



Pengaruh Tempe terhadap Kadar Gula Darah dan Kesembuhan Luka pada Tikus Diabetik

Dian S. Ghozali¹, Ekowati Handharyani², Rimbawan³

¹Instalasi Gizi, RSU Daerah Sangatta, Kutai Timur, Kalimantan Timur

²Dept. Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

³Dept. Gizi Masyarakat, Fakultas Ekologi Manusia, Institut Pertanian Bogor

PENDAHULUAN

Tempe merupakan makanan tradisional Indonesia yang dijuluki "superfood". Predikat tersebut diberikan oleh karena pengaruh manfaat dan nilai gizi tempe terhadap kesehatan. Meskipun demikian popularitasnya menurun seiring citra buruk tempe (dibuat dengan cara dan teknologi tidak higienis) yang masih melekat¹. Tempe telah hampir 7 tahun digunakan oleh tenaga medis dan gizi di Kutai Timur sebagai menu utama untuk mengatasi luka yang sukar sembuh pada penderita kaki diabetik. Dalam menu tersebut semua lauk hewani diganti dengan lauk tempe. Tempe diduga berperan dalam pengeringan luka dan penurunan jumlah nanah pada luka melalui efek hipoglikemiknya.

Secara turun-temurun tempe telah dipercaya masyarakat sebagai salah satu alternatif pengendalian gula darah meskipun masih sedikit publikasi ilmiah mekanisme tempe sebagai antihiperlikemik. Kandungan isoflavan dalam tempe diduga berperan penting dalam proses pengendalian gula darah; beberapa penelitian telah menghubungkan konsumsi isoflavan dengan rendahnya risiko diabetes dan pencegahan komplikasinya²⁻³.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek hipoglikemik tempe, menggunakan tikus sebagai model hewan percobaan. Data efek hipoglikemik tersebut digunakan untuk

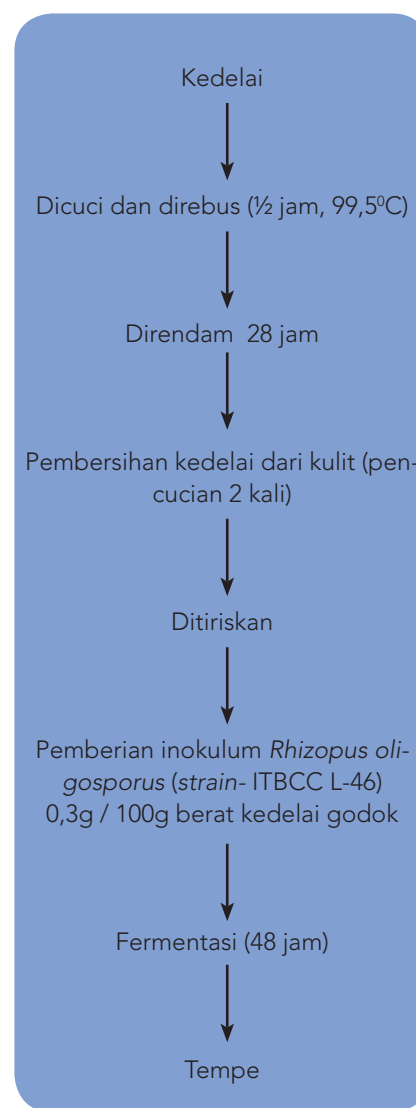
mengetahui apakah kesembuhan luka pada tikus diabetes dipengaruhi oleh aktivitas pengendalian gula darah dari tempe.

PROSEDUR PENELITIAN

Pembuatan Tempe

Pembuatan tempe dilakukan di industri tempe tradisional di Bogor dengan metode yang umum digunakan masyarakat⁴. Kedelai (*Glycine max*) varietas Americana diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Departemen Pertanian, Cimanggu, Bogor dan *R. oligosporus strain-ITBCC L-46* diperoleh dari Laboratorium Mikro dan Teknologi Bioproses, Fakultas Teknik Kimia, Institut Teknologi Bandung.

