein sebagai kontrol terhadap kadar ureum dan protein

Profil Asam Urat

Profil asam urat disajikan pada Gambar 3. Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai asam urat (Lampiran 25). Nilai asam urat semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar yang berada di kisaran normal, yaitu sebesar 0.5-1.4 mg/dl. Kadar asam urat awal pada tikus yang dianalisa sebelum percobaan dilakukan adalah 1.20 ± 0.36 mg/dL. Hasil ini menunjukkan bahwa konsumsi tempe PRG dan non-PRG secara terus menerus selama 90 hari pada konsentrasi 10% dan 20% serta kontrol (kasein) tidak meningkatkan kadar asam urat. Messina *et al* (2011) menemukan bahwa dari sembilan studi epidemiologi yang di review menyatakan bahwa tidak ada hubungan antara asupan kedelai dengan kadar asam urat, hyperurisemia atau gout. Selain itu, hasil studi yang melibatkan 450 perempuan etnis China pasca menopause yang mengalami pre-hipertensi dan pre-diabetes menemukan bahwa konsumsi kedelai tidak meningkatkan kadar asam urat (Liu *et al* 2014).



Keterangan: n = 5. T-PRG: Tempe PRG, T-N PRG: Tempe *non*-PRG

Gambar 3 Profil asam urat setelah 90 hari percobaan

Terdapat persepsi umum pada penduduk Asia bahwa pangan berbahan kedelai meningkatkan risiko terjadinya gout dan/atau menimbulkan kontra indikasi bagi penderita gout. Hal ini diperkuat oleh hasil survei kecil terhadap tenaga

kesehatan profesional yang dilakukan oleh Messina *et al.* (2011) dimana 48 % tenaga kesehatan di Indonesia, Singapura dan Thailand mempersepsikan konsumsi produk-produk kedelai dapat menyebabkan gout. Akan tetapi, tidak ada data epidemiologi maupun data klinis yang membenarkan anggapan ini. Hasil penelitian menunjukkan terdapat kesepadanan tempe PRG dan non-PRG dalam konsentrasi 10% dan 20% dan kasein sebagai kontrol secara terus menerus selama 90 hari terhadap kadar asam urat dalam darah. Oleh karena itu, praktisi kesehatan tidak tepat apabila memberikan saran kepada penderita gout untuk menghindari pangan berbahan kedelai.

Profil SGOT dan SGPT dalam Darah

Profil SGOT dan SGPT disajikan pada pada Tabel 13. Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap nilai SGOT (Lampiran 26). Nilai SGOT semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar yang berada di bawah kisaran normal, yaitu sebesar 141 U/L.

Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap nilai SGPT (Lampiran 27). Nilai SGPT semua kelompok tikus percobaan memiliki kadar yang berada di atas kisaran normal, yaitu sebesar 12.6 U/L. Namun berat relatif organ hati pada semua perlakuan tidak berbeda nyata (Tabel 13).

Tabel 13 Profil SGOT dan SGPT darah tikus setelah 90 hari percobaan

Perlakuan	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)
T-PRG 10	92.29±22.39 ^a	44.43±6.65 ^a
T-PRG 20	64.20±22.65 ^a	38.86±9.30 ^a
T-N PRG 10	79.43±8.66 ^a	49.57±7.52 ^a
T-N PRG 20	83.14±14.02 ^a	47.00±13.76 ^a
Kontrol (Kasein)	90.43±22.25 ^a	37.43±7.52 ^a
Nilai Rujukan	141.00± 67.00	12.60 ± 4.40

Keterangan: n = 5. T-PRG 10: Tempe PRG 10%, T-N PRG 10: Tempe *non*-PRG 10%, T-PRG 20: Tempe PRG 20%, T-N PRG 20: Tempe *non*-PRG 20%. Semua kelompok perlakuan memiliki nilai yang tidak berbeda nyata dengan uji Anova ($p>0.05$)

Beberapa penelitian terdahulu melaporkan bahwa parameter dalam serum darah tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) antara kelompok tikus yang diberi kedelai transgenik dengan pembandingnya, yaitu kedelai non-transgenik dan, atau kelompok tikus dengan ransum komersial atau kasein (Zhu *et al.* 2004; Tudisco *et al.* 2006; Appenzeller *et al.* 2008; Sakamoto *et al.* 2008; Daleprane *et al.* 2009; Daleprane *et al.* 2010; Qi *et al.* 2012;). Hasil penelitian menunjukkan terdapat kesepadanan tempe PRG dan non-PRG dalam konsentrasi 10% dan 20% dan kasein sebagai kontrol secara terus menerus selama 90 hari terhadap kadar SGOT dan SGPT.

Berat Organ Hati dan Ginjal

Data pengamatan berat organ hati dan ginjal tikus setelah 90 hari percobaan disajikan pada Tabel 14.

Tabel 14 Berat organ per 100 gram bobot badan tikus percobaan

Perlakuan	Berat Ginjal (gr)	Berat hati (gr)
T-PRG 10	0.25±0.0002 ^a	2.49±0.002 ^a
T-PRG 20	0.27±0.0001 ^a	2.55±0.002 ^a
T-N PRG 10	0.24±0.0001 ^a	2.44±0.001 ^a
T-N PRG 20	0.26±0.0002 ^a	2.49±0.002 ^a
Kontrol (Kasein)	0.26±0.0003 ^a	2.68±0.002 ^a

Keterangan: n = 5. T-PRG 10: Tempe PRG 10%, T-N PRG 10: Tempe *non*-PRG 10%, T-PRG 20: Tempe PRG 20%, T-N PRG 20: Tempe *non*-PRG 20%. Semua kelompok perlakuan memiliki nilai yang tidak berbeda nyata dengan uji Anova ($p>0.05$)

Pertumbuhan berat organ berbanding lurus dengan pertumbuhan berat badan tikus. Data pada Tabel 14 menunjukkan jenis perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p>0.05$) terhadap berat relatif hati dan ginjal (Lampiran 28, 29). Hal ini menunjukkan tempe PRG dan non-PRG hingga kadar protein 20% dalam ransum tidak menimbulkan kelainan terhadap organ hati dan ginjal. Hasil ini sesuai dengan hasil analisis albumin, trigliserida, SGOT, dan SGPT di serum pada kelompok tikus dengan ransum tempe PRG dan non-PRG yang tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$). Penelitian Suwarno *et al.* (2013) menunjukkan bahwa konsumsi ransum kedelai PRG tidak menimbulkan gangguan pada kesehatan. Tidak ditemukannya kerusakan jaringan pada hati dan ginjal serta tidak adanya abnormalitas beberapa parameter pada serum mengindikasikan bahwa organ hati dan ginjal berfungsi dengan baik dan tidak menimbulkan gangguan pada kesehatan.

Kadar Malondialdehida dan Superoksida Dismutase

Malondialdehida (MDA) merupakan salah satu senyawa yang menggambarkan aktivitas oksidan (radikal bebas) dalam sel (Jones *et al* 2000). MDA dapat digunakan untuk mengetahui derajat kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh peroksidasi lipid. Aktivitas antioksidan pada tempe disebabkan oleh adanya kandungan isoflavon. Isoflavon mampu merangsang ekspresi Cu-Zn SOD yang dapat melindungi sel dari stress oksidatif. Menurut Lu (2006) organ hati dan ginjal merupakan organ yang terpenting untuk mengetahui dampak toksisitas. Hasil analisis MDA hati dan ginjal disajikan pada Tabel 15.

Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p<0.01$) terhadap nilai MDA hati (Lampiran 30). Hasil uji lanjut dengan uji jarak Duncan menunjukkan bahwa nilai MDA hati kelompok tempe PRG 10% dan 20% sangat nyata lebih tinggi dibandingkan kelompok tempe non-PRG 10% dan 20% dan kontrol (Tabel 15). Tingginya kadar MDA pada kelompok tempe PRG 10% dan 20% diduga berhubungan dengan tingginya kandungan protein dan juga isoflavon dalam ransum tempe PRG 20%. Herspring *et al* (2008) melaporkan bahwa antioksidan dalam dosis tinggi bisa menjadi bumerang bagi tubuh. Antioksidan hanya akan berfungsi ketika ada senyawa pro-oksidan (pemicu proses oksidasi) dalam tubuh. Ketika dosis antioksidan dan pro-oksidan tidak seimbang atau kadar antioksidan tinggi sedangkan pro-oksidan rendah, maka tubuh akan membentuk senyawa pro-oksidan untuk menyeimbangkan kadarnya dengan antioksidan, dan hal ini akan membuat sel-sel radikal bebas tidak bisa diperbaiki

lagi (Watson, 2013). Cicerol & Derosa (2005) menyatakan bahwa MDA merupakan hasil peroksidasi lipid dalam tubuh. MDA juga merupakan hasil dari radikal bebas melalui reaksi ionisasi di dalam tubuh dan sebagai produk samping biosintesis prostaglandin. Selain itu kadar MDA juga dipengaruhi oleh terjadinya dekomposisi asam amino, kompleks karbohidrat, pentose, heksos dan biosintesis protaglandin (Cicerol dan Derosa 2005). Akan tetapi tingginya kadar MDA di hati belum disertai dengan penurunan kadar SOD di hati. SOD enzim yang mengkatalisis dismutasi ion superoksida radikal (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan molekul oksigen O_2 .

Pada Tabel 15 hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap nilai MDA ginjal (Lampiran 31). Dari kedua organ yang dianalisis, kadar MDA pada hati tikus relatif lebih tinggi dibandingkan dengan kadar MDA pada ginjal.