Prosedur pembuatan tempe diawali dengan pencucian kedelai kemudian direbus selama ½ jam pada suhu 99,5°C. Setelah masak kedelai langsung direndam dengan bekas cucian kedelai selama 28 jam. Kemudian dilakukan dua kali pembersihan kedelai dari kulit. Pencucian pertama menggunakan air bekas rendaman dan yang kedua menggunakan air bersih. Setelah bersih kemudian ditiriskan dan selanjutnya kedelai diberi inokulum *Rhizopus oligosporus* (strain ITBCC L-46) 0,3g / 100g berat kedelai yang telah direbus¹. Setelah kedelai dibungkus (*packing*) kemudian dilakukan fermentasi selama 48 jam (Gambar 1).



Gambar 1. Prosedur pembuatan tempe



Pembuatan Diabetes pada Hewan Percobaan (Tikus)

Tikus *Sprague Dawley* (jumlah 50 ekor, berusia 8 minggu, jantan, berat 200 ± 10 g, berasal dari BPOM-RI) diadaptasikan terlebih dahulu selama 10 hari di kandang metabolik dan diberikan diet standar (kasein) dengan komposisi sesuai dengan AIN-93M⁵.

Diabetes diinduksi pada tikus dengan cara diinjeksi *i.p.* (*intraperitoneal*) dengan 40mg/kg bb STZ (*Streptozotocin*, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), sedangkan sebagai kontrol (non diabetes) tikus diinjeksi *i.p.* menggunakan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) pH 7,4. Dosis PBS disesuaikan dengan volume STZ yang diberikan pada kelompok diabetes. Selama periode pembuatan diabetes (7 hari), semua tikus mendapatkan diet standar (kasein).

Pada hari ke-7 pasca induksi STZ kadar gula darah diukur. Tikus dinyatakan diabetes apabila konsentrasi glukosa plasma yang berasal dari pembuluh darah vena ekor tikus >250 mg/dL⁶. Pengukuran menggunakan strip glukosa-oksidasi (*OneTouch@Ultra TM, Lifescan*). Tikus yang telah diabetes, diacak dan dikelompokkan menjadi kelompok perlakuan Kontrol+Diabetes, Tempe1+Diabetes, dan Tempe2+Diabetes. Pengelompokan yang sama juga dilakukan pada perlakuan non diabetes yang meliputi kelompok Kontrol, Tempe1 dan Tempe2. Jumlah ulangan untuk masing-masing kelompok adalah 3 ekor tikus dengan simpangan berdasarkan berat badan awal ± 10 g.

Pembuatan Luka pada Hewan Percobaan (Tikus)

Setelah tikus memenuhi kriteria diabetes dan non diabetes, dilakukan prosedur pembuatan luka. Tikus terlebih dahulu dianestesi *intraperitoneal* dengan ketamin (15mg/100g.bb tikus) dan xylazin (1mg/100g.bb tikus), kemudian kulit di daerah punggung dicukur dan dibersihkan. Kulit tikus pada daerah punggung dilukai dengan menggunakan skalpel dan gunting dengan ukuran 0.8 x 0.8cm.



Gambar 2. Pembuatan luka pada tikus

Prosedur Pembuatan Diet

Tempe hasil fermentasi kedelai dikering-bekukan (*freeze dried*) selama 48 hingga 50 jam. Selanjutnya dianalisis kandungan gizinya meliputi protein, lemak, asam lemak, mineral, asam amino dan isoflavon. Hasil analisis tersebut diperlukan untuk menentukan jumlah tempe yang akan digunakan sebagai diet percobaan hewan (tikus).

Selama perlakuan (dimulai 7 hari pasca induksi STZ hingga akhir penelitian) tikus mendapat diet masing-masing sesuai dengan kelompok perlakuan. Diet kasein diberikan pada kelompok Kontrol dan Kontrol+Diabetes. Tempe dengan jumlah yang sesuai dengan kandungan asam amino arginin 1,4% diberikan pada kelompok Tempe1 dan Tempe1+Diabetes, sedangkan jumlah tempe yang sesuai dengan kandungan asam amino arginin 1,6% diberikan pada kelompok Tempe2 dan Tempe2+Diabetes. Dosis asam amino arginin sebesar 1,4%, mengacu pada literatur bahwa dosis tersebut berperan dalam proses kesembuhan luka diabetik pada tikus⁷⁻⁸. Dosis arginin 1,6

% ditentukan untuk memberi komposisi diet yang cukup berbeda dengan kelompok Kontrol, Kontrol+Diabetes, Tempe1 dan Tempe1+Diabetes baik sumbangan energi, protein, dan lemaknya. Sumbangan asam amino arginin yang berasal dari diet kasein sebesar 0,5% digunakan sebagai kontrol.

Diet didasarkan pada *American Institute of Nutrition / AIN-93M⁵* (Tabel 1). Diet dibuat mendekati isokalori dengan kasein sebagai sumber protein pada kelompok Kontrol dan Kontrol+Diabetes, sedangkan tempe digunakan sebagai pengganti kasein (sumber protein) pada kelompok Tempe1, Tempe2, Tempe1+Diabetes, dan Tempe2+Diabetes. Kasein dan tempe yang telah dikering-bekukan (*freeze dried*) dianalisis kandungan gizi protein, lemak, dan asam aminonya untuk perhitungan komposisi diet. Tidak ada penambahan minyak jagung pada kelompok tempe karena sumbangan lemak dari tempe sudah berlebih (melebihi formulasi komposisi diet sebesar 100%).



Tabel 1. Komposisi diet berdasarkan AIN-93M

No.	Bahan	Kontrol	Tempe 1 & Tempe1+Diabetes (Arginin 1,4 %)	Tempe 1 & Tempe1+Diabetes (Arginin 1,6 %)
1	Tempe Freeze	-	28,81	33,43
2	Kasein	14,0	0,00	0,00
3	Minyak Jagung	6,00	0,00	0,00
4	Mineral-AIN 93M-MX ¹	3,50	2,71	2,58
5	Vitamin-AIN 93M-V ²	1,00	1,00	1,00
6	Selulosa (Alphacel Nutrive Bulk) ³	5,00	5,00	5,00
7	Pati Jagung	43,67	35,65	31,16
8	Dyetros ⁴ (dextrin cornstarch)	15,50	15,50	15,50
9	Sukrosa	10,90	10,90	10,90
10	L-Cystin ⁵	0,18	0,18	0,18
11	Choline Bitartrat ⁶	0,25	0,25	0,25
12	TBHQ ⁷	0,0008	0,0008	0,0008
Jumlah		100	100	100
Energi (Kal)		371,35	372,00	377,27
Protein		12,53	13,47	15,63
Lemak		6,01	7,14	8,29

Keterangan : AIN-93M: American Institute of Nutrition, ⁷TBHQ : Tetra butyl hydroquinone, ^{1,2,3}(MP-Bio, OHIO-USA), ⁴Dyetrose (Dyets, Bethlehem, PA, USA), ⁵Merck, ⁶Sigma Chemical,