Tabel 15 Kadar MDA dan SOD hati dan ginjal tikus setelah 90 hari percobaan

Perlakuan	MDA Hati ($\mu\text{mol/g}$)	MDA Ginjal ($\mu\text{mol/g}$)	SOD Hati ($\mu\text{mol/g}$)	SOD Ginjal ($\mu\text{mol/g}$)
T-PRG 10	31.27 \pm 9.44 ^b	19.62 \pm 9.44 ^a	412.79 \pm 61.21 ^a	439.67 \pm 29.27 ^a
T-PRG 20	30.05 \pm 4.39 ^b	17.57 \pm 4.39 ^a	332.14 \pm 65.44 ^a	430.71 \pm 34.32 ^a
T-N PRG 10	12.72 \pm 2.05 ^a	10.76 \pm 2.05 ^a	332.14 \pm 41.39 ^a	412.79 \pm 53.76 ^a
T-N PRG 20	21.00 \pm 3.49 ^a	17.43 \pm 3.49 ^a	385.91 \pm 35.84 ^a	430.71 \pm 17.92 ^a
Kontrol (Kasein)	17.15 \pm 6.22 ^a	12.87 \pm 6.22 ^a	323.18 \pm 73.89 ^a	448.63 \pm 17.92 ^a

Keterangan: n = 5. Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda sangat nyata ($p < 0.01$) dengan uji jarak Duncan; T-PRG 10: Tempe PRG 10%, T-N PRG 10: Tempe non-PRG 10%, T-PRG 20: Tempe PRG 20%, T-N PRG 20: Tempe non-PRG 20%.

Devasagayam *et al* (2004) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dalam menetralkan radikal bebas dalam tubuh dapat berupa pencegahan terbentuknya ROS, pencegahan ini melibatkan enzim superoksida dismutase (SOD). Enzim SOD mempunyai peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menimbulkan stress oksidatif. Aktivitas SOD tertinggi ditemukan di dalam hati. Selain ditemukan di organ hati, SOD juga ditemukan pada kelenjar adrenalin, ginjal, darah, limfa, pancreas, otak paru-paru, lambung, usus, ovarium dan timus (Halliwell & Gutteridge 1997). Pada Tabel 15 hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p > 0.05$) terhadap kadar SOD hati dan ginjal (Lampiran 32 dan 33).

Penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan isoflavon pada tempe PRG dan non-PRG dapat mempertahankan kadar SOD pada hati dan ginjal tikus percobaan untuk menghambat terbentuknya radikal bebas. Astuti *et al* (2008) melaporkan bahwa tempe memiliki banyak manfaat bagi tubuh manusia, salah satunya meningkatkan enzim antioksidan SOD. Hasil ini menunjukkan adanya kesepadanan tempe PRG dan non-PRG serta kasein sebagai kontrol terhadap MDA ginjal, SOD hati dan SOD ginjal dengan pemberian tempe PRG dan non-PRG secara terus menerus selama 90 hari pada konsentrasi 10% dan 20%. Namun tidak terdapat kesepadanan tempe PRG dan non-PRG pada konsentrasi 10% dan 20% serta kasein sebagai kontrol. Terhadap MDA hati

Profil Spermatozoa

Berat testis dan hasil analisis mikroskopis spermatozoa disajikan pada Tabel 16. Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap berat relatif testis (Lampiran 34). Hal ini disebabkan oleh kualitas dan asupan protein pada semua kelompok tikus yang tak berbeda satu sama lain (Tabel 7 dan 8). Protein yang tersusun dari asam amino merupakan unsur pembangun dalam tubuh (Stryer 2000). Protein yang terdapat pada tempe, baik itu tempe PRG maupun tempe non PRG memiliki kualitas yang sama baiknya dengan protein kasein dalam membangun organ-organ tubuh tikus percobaan, termasuk organ testis.

Tabel 16 Berat testis dan Analisis makroskopis spermatozoa

Perlakuan	Berat Testis	Warna	pH	Konsistensi
T-PRG 10	0.50±0.00 ^a	Putih susu	7.00 ^a	Kental
T-PRG 20	0.37±0.00 ^a	Putih susu	7.00 ^a	Kental
T-N PRG 10	0.47±0.00 ^a	Putih	7.00 ^a	Kental
T-N PRG 20	0.59±0.01 ^a	Putih	7.00 ^a	Kental
Kontrol	0.46±0.00 ^a	Putih	7.00 ^a	Kental

Keterangan: n = 5. T-PRG 10: Tempe PRG 10%, T-N PRG 10: Tempe *non*-PRG 10%, T-PRG 20: Tempe PRG 20%, T-N PRG 20: Tempe *non*-PRG 20%. Semua kelompok perlakuan memiliki nilai yang tidak berbeda nyata dengan uji Anova ($p>0.05$)

Selain itu, data yang disajikan pada Tabel 16 menunjukkan bahwa warna spermatozoa pada setiap kelompok antara warna putih sampai putih susu. Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap nilai pH spermatozoa (Lampiran 35). Tabel 16 menunjukkan bahwa konsistensi spermatozoa pada setiap kelompok adalah kental.

Data hasil analisis profil spermatozoa yang meliputi gerakan massa, motilitas spermatozoa, gerakan individu, konsentrasi dan abnormalitas spermatozoa disajikan pada Tabel 17. Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap nilai gerakan masa spermatozoa (Lampiran 36) dan nilai motilitas spermatozoa (Lampiran 38), namun berpengaruh nyata ($p<0.05$) terhadap nilai gerakan individu spermatozoa (Lampiran 38). Hasil uji lanjut dengan uji Duncan menunjukkan bahwa nilai gerakan individu kelompok tempe non-PRG 10% dan kontrol nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tempe PRG 10% dan PRG 20%, namun tidak berbeda nyata dengan kelompok tempe non-PRG 20% (Tabel 17). Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap nilai konsentrasi spermatozoa (Lampiran 39). Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa jenis perlakuan tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap nilai abnormalitas spermatozoa (Lampiran 40).

Profil spermatozoa tikus percobaan semua kelompok perlakuan menunjukkan kualitas yang baik sesuai dengan pendapat Hafez (2000) karena motilitas individu rata-rata di atas 30% dan gerakan massa baik (2+). Penilaian motilitas spermatozoa yang progresif sangat penting untuk menunjukkan kualitas individu ternak. Gerakan massa spermatozoa yang normal berkisar antara 2+ dan 3+. Tidak terdapat perbedaan profil spermatozoa secara umum yang meliputi

gerakan massa, motilitas spermatozoa, konsentrasi dan abnormalitas spermatozoa menunjukkan kesepadanan tempe PRG dan non PRG dengan kasein sebagai kontrol sehingga tidak menimbulkan efek samping pada organ reproduksi tikus jantan. Perry *et al.* (2007) menyimpulkan bahwa tidak ada efek samping dari konsumsi protein kedelai terhadap fungsi organ reproduksi jantan kera *cynomolgus* dewasa (*Macaca fascicularis*).

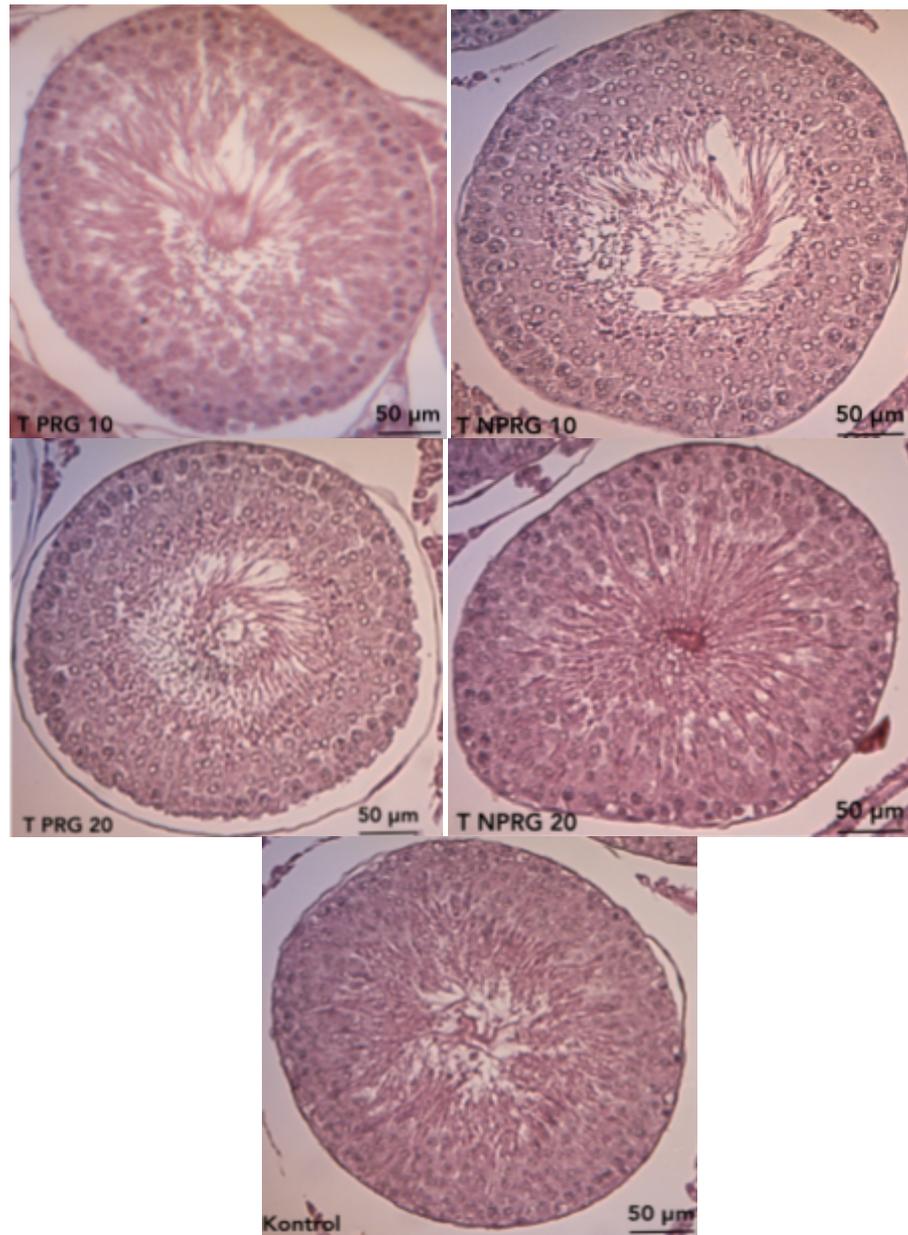
Tabel 17 Profil spermatozoa tikus setelah 90 hari percobaan