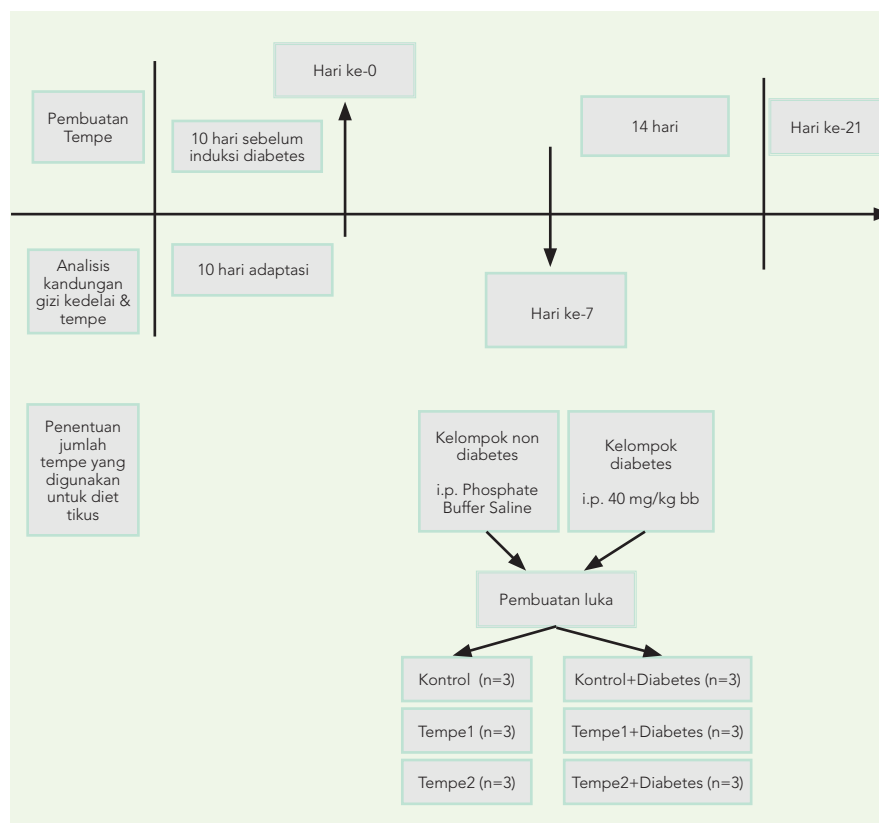
Kandungan gizi **kasein** dalam 100 g sampel (%w/w) : lemak : 0,04, protein : 89,50, karbohidrat : 0,20, asam amino arginin : 3,69, isoleusin : 5,47, valin : 6,57, dan leusin : 9,08.

Kandungan gizi **tempe** dalam 100 g. sampel (%w/w) : lemak : 24,80, protein : 46,77, karbohidrat : 20,99, asam amino arginin : 4,96, isoleusin : 2,41, valin : 2,43, dan leusin : 3,59.

Tempe hasil *freeze drying* yang telah kering, diayak dalam saringan 100 mesh agar tempe mudah bercampur dengan bahan lain dalam formulasi diet. Akses air minum (merk Aqua) diberikan *ad libitum*. Diet diberikan setiap pk. 17.00-18.00 dan diambil setiap pk. 10.00-11.00, sedangkan air minum diganti tiap hari setiap pk. 09.00. Berat badan ditimbang 2 hari sekali sedangkan *intake* makanan ditimbang tiap hari.

Pengambilan Sampel dan Pelaksanaan Nekropsi

Pada akhir penelitian (hari ke-21 pasca



Gambar 3. Desain penelitian, dari tahap pembuatan tempe hingga pembedahan tikus



induksi STZ) tikus dianestesi dengan 15 mg ketamin - 1mg xylazin /100gbb tikus; gula darah diukur secara langsung. Darah (sekitar 3 ml) diambil langsung dari jantung dan dimasukkan ke dalam *conical tube* yang berisi 100µL heparin (6g/L) dan didinginkan dalam es. Sampel darah disentrifuse pada 1800 G selama 15 menit pada suhu 4°C untuk memperoleh serum darah, yang selanjutnya digunakan untuk analisis asam amino menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Setelah tikus mati segera dinekropsi. Pankreas diambil dan segera disimpan dalam larutan *Buffered Neutral Formalin* (BNF) 10 persen, yang selanjutnya diproses menjadi preparat histologi dengan pewarnaan *hematoxylin-eosin* (H&E)

Pengolahan dan Analisis Data

Semua data ditampilkan dalam bentuk rata-rata ± standar deviasi. Data persentase perubahan berat badan tikus diperoleh dengan rumus:

$$\text{Persen } \Delta \text{ BB} = \frac{\text{Berat badan akhir-berat awal}}{\text{Berat awal}} \times 100\%$$

Food Conversion Efficiency (FCE) diperoleh dengan rumus:

$$\text{FCE} = \frac{\text{Berat badan akhir-berat awal}}{\text{Total Intake}} \times 100\%$$

Total *intake* makanan diperoleh dengan menjumlahkan *intake* makanan tikus setiap hari selama perlakuan luka. Data dianalisis dengan *General Linear Model* (GLM) dan perbedaan di antara nilai rata-rata dianalisis dengan uji Duncan. Data histopatologi dianalisis dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis. Pada semua uji, perbedaan signifikan dinyatakan dalam p<0,05.

HASIL DAN DISKUSI

Efek Tempe terhadap Perubahan Berat Badan dan Makanan Tikus

Perubahan berat badan tikus dan

Tabel 2. Efek tempe terhadap perubahan berat badan dan *intake* makanan tikus

Kelompok	Perubahan berat badan tikus	<i>Intake</i> makanan
	gram	gram
Kontrol	20,43±1,57 ^{ab}	463,94±15,96 ^a
Kontrol+Diabetes	18,04±3,58 ^{bc}	440.74±21,77 ^a
Tempe1	22,09±1,50 ^{ab}	383.60±17,69 ^b
Tempe1+Diabetes	24,82±2,67 ^a	402.81±5,78 ^b
Tempe2	14,71±0,13 ^c	379.63±22,16 ^b
Tempe2+Diabetes	14,43±1,70 ^c	379.10±26,28 ^b

Rata-rata dengan huruf sama dalam kolom tidak berbeda secara signifikan pada p<0,05

Tabel 3. Kadar gula darah tikus induksi STZ dan PBS pada hari ke-7 dan hari ke-21 pasca induksi

Kelompok	7 hari pasca induksi STZ (mg/dL)	21 hari pasca induksi STZ (mg/dL)
Kontrol	126,50±31,81 ^c	143,35±25,10 ^c
Kontrol+Diabetes	557,66±64,03 ^a	489,33±148,28 ^a
Tempe1	194,67±35,44 ^{bc}	147,33±41,63 ^c
Tempe1+Diabetes	281,50±43,13 ^b	187,66±46,30 ^{cb}
Tempe2	191,00±43,84 ^{cb}	127,67±8,96 ^c
Tempe2+Diabetes	496,50±38,89 ^a	149,00±46,67 ^c

Rata-rata dengan huruf sama dalam kolom tidak berbeda signifikan pada p<0,001

intake makanan disajikan pada Tabel 2. Diet tempe pada kelompok Tempe1+Diabetes secara signifikan (p<0,05) memberikan perubahan berat badan yang lebih besar dibanding kelompok lainnya, meskipun *intake* makanan tikus kelompok kontrol (Kontrol dan Kontrol+Diabetes) secara signifikan lebih besar. Perubahan berat badan terkecil terlihat pada kelompok yang mendapat diet tempe 2 (kelompok Tempe2 dan Tempe2+Diabetes) meskipun tidak berbeda nyata (p<0,05) dengan kelompok Kontrol+Diabetes.

Efek Streptozotocin terhadap Kadar Gula Darah Tikus

Induksi 24-100mg/kgbb *Streptozotocin* atau STZ (*2-deoksi-2-(3-metil-nitrosoureido)-D-glukopiranos*) dapat menimbulkan efek diabetogenik². Tikus diabetes induksi STZ sering

dikarakteristikan dengan peningkatan stres oksidatif yang sangat berhubungan dengan kejadian komplikasi diabetes³. Keadaan diabetes pada penelitian ini, terlihat pada tikus yang diinduksi 40mg/kg bb STZ pada hari ke-7 pasca induksi (Tabel 3). Pada tikus yang diinduksi 40mg/kgBB STZ kadar gula darahnya >281,50±43.13 mg/dL, sedangkan yang diinduksi dengan PBS kadar gula darahnya <194,67±35,44 mg/dL.