Perlakuan	Gerakan massa	Motilitas Spermatozoa (%)	Gerakan Individu (0-5)	Konsentrasi (juta/mL)	Abnormalitas Spermatozoa (%)
T-PRG 10	3.00±0.00	77.50±5.77 ^a	1.00±1.15 ^a	775.00±101.04 ^a	8.90±0.75 ^a
T-PRG 20	2.50±0.58	65.00±7.98 ^a	2.00±0.58 ^b	850.00±204.63 ^a	21.00±12.80 ^a
T-NPRG 10	2.50±0.58	77.50±2.89 ^a	3.00±0.29 ^c	812.50±305.51 ^a	7.62±1.27 ^a
T-NPRG 20	2.50±0.58	70.00±7.84 ^a	2.50±0.58 ^c	1062.03±297.26 ^a	7.50±4.21 ^a
Kontrol (Kasein)	3.00±0.00	70.00±6.57 ^a	3.00±0.29 ^c	1275.03±160.73 ^a	8.00±1.14 ^a

Keterangan: n = 5. Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan uji jarak Duncan; T-PRG: Tempe PRG, T-N PRG: Tempe *non*-PRG

Profil Tubuli Seminiferis Organ Testis

Foto mikrograf tubuli seminiferi testis tikus setelah 90 hari percobaan disajikan pada Gambar 4 yang menunjukkan posisi dan jumlah sel-sel spermatogenik yang berperan penting dalam proses pembentukan spermatozoa. Tubuli seminiferi terdiri dari sejumlah besar sel epitel *germinal* atau sel epitel benih yang disebut *spermatogonia*. *Spermatogonia* terletak di dua sampai tiga lapisan luar sel-sel epitel tubuli seminiferi. *Spermatogonia* terus-menerus membelah untuk memperbanyak diri. *Spermatogonia* berubah menjadi spermatosit *primer* melalui pembelahan *mitosis*. Selanjutnya, spermatosit primer membelah diri secara *miosis* menjadi dua spermatosit sekunder yang *haploid* dan berukuran sama. Spermatosit sekunder mengalami pembelahan *meiosis* dua menghasilkan empat spermatid. Spermatid adalah calon sperma yang belum berekor. Spermatid yang telah mempunyai ekor disebut sperma. Dari pembelahan meiosis pertama ini timbul sel berukuran lebih kecil yang disebut spermatosit sekunder. Spermatosit sekunder sulit diamati dalam sediaan testis karena merupakan sel berumur pendek dan berada dalam tahap interfase yang sangat singkat dan dengan cepat memasuki pembelahan meiosis kedua. Pembelahan spermatosit sekunder menghasilkan spermatid.



Gambar 4 Foto Mikrograf Tubuli Seminiferi Testis Tikus setelah 90 hari percobaan pada setiap perlakuan (pewarnaan HE) dengan skala 50 µm

Hasil analisis jumlah sel-sel spermatogenik disajikan pada Tabel 18. Setiap satu sel spermatogonium akan menghasilkan empat sel spermatozoa yang matang. Dalam tahap awal proses ini, sel spermatogonium membelah secara mitosis menjadi sel spermatosit primer. Sel spermatosit primer kemudian membelah secara meiosis menjadi sel spermatosit sekunder yang berkembang menjadi spermatid dan selanjutnya menjadi spermatozoa (Samuelson 2007). Analisis ragam (ANOVA) menunjukkan jenis perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0.01$) terhadap jumlah spermatogonium (Lampiran 41). Namun jenis perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap jumlah spermatosit primer, spermatid awal, spermatid akhir, total sel spermatogenik dan sel Leydig. Hal ini membuktikan bahwa terdapat kesepadanan konsumsi tempe PRG dan non-PRG baik dalam konsentrasi 10% maupun 20% dan kasein sebagai kontrol terhadap proses spermatogenesis.

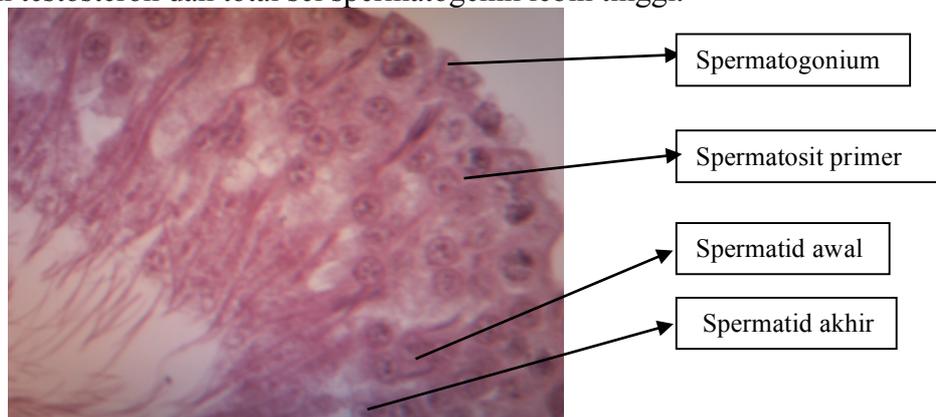
Spermatogenesis merupakan proses pembentukan spermatozoa pada tubuli seminiferis testis (Samuelson 2007).

Tabel 18 Hasil analisis jumlah sel-sel spermatogenik jaringan testis tikus setelah 90 hari percobaan

Kelompok Perlakuan	T-PRG 10%	T-NPRG 10%	T-PRG 20%	T-NPRG 20%	Kontrol (Kasein)
Spermatogonia	74.80±5.07 ^a	71.80±8.17 ^a	71.20±6.83 ^a	87.20±13.57 ^b	88.20±5.40 ^b
Spermatosit	65.00±10.46 ^a	64.20±10.73 ^a	64.00±11.20 ^a	75.00±7.52 ^a	78.40±5.46 ^a
Spermatid awal	144.80±21.11 ^a	175.60±20.03 ^a	146.80±32.73 ^a	158.40±25.60 ^a	167.00±9.82 ^a
Spermatid akhir	151.00±27.99 ^a	159.00±51.72 ^a	141.80±51.36 ^a	143.60±69.71 ^a	154.80±14.59 ^a
Total Spermatogenik	435.60±27.53 ^a	470.60±35.40 ^a	423.80±36.62 ^a	464.20±44.57 ^a	488.40±7.82 ^a
Sel Leydig	65.60±6.22 ^a	64.60±3.76 ^a	60.80±2.16 ^a	63.20±5.26 ^a	69.00±4.06 ^a

Keterangan: n = 5. Nilai yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan sangat berbeda nyata ($p < 0.01$) dengan uji jarak Duncan; T-PRG = Tempe PRG, T-NPRG = Tempe non-PRG

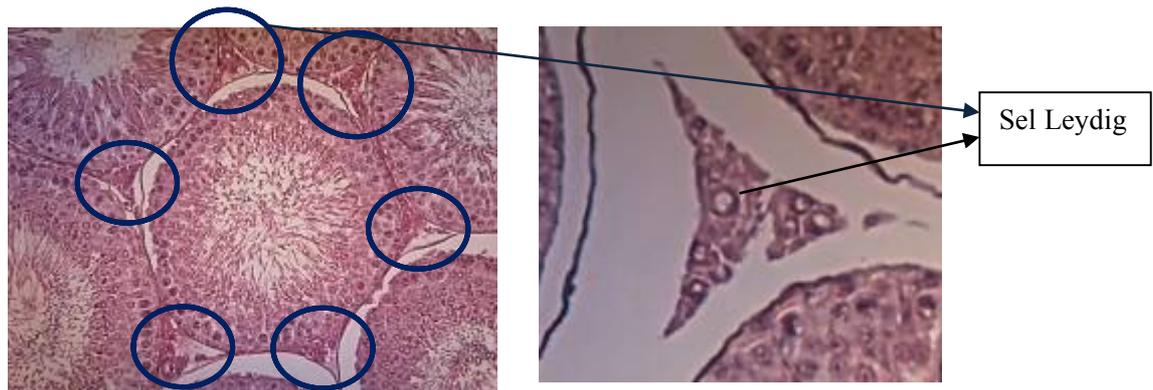
Penelitian-penelitian mutakhir menunjukkan bahwa tempe mengandung senyawa yang berperan sebagai antioksidan dalam tubuh manusia, yaitu isoflavon berupa daidzein dan genestein (Haron *et al.* 2009). Menurut Sikka (2004), terdapatnya *radical scavenger* akan membersihkan radikal bebas pada jaringan-jaringan yang memproduksi spermatozoa. Peran isoflavon sebagai penangkap radikal bebas secara langsung, diduga mampu mencegah oksidasi sel testis atau mencegah terbentuknya hasil peroksidasi lipid asam lemak tidak jenuh pada jaringan yang memproduksi spermatozoa. Penelitian Astuti *et al* (2008), kombinasi tepung kedelai kaya akan isoflavon, Zn, dan vitamin E pada tikus jantan menghasilkan hormon testosteron dan total sel spermatogenik lebih tinggi.