Efek Tempe terhadap Kadar Gula Darah Tikus

Konsumsi tempe pada tikus induksi STZ secara signifikan (p<0,001) mempengaruhi penurunan gula darah pada tikus kelompok Tempe1+Diabetes dan Tempe2+Diabetes dibanding kelompok Kontrol+Diabetes (Tabel 2). Demikian juga kelompok Tempe1



dan Tempe² memiliki kadar gula darah yang lebih rendah dibanding kadar gula darah awalnya. Hal ini memperlihatkan bahwa tempe secara signifikan memiliki efek hipoglikemik. Efek penurunan gula darah tersebut mungkin karena tempe merupakan sumber isoflavon. Komponen bioaktif isoflavon yang berupa genistein dan daidzein telah dihubungkan dengan aktivitas penurunan gula darah⁹.

Genistein dilaporkan dapat menghambat -glukosida yang berperan dalam beberapa kelainan metabolik seperti diabetes mellitus¹⁰. M.-P. Lu *et al.*⁹ menyatakan pemberian isoflavon kedelai (genistein ekuivalen 0,22g/kg diet) secara signifikan meningkatkan serum insulin dan menurunkan glukosa serum pada tikus diabetes. Diet tinggi isoflavon meningkatkan serum insulin, serum *glutathione* (GSH), menurunkan glukosa darah dan serum *methylglyoxal* (MG) melalui mekanisme perlindungan sisa-sisa sel beta pankreas dari efek toksik STZ dan meningkatkan fungsi sel beta pankreas³. Genistein dilaporkan juga dapat mencegah apoptosis sel akibat peningkatan MG¹¹. MG sering ditemukan tinggi kadarnya dalam darah pasien diabetik¹², bisa 3-6 kali lebih tinggi dibanding keadaan normal¹³.

Secara *in vitro* genistein menghambat *aldose reductase*¹⁴ yang merupakan enzim kunci dalam jalur polyol (jalur *sorbitol-aldose reductase*). Enzim tersebut mengkatalisis kelebihan glukosa menjadi sorbitol yang berimplikasi terhadap komplikasi diabetes, terutama kerusakan mikrovaskuler seperti retina diabetik dan kaki diabetik. Genistein dan daidzein berperan sebagai antihiperlikemik melalui mekanisme aktivasi glukokinase (GK), penghambatan glukosa-6-fosfatase (*G6pase*), *phosphoenol pyruvate carboxykinase* (PEPCK), *fatty acid synthase* (FAS), β -oxidation dan *carnitine palmitoyltransferase* (CPT) di hati¹⁵. Isoflavon dalam kedelai memproteksi sel dari prainflamasi sitokin, kerusakan induksi lemak dan apoptosis¹⁶. Isoflavon juga diduga dapat menstim-

uli daya tahan sel beta pankreas¹⁷ dan menurunkan gula darah dengan cara mengaktifkan reseptor PPAR (*peroxisome-proliferator activated receptor*), suatu reseptor inti yang berpartisipasi dalam pengaturan gula darah dan kerja insulin¹⁸.

Pemberian diet genistein dan isolat protein kedelai masing-masing 0,06g/100g diet dan 20g/100g diet pada tikus diabetes diinduksi STZ, menunjukkan adanya substansi insulinotropik di dalam fraksi², yang mengindikasikan bahwa fungsi sel beta pulau *Langerhans* secara utuh memproduksi insulin atau melindungi sel beta yang masih berfungsi dari kerusakan lebih lanjut. Selain itu, aktivitas enzim glukokinase meningkat disertai penurunan aktivitas enzim glukosa-6-fosfatase dalam hati. Mekanisme tersebut memberi dampak penurunan gula darah pada tikus yang diinduksi diabetes.