Gambar 5 Foto histologi sel spermatogenik

Proses spermatogenesis sangat dipengaruhi oleh kerja berbagai hormon yang disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior, juga oleh hormon lain yang dihasilkan testes melalui mekanisme umpan balik negatif. Mula-mula, hipotalamus mengeluarkan faktor pelepas yang menstimulasi kelenjar hipofisis anterior untuk menyekresi *Follicle Stimulating Hormone* (FSH) dan *Luteinizing Hormone* (LH).

Selanjutnya FSH merangsang sel-sel Sertoli pada testis untuk menghasilkan androgen binding protein (ABP). Sedangkan LH merangsang sel-sel Leydig untuk menyekresi hormon testosteron. Testosteron dan FSH secara bersama-sama mengendalikan pembentukan sperma selanjutnya. FSH berfungsi untuk merangsang sel Sertoli menghasilkan ABP (Androgen Binding Protein) yang akan memacu spermatogonium untuk memulai proses spermatogenesis. Hormon ini penting bagi tahap pembelahan sel-sel germinal untuk membentuk sperma, terutama pembelahan meiosis untuk membentuk spermatosit sekunder (Samuelson 2007).



Gambar 6 Foto histologi Sel Leydig

Foto mikrograf sel Leydig disajikan pada Gambar 6. Sel Leydig terletak berkelompok memadat di area segitiga yang terbentuk oleh susunan-susunan tubulus seminiferis. Penurunan jumlah sel Leydig akan mempengaruhi kadar testosteron yang dihasilkan sehingga dapat mempengaruhi proses spermatogenesis. Hasil perhitungan jumlah sel Leydig disajikan pada Tabel 17. Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan jenis perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap jumlah sel Leydig. Hal ini membuktikan bahwa terdapat kesepadanan konsumsi tempe PRG dan non-PRG dan kasein sebagai kontrol terhadap jumlah sel Leydig. Sehingga tidak perlu ada kekhawatiran akan konsumsi tempe PRG maupun non-PRG terhadap proses spermatogenesis.

5 SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Hasil analisis terhadap konsumsi ransum menunjukkan perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0.01$) terhadap total konsumsi ransum, total asupan protein, dan perubahan berat badan. Kelompok perlakuan tempe PRG 10% memiliki total konsumsi ransum dan asupan protein lebih rendah dibandingkan kelompok non PRG 10 dan kelompok kontrol. Hal ini diduga berkaitan dengan organoleptik tempe non PRG dan Kasein yang lebih baik dibanding tempe PRG, sehingga lebih disukai. Kenaikan berat badan berbanding lurus dengan total asupan protein, sehingga perbedaan kenaikan berat badan yang terjadi lebih disebabkan oleh kuantitas asupan protein, bukan kualitas protein. Hasil analisis mutu protein berdasarkan metode pertumbuhan dan metode keseimbangan nitrogen, menunjukkan perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap *Feed Conversion Efficiency* (FCE), *Protein Efficiency Ratio* (PER), *Net Protein Ratio* (NPR), *True Digestibility* (TD), *Biological Value* (BV), dan *Net Protein Utilization* (NPU). Hal ini menunjukkan bahwa mutu protein tempe dari kedelai PRG sepadan dengan tempe non-PRG dan sama baiknya dengan protein kasein.

Hasil analisis hematologi menunjukkan perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap kadar hemoglobin, leukosit, trombosit, hematokrit dan eritrosit. Selain itu, perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap kadar trigliserida, HDL, LDL, kreatinin, albumin, asam urat, SGOT dan SGPT. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat kesepadanan tempe PRG dan non-PRG terhadap profil hematologi tikus percobaan, baik itu pada konsentrasi 10% maupun 20%. Hasil analisis serum menunjukkan perlakuan berpengaruh secara nyata ($p < 0.05$) terhadap kadar kolesterol, ureum dan protein. Konsumsi tempe PRG dan non-PRG dalam konsentrasi lebih besar (20%) baik itu terbukti menurunkan kadar total kolesterol.

Hasil analisis terhadap organ hati dan ginjal menunjukkan perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap berat organ hati dan ginjal. Hal ini sesuai dengan analisis albumin, trigliserida, SGPT dan SGOT yang menunjukkan fungsi dalam keadaan baik. Perlakuan berpengaruh secara nyata ($p < 0.01$) antar terhadap MDA hati. Akan tetapi perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap MDA ginjal, SOD hati dan SOD ginjal.

Hasil analisis makroskopis organ testis menunjukkan perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap berat testis dan pH. Parameter warna secara keseluruhan putih dengan konsistensi kental. Analisis mikroskopis organ testis menunjukkan perlakuan berpengaruh secara nyata ($p < 0.05$) terhadap gerakan individu dan konsentrasi. Perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap gerakan massa, motilitas spermatozoa, dan konsentrasi. Analisis mikroskopis profil tubuli seminiferus testis menunjukkan perlakuan berpengaruh secara nyata ($p > 0.01$) terhadap spermatogonium. Sedangkan perlakuan tidak berpengaruh secara nyata ($p > 0.05$) terhadap spermatosit, spermatid awal, spermatid akhir, total sel spermatogenik, dan sel leydig. Hasil ini menunjukkan terdapat kesepadanan tempe PRG dan non-PRG baik itu pada konsentrasi 10% maupun 20% serta kontrol terhadap profil spermatozoa tikus percobaan.

Hasil evaluasi kesepadanan mutu protein tempe yang dibuat dari kedelai PRG dan non-PRG secara *in vivo* pada tikus jantan *Sprague-Dawley*, menunjukkan bahwa tempe PRG sepadan dan sama amannya dengan tempe non-PRG.

Saran

Perlu dilakukan sosialisasi dan edukasi yang baik, benar dan berimbang kepada masyarakat luas bahwa tempe PRG dan non PRG adalah sepadan. Selain itu tempe merupakan produk warisan budaya bangsa Indonesia yang memiliki manfaat kesehatan dan potensi ekonomi yang sangat tinggi, tidak perlu ada kekhawatiran yang berlebihan atas penggunaan kedelai PRG sebagai bahan baku pembuatan tempe. Namun demikian, perlu dilakukan uji klinis pada manusia untuk lebih mengkonfirmasi hasil yang diperoleh pada uji pre-klinis ini.

Pemerintah sebaiknya mengadopsi bioteknologi untuk penanaman kedelai PRG yang telah memiliki keunggulan dan sesuai dengan karakteristik praktek pertanian di Indonesia dengan tujuan untuk meningkatkan produktifitas kedelai.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analysis Chemist*. Washington DC(USA): AOAC Inc.
- Alberts J. 2000. *What Does Research Say About Effectiveness of Glucosamine and Chondroitin Sulfate Use in Osteoarthritis Sufferers*. University of California. Di dalam: Esther Ho, Leigh Anne Rice, Editor.
- Anderson, LW., Krathwohl, DR. (Ed). 2001. *A Taxonomy For Learning, Teaching, and Assessing*. New York: Addison Wesley Longman Inc
- Appenzeller LM *et al*. 2008. Subchronic feeding study of herbicide-tolerant soybean DP-356043-5 in Sparague-Dawley rats. *Food and chemical Toxicology*, 46:2201-2213.
- Arrington LR. 1972. *Animal Laboratory : In Introduction Laboratory Animal Science- The Breeding, Care and Management of Experimental Animals*. Michigan (USA) : Interstate Printers & Publishers.
- Astuti M, Meliala A, Dalais FS, Wahlqvist ML. 2003. Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia. *Asia Pacific J Clin Nutr* 9(4): 322–325.
- Astuti S. Isoflavon kedelai dan potensinya sebagai penangkap radikal bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 2008;13(2):126-136
- Astuti S, Muchtadi D, Astawan M, Purwantara B, Wresdiyati T. 2008. Pengaruh pemberian tepung kedelai kaya isoflavon, Seng, dan Vitamin E terhadap kadar hormon testosteron serum dan jumlah sel spermatogenik pada tubuli seminiferi testis tikus jantan. *JITV* 13(4):228-293
- Astawan M. 2008. *Khasiat Tempe*. Jakarta (ID) : Gramedia Pustaka Utama
- Astawan M. 2009. *Sehat dengan Hidangan Kacang dan Biji-Bijian*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- [Bappebti] Badan Pengawas Perdagangan Berjangka Komoditi. 2013. Kebutuhan Kedelai Nasional. *Tribun news*.
- [BPS] Badan Pusat Statistik. Produksi Padi, Jagung, dan Kedelai. *Berita Resmi Statistik* 2013;45
- Bastiansyah E. 2008. *Panduan Lengkap : Membaca Hasil Tes Kesehatan*. Jakarta(ID): Penebar Plus.
- Bisping B *et al* 1993 Tempe fermentation: some aspects of formation of γ -linolenic acid, proteases and vitamins. *Bvotech. Ad*;11:481-493.
- Boga Y. 2005. *Tahu & Tempe Plus Susu Kedelai*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Booth C J, Brooks M B, Rockwell S. 2010. Spontaneous Coagulopathy in Inbred WAG/RijYcb Rats. *J Comp Med* 60(1) : 25–30.
- Bresnahan J. 2004. Biological and Physiological Data on Laboratory Animal. *Jurnal Kansas State University* 15

- Brata-Arbai AM. 2001. Cholesterol Lowering Effect of Tempe. Di dalam : *The Complete Handbook of Tempe*. Jakarta : American Soybean Association
- Cahyadi W. 2007. *Kedelai Khasiat dan Teknologi*. Jakarta(ID) : Bumi Aksara.
- Carpenter EJ. 2001. *Case Studies in Benefits and Risks of Agricultural Biotechnology* : Roundup Ready Soybeans and Bt Field Corn.
- Cicerol, A.F.G. and Derosa, G. 2005. Rice bran and its main components: potential role in the management of coronary risk factors. Hypocholesterolemic effect of diet supplemented with indian bean (*Dolichos lablab* L. var *Lignosus*) seeds. *J. Nutr & Food Sci* Vol 37(6): 425-456
- Council for Biotechnology Information 2001. *Substantial Equivalence in Food Safety Assessment*. Biotech.
- Chavarro JE, Toth TL, Sadio SM, Hauser R. 2008. Soy food and Isoflavone Intake in Relation to Semen Quality Parameters among Men from an Infertility Clinic. *Humm Reprod*. Vol. 23:2584-90
- Croxford, Thomas P, Nocholas H, McCormick, Shannon LK. 2010. Moderate Zinc Deficiency Reduces Testicular Zip6 and Zip10 Abundance and Impairs Spermatogenesis in Mice. *J. Nutrition* 141: 359-365
- Clarkson TB. 2002. Soy, soy phytoestrogens and cardiovascular disease risk. *Journal Nutr*. Vol 132(5) : 66-69
- Darmasiwi S. 2007. Amankah Mengkonsumsi Tanaman Transgenik? <http://id.shvoong.com/exact-sciences/biology/1626834-amankah-mengkonsumsi-tanaman-transgenik/>. [25 November 2013]
- Daleprane JB, Feijo TS, Boaventure GT. 2009. Organic and genetically soybean diets : Consequences in Growth and in Hematological Indicators of Aged Rats. *Plant Foods Human Nutrition*, 64:1-5
- Departemen Pertanian. 2012. Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Kedelai. <http://www.litbang.deptan.go.id> [28 November 2013].
- Desminarti S, Rimbawan, Anwar F dan Winarto A. 2012. Efek bubuk tempe instan terhadap kadar malonadehid (MDA) serum tikus hiperglikemik. *Journal Kedokteran Hewan*. Vol. 6(2): 197-205.
- Devasagayam T *et al*, 2004. Review Article : Free Radicals and Antioxidants in Human Health : Current Status and Future Prospects. *Japi* Vol 52 : 794-795
- Egounlety M dan Aworh OC. 2003. Effect of soaking, dehulling, cooking and fermentation with *Rhizopus oligosporus* on the oligosaccharides, trypsin inhibitor, phytic acid and tannins of soybean (*Glycine max* Merr.), cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) and groundbean (*Macrotyloma geocarpa* Harms). *J Food Eng* 56:249-254.
- Erdmen JW. 2000. Soy protein and cardiovascular disease Risk. *Journal Science*. Vol 102(3):2555-2559
- Estridge B H, Reynolds A P, Walters N J. 2000. *Basic Medical Laboratory Techniques 4 th Edition*. United States of America: Thomson Learning.

- European Commission. 2008. Scientific and technical contribution to the development of an overall strategy in the area of GMOs. *European Commission's Joint Research Centre*.
- European Food Safety Authority. 2011. Guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed. *Journal EFSA* 9(12):2438
- FAO/WHO. 2000. Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Switzerland : *FAO/WHO*.
- Gardner CD, Newell KA, Cherin R, dan Haskell WL. 2001. The Effect of Soy Protein With or Without Isoflavones Relative to Milk Protein on Plasma Lipids in Hypercholesterolemic Postmenopausal Women. *Am J Clin Nutr*.73:728–35
- Gu, C. Pan, H. Sun, Z. Qin, G. 2010. Effect of soybean variety on anti-nutritional factors content, and growth performance and nutrient metabolism in rat. *Int. J. Mol. Sci*.11, 1048-1056
- Hardinsyah. 2010. Soy Foods Consumption in Indonesia. *Presentasi pada The 3th S.E. Soy Symposium: Health, Social-Cultural Aspect and Market Perspectives*. ASAIM & Unika Widya Mandala, Surabaya, 2-3 Agustus 2010
- Hafez B. 2000. Micromanipulation of Gametes and Embryos: In-Vitro Fertilization and Embryo Transfer (IVF/ET). In *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. (E.S.E. Hafez). Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia
- Herspring, Kyle F., Leonardo F. Ferreira, Steven W. Copp, Brian S. Snyder, David C. Poole, Timothy I. Musch. 2008. Effects of antioxidants on contracting spinotrapezius muscle microvascular oxygenation and blood flow in aged rats. *Journal of Applied Physiology* Dec 2008, 105 (6) 1889-1896; **DOI**: 10.1152/jappphysiol.90642.2008
- Halliwell B dan Gutteridge. 1997. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press.
- Haron H *et al.* 2009. Daidzein and genestein contents in tempeh and selected soy products. *Food Chemistry* 115 (2009) 1350–1356
- Hartoyo, A., N Dahrulsyah, Sripalupi dan P. Nugroho. 2008. Pengaruh Fraksi Karbohidrat Kacang Komak (Lablab Purpureus (L) Sweet). *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*. 19: 25-31
- Hemre GI, Sanden M, Bakke-McKellep AM, Sagstad A, Krogdahl A. 2005. Growth, feed utilization and health of Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed genetically modified compared to non-modified commercial hybrid soybeans. *Aquaculture Nutrition*, 11:157-167
- Hachmeister KA., Fung DY. 1993. Tempeh; a mold-modified indigenous fermented food made from soybeans and/or cereal grains. *Critical reviews in microbiology*, 19(3): 137-188
- Herwiyarirasanta., BA, Eduardus. 2010. Effect of Black Soybean Extract Supplementation in Low Density Lipoprotein Level of Rats (*Rattus*

- norvegicus) With High Fat Diet. *Science Article Universitas Airlangga*. Surabaya
- Hoffman, JR. Falvo, MJ. 2004. Protein-Which is best?. *J Sport Scie and Med*.3:118-130
- Hrapkiewicz K, Medina L. 1998. *Cinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction*. State Avenue : Iowa State University Press
- [ISAA] International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Application 2006. In http://www.PRG-compass.org/eng_biotechnology/PRGplanting/257.global_planting_2006.html. [23 Desember 2013].
- Karmana Wayan I 2009. Adopsi Tanaman Transgenik dan Beberapa Aspek Pertimbangannya. *Gane C Swara* 3 (2) : 12-21.
- Kiers, JL. Meijer, JC Nout, MJR. Rombouts, F.M Nabuurs, M.J.A. Meulen, J.V.D. 2003. Effect of fermented soya beans on diarrhea and feed efficiency in weaned piglets. *J. Appl. Microbiol.* 95-545. DOI:10.1046/j.1365-2672.2003.02011.x
- Kementerian Pertanian. 2013. *Pendoman Teknis Pengelolaan Produksi Kedelai Tahun 2013*. Direktorat Jendral Tanaman Pangan Kementerian Pertanian.
- Koswara S. 2006. Isoflavon, Senyawa Multi Manfaat dalam Kedelai. [terhubung berkala]. Bogor: ebookpangan.com [11 November 2013].
- Liu. 1997. *Chesmistry, Technology, and Utilization*. USA: International Thomson Publishing
- Lu FC. 2006. *Toksikologi Ginjal*. Dalam Toksikologi Dasar. Jakarta (ID): Universitas Indonesia Press: 224-235.
- Lichtenstein AH. 1998. Soy protein, isoflavones and cardiovascular disease risk. *Journal Nutr.* Vol 128(2): 1589-1592.
- Misra HP, Fridovich I. 1972. *Bio Chem*. London (UK) : Academic Press Limited
- Muchtadi D. 2010. *Teknik Evaluasi Nilai Gizi Protein*. Bandung (ID) : Alfabeta.
- Mursyid, Astawan M, Muchtadi D, Wresdiyati T, Widowati S, Bintari S.H, Suwarno M. 2013. Evaluasi nilai gizi protein tempe yang terbuat dari varietas kedelai impor dan lokal. *Jurnal Pangan*. Vol.23(1):1-107
- Murray RK *et al.* 2003. *Harper's Illustrated Biochemistry*. USA : The Mc.Graw-Hill companies.
- Messina M. 2006 . Soy protein, soybean isoflavones, and coronary heart disease risk. *Asia Pasific J Clin Nutri* (2):55-74.
- Messina M. 2011. Soyfood, hyperuricemia and gout: A review of the epidemiologic and clinical data. *Asia Pasific J Clin Nutri* 20(3):347-358
- National Institutes of Health (NIH). 1992. *National Biotechnology Policy Board report*. Bethesda : NIH.

- Perry DL, *et al.* 2007. Dietary Soy Protein Containing Isoflavonoids Does Not Adversely Affect the Reproductive Tract of Male Cynomolgus Macaques (*Macaca fascicularis*). *J. Nutr.* 137:1390 – 1394
- Qi X, *et al.* 2012. Subchronic feeding study of stacked trait genetically-modified soybean (3 Ø5423 x 40-3-2) in Sprague-Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology*, 50:3256-3263
- Ramatina, Amalia L, Ekayanti I. 2014. Pengaruh suplemen antioksidan terhadap kadar malonaldehid plasma mahasiswi IPB. *Jurnal Pangan dan Gizi*. Vol. 9(1): 35-42
- Rie T, Reiko O, Chikako K, Yukihiko M, Fumitaka O, Kazuo K. 2005. Antioxidant Activities of Black and Yellow Soybeans against Low Density Lipoprotein Oxidation. *Journal Agric Food Chem.* 53 (11). pp 4578–4582
- Ridges L, Sunderland R, Moerman K, Meyer B, Astheimer L, Howe P. 2001. Cholesterol lowering benefits of soy and linseed enriched foods. *Journal Clin Nutr.* Vol 10.No.3 : 204-211.
- Reference M. 2008. The Illustrated Encyclopedia Of North American Mammals: A Comprehensive Guide To Mammals Of North America. [terhubung berkala]. <http://books.google.co.id/books?id=VxK4KWrGn2cC&printsec=frontcover&vq=Sprague-Dawley&hl=id#v=onepage&q=Sprague-Dawley&f=false>. [19 November 2013].
- Sacher RA, Pherson ARM. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Ryan, penerjemah; Huriawati H, editor. Jakarta (ID) : EGC. Terjemahan dari: Clinical Skills for Pharmacists. Ed ke-11.
- Sack FM, Lichtenstein, A, van Horn L, Harris W, Kris - Etherton P, Winston. Soy protein, isoflavones, and cardiovascular health: An American Heart Association Science Advisory for Professionals from the Nutrition Committee. *Circulation* 2006; 113(7):1034-44
- Sakamoto Y, Tada Y, Fukumori N, Tayama K, Ando H, Takahashi H, Kubo Y, Nagasawa A, Yano N, Yuzawa K, Ogata A. 2012. A 104-Week Feeding Study of Genetically Modified Soybeans in F344 Rats. *J. Food Hyg. Soc. Japan* Vol. 49, No. 4
- Samuelson DA. 2007. *Textbook of Veterinary Histology*. Saunders Elsevier. St Louis, Missouri
- Samuelson. 2007. *Textbook of veterinary Histology*. Florida : Elsevier Inc.
- SEAFAST. 2008. evaluation of five (5) soybean varieties for tempe, tofu and soymilk production. *Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology Center* (SEAFAST Center). Institut Pertanian Bogor
- Suckow *et al* 2006. *The Laboratory Rat*. California: Elsevier Inc.
- Stockham SL, Scott MA. 2008. *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 2nd edition. Iowa (USA). Blackwell Publishing.
- Stryer L. 2000. *Biokimia*. Sadikin, penerjemah. Jakarta (ID) : EGC. Terjemahan dari : *Biochemistry*.

- Sumi HC, Yatagai. 2006. Fermented soybeans components and disease prevention. *Journal Science*. doi:10.1201/9781420026566.ch15.
- Schaafsma G. 2000. The Protein Digestibility–Corrected Amino Acid Score. *Journal of Nutrition* Vol 130(7) :1865-1867.
- Suwarno M, *et al.* 2013. Evaluasi keamanan tempe dari kedelai transgenik melalui uji subkronis pada tikus. *Jurnal Veteriner* Vol.15 No.3 : 353-362.
- Turner AH, Pike MJ, Francis MA. 2008. Haematology what does your blood test mean ?. Workshop at RMIT's Experience Health and Medical Science day. [Internet] [diunduh 2014 November 8]. Tersedia pada <http://mams.rmit.edu.au/hgfc58lk9pwc1.pdf>.
- Toelihere MR. 1985. *Fisiologi reproduksi ternak*. Bandung (ID): Angkasa
- USDA Animal and Plant Health Inspection Service. 1994a. *APHIS-USDA Petition 93-258-01 for Determination of Nonregulated Status for Glyphosate-Tolerant Soybean Line 40-3-2: Environmental Assessment and Finding of No Significant Impact.*
- Utari DM, Rimbawan, Riyadi H, Muhilal, Purwastyastuti. 2010. Pengaruh pengolahan kedelai menjadi tempe dan pemasakan tempe terhadap kadar isoflavan. *Jurnal Gizi dan Makanan*. Vol 33(2):148-153.
- Waggersmans RM, Trautwein EA. Relation between soy-associated isoflavones and LDL and HDL concentrations in humans: a meta analysis. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57(8):940-6
- Watson J. 2013 Oxidants, antioxidants and the current incurability of metastatic cancers. *Open Biol* 3: 120144. <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.120144>
- Winarno FG. 1992. *Kimia Pangan*. Jakarta (ID) : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Yu KH, See LC, Huang YC, Yang CH, Sun JH. 2008. *Dietary factors associated with hyperuricemia in adults*. *Seminar Arthritis Rheum*. 7(4):243-50
- Zhu Y, Li D, Wang F, Yin J, Jin H. 2004. Nutritional assesment and fate of DNA of soybean meal from roundup ready or conventional soybeans using rats. *Archieves of Animal Nutrion*, 58 (4): 295-310.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil sidik ragam (ANOVA) konsumsi ransum

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	57904.751 ^a	2	28952.375	35.431	.000
Intercept	4623750.016	1	4623750.016	5.658E3	.000
PERLAKUAN	57904.751	2	28952.375	35.431	.000
Error	9805.877	12	817.156		
Total	4691460.643	15			
Corrected Total	67710.627	14			

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset		
		1	2	3
TEMPE PRG 10%	5	4.7590E2		
TEMPE non PRG 10%	5		5.6208E2	
KONTROL	5			6.2763E2
Sig.		1.000	1.000	1.000

Lampiran 2 Hasil sidik ragam (ANOVA) asupan protein

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	875.627 ^a	2	437.814	50.627	.000
Intercept	50310.471	1	50310.471	5.818E3	.000
PERLAKUAN	875.627	2	437.814	50.627	.000
Error	103.773	12	8.648		
Total	51289.871	15			
Corrected Total	979.400	14			

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset		
		1	2	3
TEMPE PRG 10%	5	48.0420		
TEMPE non PRG 10%	5		59.0460	
KONTROL	5			66.6540
Sig.		1.000	1.000	1.000

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3024.400 ^a	2	1512.200	8.118	.006
Intercept	125858.400	1	125858.400	675.689	.000
PERLAKUAN	3024.400	2	1512.200	8.118	.006
Error	2235.200	12	186.267		
Total	131118.000	15			
Corrected Total	5259.600	14			

Lampiran 3 Hasil sidik ragam (ANOVA) berat badan

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset	
		1	2
TEMPE PRG 10%	5	71.8000	
TEMPE non PRG 10%	5		98.6000
KONTROL	5		1.0440E2
Sig.		1.000	.514

Lampiran 4 Data Mutu Protein Berdasarkan Mutu Pertumbuhan

	Σ Ransum (gram)	Δ BB (gram)	FCE (%)	PER (%)	NPR (%)
T-PRG10%	490.36	89	18.15	1.80	2.06
	445.98	96	21.53	2.13	2.42
	515.88	104	20.16	2.00	2.24
	495.72	82	16.54	1.64	1.89
	633	127	20.06	1.99	2.19
T-NPRG10%	615.42	123	19.99	1.90	2.10
	545.58	85	15.58	1.48	1.71
	567.06	94	16.58	1.58	1.79
	511.44	85	16.62	1.58	1.82
	630.81	139	22.04	2.10	2.29
KONTROL	638.25	103	16.14	1.52	1.71
	668.39	142	21.25	2.00	2.18
	605.38	102	16.85	1.59	1.79
	600.36	116	19.32	1.82	2.02
	625.76	113	18.06	1.70	1.89

Lampiran 5 Hasil sidik ragam (ANOVA) FCE

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.706 ^a	2	1.853	.360	.705
Intercept	5184.565	1	5184.565	1.008E3	.000
PERLAKUAN	3.706	2	1.853	.360	.705
Error	61.723	12	5.144		
Total	5249.994	15			
Corrected Total	65.429	14			

Lampiran 6 Hasil sidik ragam (ANOVA) PER

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.114 ^a	2	.057	1.208	.333
Intercept	47.990	1	47.990	1.016E3	.000
PERLAKUAN	.114	2	.057	1.208	.333
Error	.567	12	.047		
Total	48.671	15			
Corrected Total	.681	14			

Lampiran 7 Hasil sidik ragam (ANOVA) NPR

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.153 ^a	2	1.077	3.430	.066
Intercept	35.883	1	35.883	114.339	.000
PERLAKUAN	2.153	2	1.077	3.430	.066
Error	3.766	12	.314		
Total	41.802	15			
Corrected Total	5.919	14			

Lampiran 8 Data Keseimbangan Nitrogen

Kelompok	N Feses (F)	N Urine (U)	N Intake (I)	TD (%)	BV (%)	NPU (%)
T-PRG10%	15.0842	3.92	1500.88	99.00	99.74	98.74
	21.097	23.808	2311.39	99.09	98.96	98.06
	21.3979	1.062	2450.70	99.13	99.96	99.09
	17.0208	0.45	1874.67	99.09	99.98	99.07
	28.993	3.25	4203.41	99.31	99.92	99.23
T-NPRG 10%	28.566	12.36	4474.01	99.36	99.72	99.09
	23.6201	3.68	2909.05	99.19	99.87	99.06
	20.4092	1.625	2607.89	99.22	99.94	99.16
	29.0092	15.222	3645.30	99.21	99.58	98.79
	34.8289	13.019	5181.50	99.33	99.75	99.08
KONTROL	13.9072	13.005	1837.98	99.24	99.29	98.54
	20.2462	21.594	2883.06	99.30	99.25	98.55
	12.2748	10.028	1494.58	99.18	99.32	98.51
	14.1608	16.215	1923.32	99.27	99.15	98.42
	18.3225	25.74	2422.23	99.24	98.93	98.18

Lampiran 9 Hasil sidik ragam (ANOVA) TD

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.012 ^a	2	.006	2.792	.101
Intercept	149584.888	1	149584.888	7.111E7	.000
PERLAKUAN	.012	2	.006	2.792	.101
Error	.025	12	.002		
Total	149584.925	15			
Corrected Total	.037	14			

Lampiran 10 Hasil sidik ragam (ANOVA) BV

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.002 ^a	2	.001	1.691	.225
Intercept	149870.028	1	149870.028	2.710E8	.000
PERLAKUAN	.002	2	.001	1.691	.225
Error	.007	12	.001		
Total	149870.037	15			
Corrected Total	.009	14			

Lampiran 11 Hasil sidik ragam (ANOVA) NPU

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.017 ^a	2	.009	2.109	.164
Intercept	149455.096	1	149455.096	3.670E7	.000
PERLAKUAN	.017	2	.009	2.109	.164
Error	.049	12	.004		
Total	149455.162	15			
Corrected Total	.066	14			

Lampiran 12 Hasil sidik ragam (ANOVA) hemoglobin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.574 ^a	4	.643	1.759	.177
Intercept	4621.280	1	4621.280	1.263E4	.000
PERLAKUAN	2.574	4	.643	1.759	.177
Error	7.316	20	.366		
Total	4631.170	25			
Corrected Total	9.890	24			

Lampiran 13 Hasil sidik ragam (ANOVA) leukosit

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	43.086 ^a	4	10.771	2.156	.111
Intercept	1415.264	1	1415.264	283.223	.000
PERLAKUAN	43.086	4	10.771	2.156	.111
Error	99.940	20	4.997		
Total	1558.290	25			
Corrected Total	143.026	24			

Lampiran 14 Hasil sidik ragam (ANOVA) trombosit

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	19874.560 ^a	4	4968.640	2.798	.054
Intercept	9307380.640	1	9307380.640	5.242E3	.000
PERLAKUAN	19874.560	4	4968.640	2.798	.054
Error	35510.800	20	1775.540		
Total	9362766.000	25			
Corrected Total	55385.360	24			

Lampiran 15 Hasil sidik ragam (ANOVA) hematokrit

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	32.254 ^a	4	8.064	2.746	.057
Intercept	31421.108	1	31421.108	1.070E4	.000
PERLAKUAN	32.254	4	8.064	2.746	.057
Error	58.728	20	2.936		
Total	31512.090	25			
Corrected Total	90.982	24			

Lampiran 16 Hasil sidik ragam (ANOVA) eritrosit

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.732 ^a	4	.183	.963	.450
Intercept	1540.877	1	1540.877	8.105E3	.000
PERLAKUAN	.732	4	.183	.963	.450
Error	3.802	20	.190		
Total	1545.411	25			
Corrected Total	4.534	24			

Lampiran 17 Hasil sidik ragam (ANOVA) kolesterol

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1457.200 ^a	4	364.300	3.813	.018
Intercept	76176.000	1	76176.000	797.320	.000
PERLAKUAN	1457.200	4	364.300	3.813	.018
Error	1910.800	20	95.540		
Total	79544.000	25			
Corrected Total	3368.000	24			

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset	
		1	2
TEMPE PRG 20%	5	47.6000	
TEMPE non PRG 20%	5	48.2000	
TEMPE non PRG 10%	5	53.0000	
KONTROL	5	59.2000	59.2000
TEMPE PRG 10%	5		68.0000
Sig.		.099	.170

Lampiran 18 Hasil sidik ragam (ANOVA) trigliserida

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1938.640 ^a	4	484.660	2.606	.067
Intercept	70543.360	1	70543.360	379.265	.000
PERLAKUAN	1938.640	4	484.660	2.606	.067
Error	3720.000	20	186.000		
Total	76202.000	25			
Corrected Total	5658.640	24			

Lampiran 19 Hasil sidik ragam (ANOVA) HDL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	331.200 ^a	4	82.800	1.029	.416
Intercept	63504.000	1	63504.000	789.458	.000
PERLAKUAN	331.200	4	82.800	1.029	.416
Error	1608.800	20	80.440		
Total	65444.000	25			
Corrected Total	1940.000	24			

Lampiran 20 Hasil sidik ragam (ANOVA) LDL

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	528.240 ^a	4	132.060	1.649	.201
Intercept	28022.760	1	28022.760	349.847	.000
PERLAKUAN	528.240	4	132.060	1.649	.201
Error	1602.000	20	80.100		
Total	30153.000	25			
Corrected Total	2130.240	24			

Lampiran 21 Hasil sidik ragam (ANOVA) ureum

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	597.114 ^a	4	149.279	4.340	.011
Intercept	24043.604	1	24043.604	699.031	.000
PERLAKUAN	597.114	4	149.279	4.340	.011
Error	687.912	20	34.396		
Total	25328.630	25			
Corrected Total	1285.026	24			

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset	
		1	2
TEMPE PRG 10%	5	24.6600	
TEMPE non PRG 10%	5	26.2200	
KONTROL	5	31.7600	31.7600
TEMPE PRG 20%	5		35.3400
TEMPE non PRG 20%	5		37.0800
Sig.		.084	.189

Lampiran 22 Hasil sidik ragam (ANOVA) kreatinin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.120 ^a	4	.030	2.362	.088
Intercept	12.845	1	12.845	1.009E3	.000
PERLAKUAN	.120	4	.030	2.362	.088
Error	.255	20	.013		
Total	13.220	25			
Corrected Total	.375	24			

Lampiran 23 Hasil sidik ragam (ANOVA) protein

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.269 ^a	4	.817	3.454	.027
Intercept	945.562	1	945.562	3.996E3	.000
PERLAKUAN	3.269	4	.817	3.454	.027
Error	4.733	20	.237		
Total	953.565	25			
Corrected Total	8.002	24			

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset		
		1	2	3
TEMPE non PRG 10%	5	5.6460		
TEMPE PRG 10%	5	5.8180	5.8180	
TEMPE PRG 20%	5	6.2660	6.2660	6.2660
TEMPE non PRG 20%	5		6.4180	6.4180
KONTROL	5			6.6020
Sig.		.070	.079	.314

Lampiran 24 Hasil sidik ragam (ANOVA) albumin

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.985 ^a	4	.246	1.907	.149
Intercept	247.748	1	247.748	1.918E3	.000
PERLAKUAN	.985	4	.246	1.907	.149
Error	2.584	20	.129		
Total	251.317	25			
Corrected Total	3.569	24			

Lampiran 25 Hasil sidik ragam (ANOVA) asam urat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.058 ^a	4	.014	.241	.912
Intercept	8.526	1	8.526	142.582	.000
PERLAKUAN	.058	4	.014	.241	.912
Error	1.196	20	.060		
Total	9.780	25			
Corrected Total	1.254	24			

Lampiran 26 Hasil sidik ragam (ANOVA) SGOT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2477.760 ^a	4	619.440	2.255	.099
Intercept	167117.440	1	167117.440	608.496	.000
PERLAKUAN	2477.760	4	619.440	2.255	.099
Error	5492.800	20	274.640		
Total	175088.000	25			
Corrected Total	7970.560	24			

Lampiran 27 Hasil sidik ragam (ANOVA) SGPT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	509.840 ^a	4	127.460	1.992	.135
Intercept	46915.560	1	46915.560	733.285	.000
PERLAKUAN	509.840	4	127.460	1.992	.135
Error	1279.600	20	63.980		
Total	48705.000	25			
Corrected Total	1789.440	24			

Lampiran 28 Hasil sidik ragam (ANOVA) berat ginjal

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.006 ^a	4	.001	.727	.667
Intercept	3.116	1	3.116	3.101E3	.000
PERLAKUAN	.006	4	.001	.727	.667
Error	.036	15	.001		
Total	3.158	20			
Corrected Total	.042	19			

Lampiran 29 Hasil sidik ragam (ANOVA) berat hati

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.414 ^a	4	.052	.349	.940
Intercept	310.444	1	310.444	2.097E3	.000
PERLAKUAN	.414	4	.052	.349	.940
Error	5.328	15	.148		
Total	316.186	20			
Corrected Total	5.742	19			

Lampiran 30 Hasil sidik ragam (ANOVA) MDA hati

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1042.118 ^a	4	260.529	7.957	.001
Intercept	10068.878	1	10068.878	307.507	.000
PERLAKUAN	1042.118	4	260.529	7.957	.001
Error	491.154	15	32.744		
Total	11602.149	20			
Corrected Total	1533.271	19			

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset	
		1	2
TEMPE non PRG 10%	4	12.7167	
KONTROL	4	17.1466	
TEMPE non PRG 20%	4	21.0035	
TEMPE PRG 20%	4		30.0470
TEMPE PRG 10%	4		31.2739
Sig.		.070	.766

Lampiran 31 Hasil sidik ragam (ANOVA) MDA ginjal

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	217.007 ^a	4	54.252	2.902	.058
Intercept	4897.172	1	4897.172	261.989	.000
PERLAKUAN	217.007	4	54.252	2.902	.058
Error	280.384	15	18.692		
Total	5394.562	20			
Corrected Total	497.391	19			

Lampiran 32 Hasil sidik ragam (ANOVA) SOD hati

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	25532.721 ^a	4	6383.180	1.481	.247
Intercept	2893091.644	1	2893091.644	671.186	.000
PERLAKUAN	25532.721	4	6383.180	1.481	.247
Error	81897.913	19	4310.416		
Total	3124280.984	24			
Corrected Total	107430.633	23			

Lampiran 33 Hasil sidik ragam (ANOVA) SOD ginjal

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6209.202 ^a	4	1552.301	1.531	.233
Intercept	4191359.813	1	4191359.813	4.133E3	.000
PERLAKUAN	6209.202	4	1552.301	1.531	.233
Error	19270.344	19	1014.229		
Total	4602096.426	24			
Corrected Total	25479.546	23			

Lampiran 34 Hasil sidik ragam (ANOVA) berat testis

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.444E-5 ^a	4	5.555E-6	.975	.471
Intercept	.001	1	.001	171.206	.000
PERLAKUAN	4.444E-5	4	5.555E-6	.975	.471
Error	.000	10	5.698E-6		
Total	.001	15			
Corrected Total	.000	14			

Lampiran 35 Hasil sidik ragam (ANOVA) pH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.053 ^a	4	.013	1.667	.233
Intercept	749.067	1	749.067	9.363E4	.000
PERLAKUAN	.053	4	.013	1.667	.233
Error	.080	10	.008		
Total	749.200	15			
Corrected Total	.133	14			

Lampiran 36 Hasil sidik ragam (ANOVA) gerakan massa

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.333 ^a	4	.333	1.667	.233
Intercept	106.667	1	106.667	533.333	.000
PERLAKUAN	1.333	4	.333	1.667	.233
Error	2.000	10	.200		
Total	110.000	15			
Corrected Total	3.333	14			

Lampiran 37 Hasil sidik ragam (ANOVA) motilitas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3844.167 ^a	4	961.042	2.054	.162
Intercept	53401.667	1	53401.667	114.126	.000
PERLAKUAN	3844.167	4	961.042	2.054	.162
Error	4679.167	10	467.917		
Total	61925.000	15			
Corrected Total	8523.333	14			

Lampiran 38 Hasil sidik ragam (ANOVA) gerakan individu

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6.067 ^a	4	1.517	3.640	.044
Intercept	84.017	1	84.017	201.640	.000
PERLAKUAN	6.067	4	1.517	3.640	.044
Error	4.167	10	.417		
Total	94.250	15			
Corrected Total	10.233	14			

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset	
		1	2
TEMPE PRG 10%	3	1.6667	
TEMPE PRG 20%	3	1.6667	
TEMPE non PRG 20%	3	2.3333	2.3333
TEMPE non PRG 10%	3		3.0000
KONTROL	3		3.1667
Sig.		.255	.162

Lampiran 39 Hasil sidik ragam (ANOVA) konsentrasi

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	571416.667 ^a	4	142854.167	3.695	.043
Intercept	1.349E7	1	1.349E7	348.880	.000
PERLAKUAN	571416.667	4	142854.167	3.695	.043
Error	386666.667	10	38666.667		
Total	1.445E7	15			
Corrected Total	958083.333	14			

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset	
		1	2
TEMPE non PRG 10%	3	7.3333E2	
TEMPE PRG 10%	3	7.8333E2	
TEMPE PRG 20%	3	8.7500E2	8.7500E2
TEMPE non PRG 20%	3	1.1083E3	1.1083E3
KONTROL	3		1.2417E3
Sig.		.054	.054

Lampiran 40 Hasil sidik ragam (ANOVA) abnormalitas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	788.869 ^a	4	197.217	3.150	.064
Intercept	2642.721	1	2642.721	42.216	.000
PERLAKUAN	788.869	4	197.217	3.150	.064
Error	626.000	10	62.600		
Total	4057.590	15			
Corrected Total	1414.869	14			

Lampiran 41 Hasil sidik ragam (ANOVA) spermatogonium

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1407.760 ^a	4	351.940	4.992	.006
Intercept	154606.240	1	154606.240	2.193E3	.000
PERLAKUAN	1407.760	4	351.940	4.992	.006
Error	1410.000	20	70.500		
Total	157424.000	25			
Corrected Total	2817.760	24			

Duncan

PERLAKUAN	N	Subset	
		1	2
TEMPE PRG 20%	5	71.2000	
TEMPE Non PRG 10%	5	71.8000	
TEMPE PRG 10%	5	74.8000	
TEMPE non PRG 20%	5		87.2000
KONTROL	5		88.2000
Sig.		.530	.853

Lampiran 42 Hasil sidik ragam (ANOVA) spermatosit primer

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	939.440 ^a	4	234.860	2.690	.061
Intercept	120131.560	1	120131.560	1.376E3	.000
PERLAKUAN	939.440	4	234.860	2.690	.061
Error	1746.000	20	87.300		
Total	122817.000	25			
Corrected Total	2685.440	24			

Lampiran 43 Hasil sidik ragam (ANOVA) spermatid awal

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3446.240 ^a	4	861.560	1.613	.210
Intercept	628214.760	1	628214.760	1.176E3	.000
PERLAKUAN	3446.240	4	861.560	1.613	.210
Error	10680.000	20	534.000		
Total	642341.000	25			
Corrected Total	14126.240	24			

Lampiran 44 Hasil sidik ragam (ANOVA) spermatid akhir

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1066.160 ^a	4	266.540	.941	.461
Intercept	562800.040	1	562800.040	1.987E3	.000
PERLAKUAN	1066.160	4	266.540	.941	.461
Error	5664.800	20	283.240		
Total	569531.000	25			
Corrected Total	6730.960	24			

Lampiran 45 Hasil sidik ragam (ANOVA) total sel spermatogenik

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	13909.040 ^a	4	3477.260	1.557	.224
Intercept	5210262.760	1	5210262.760	2.332E3	.000
PERLAKUAN	13909.040	4	3477.260	1.557	.224
Error	44677.200	20	2233.860		
Total	5268849.000	25			
Corrected Total	58586.240	24			

Lampiran 46 Hasil sidik ragam (ANOVA) sel leydig

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	183.760 ^a	4	45.940	1.860	.157
Intercept	104458.240	1	104458.240	4.229E3	.000
PERLAKUAN	183.760	4	45.940	1.860	.157
Error	494.000	20	24.700		
Total	105136.000	25			
Corrected Total	677.760	24			

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kuningan pada tanggal 6 November 1974, anak ke-12 dari pasangan Bpk. Maskar (alm) dan Ibu Hj. Utu Fatimah. Menikah dengan Latifah Hanum, S.Gz pada tahun 2000 dan dikaruniai 3 orang anak; Andien Salsabila R. (15 thn), Naufal S. Hidayat (11 thn) dan Dyaz M. Hidayat (9 thn). Lulus dari SMAN Cilimus Kuningan tahun 1992 dan melanjutkan pendidikan di Akademi Gizi Depkes RI Jakarta, lulus tahun 1995. S1 Teknologi Pangan dari Universitas Sahid Jakarta tahun

2001. MSc in *Community Nutrition* dari SEAMEO RCCN FKUI pada tahun 2004. Program Doktor pada Program Studi Ilmu Gizi Manusia, Fakultas Ekologi Manusia, IPB ditempuh sejak tahun 2010.

Penulis adalah konsultan untuk U.S. Soybean Export Council yang menangani *Soyfood Program* di Indonesia sejak tahun 2008 hingga sekarang. Sebelumnya, merupakan staff akademik dan peneliti di SEAMEO TROPMED RCCN UI dari tahun 2004-2008. Asisten Program Food Safety di ICD/SEAMEO Cooperative Program dari tahun 1997-2004. Sejak 2008 penulis juga tercatat sebagai staf pengajar di Akbid dan STAI Sayid Sabiq Indramayu sampai sekarang.

Penulis aktif sebagai pengurus Forum Tempe Indonesia (FTI), sejak organisasi tersebut didirikan pada tahun 2008, dan dipercaya menjadi Sekjen FTI pada periode kepengurusan 2013-2018. Bersama FTI, penulis banyak terlibat dalam berbagai program untuk meningkatkan kualitas industri tempe serta kegiatan promosi tempe di Indonesia, seperti pelatihan, pengembangan pusat percontohan produksi tempe higienis (Rumah Tempe Indonesia) dan juga aktif sebagai pembicara dalam berbagai seminar dan kegiatan edukasi tentang tempe. Penulis aktif berpartisipasi dalam event ilmiah, baik sebagai pembicara maupun sebagai peserta, diantaranya: The 12th Asian Congress on Nutrition, Yokohama, Jepang (2015), 10th SE Asia Soy Symposium, Singapura (2015), Soy Global Trade Exchange, Milwaukee, USA (2014), Soy Global Trade Exchange, Davenport, Iowa, USA (2013), The 8th Intl' Symposium on the Role of Soy in Health Promotion. Tokyo, Jepang (2008), Symposium on Biotechnology & Nutritionally Enhanced Food and Crops, Cebu, Filipina (2008). Short Course on Principles of Food Safety. AIB International, Manhattan Kansas, USA (2008), The International Soybean Program (INSTOY), University of Illinois, USA (2008) dan South East Asia Nutrition Leadership Program (SEANLP), Jakarta (2004).

Karya ilmiah yang merupakan bagian dari disertasi yang telah dan akan dipublikasikan adalah: (1) "Effects of Genetically Modified (GM) Soybean and Tempe Consumption on Blood Profile, Malondialdehyde (MDA) Level and Superoxide Dismutase (SOD) Activity of *Sprague-Dawley* Rats". *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR)* (2015) Volume 23, No 2, pp 271-285. (2) "Evaluasi Kesepadanan Mutu Gizi Kedelai Pangan Rekayasa genetic (PRG) dan non PRG serta Dampak Konsumsinya pada Tikus Percobaan". *Jurnal Gizi dan Pangan* dalam tahap review. Sebagian dari hasil penelitian ini juga dipresentasikan dalam bentuk poster pada The 12th Asian Congress on Nutrition, Yokohama, Jepang (2015) dengan judul: "*Soybean and Tempe Consumption Do Not Affect Serum Uric Acid Levels in Sprague-Dawley Rats*".