Analisis pendahuluan atas isoflavon tempe yang digunakan pada eksperimen ini, menunjukkan kandungan genistein dan daidzein dalam tempe berkisar 0,44 - 1,5 mg/100 g sampel (berat kering); meningkat dibandingkan sebelum fermentasi dengan kandungan genistein dan daidzein berkisar 0,0011 dan 0,093mg/100g sampel (berat kering). Peningkatan setelah fermentasi tersebut akibat aktivitas enzim kapang yang menghidrolisis isoflavon glukosida pada kedelai menjadi isoflavon *aglycon*; walaupun proses perendaman dan perebusan pada tahapan pembuatan tempe secara signifikan ($p < 0.05$) telah menghilangkan kandungan isoflavon total sebesar 49 persen¹⁹. Ikeda *et al.*²⁰ juga menyatakan adanya perubahan isoflavon glukosida (daidzin, genistin dan glycitin) menjadi isoflavon *aglycon* (daidzein, genistein dan glycitein) pada saat fermentasi tempe.

Efek antihiperlikemik tempe bukan hanya oleh aktivitas isoflavon yang terkandung dalam tempe. Komponen lain dalam tempe diduga turut memberikan andil dalam penurunan gula

darah. Hal tersebut senada dengan penelitian J.-S. Lee², yang menyatakan bahwa baik diet genestein maupun isolat protein kedelai, secara signifikan telah meningkatkan aktivitas enzim glukokinase dan menurunkan aktivitas enzim glukosa-6-fosfatase. Meskipun demikian isolat protein kedelai lebih potensial dibanding genistein dalam menurunkan gula darah diduga karena isolat protein kedelai mengandung komponen aktif lain yang dapat meningkatkan bioavailabilitas genistein. Efek glikemik tempe mungkin berbeda, mengingat jumlah isoflavon dalam tempe berbeda tergantung dari jenis varietas kedelai, preparasi pembuatan tempe²¹ dan jenis kapang yang digunakan¹⁹.

Pengaruh tempe terhadap kesembuhan luka diabetik jangka panjang terlihat pada dosis 1,4 persen arginin tempe; ditunjukkan dengan jumlah kolagen, folikel rambut dan kelenjar keringat yang terbentuk lebih banyak dibanding kelompok Kontrol+Diabetes ataupun Tempe²+Diabetes (data tidak ditunjukkan)²⁵. Meskipun demikian efek hipoglikemik tempe terlihat tidak berperan dalam proses kesembuhan luka diabetik, sebab pada kelompok Tempe²+Diabetes meskipun gula darahnya turun tetapi secara histopatologi (jumlah kolagen, folikel rambut dan kelenjar keringat) luka diabetiknya terlihat sukar sembuh.

Hingga saat ini, belum ada laporan ilmiah adanya efek merugikan setelah mengkonsumsi tempe. Peningkatan berat badan tikus yang lebih kecil dibanding kelompok lain pada penelitian ini terjadi hanya pada perlakuan Tempe² dan Tempe²+Diabetes. Hal ini bertolak belakang dengan kenaikan berat badan pada perlakuan Tempe¹ dan Tempe¹+Diabetes yang bahkan lebih besar dibandingkan dengan kelompok Kontrol dan Kontrol+Diabetes; diduga akibat pemberian komposisi diet tempe yang berbeda (Tabel 1). Dampak perubahan berat badan setelah mengkonsumsi tempe pada manusia belum banyak dipublikasikan secara ilmiah. Penelitian pada wanita



yang mendapat suplemen protein kedelai 18 g/hari tidak menunjukkan dampak penurunan berat badan yang berlebihan²². Selain itu tempe merupakan sumber protein berkualitas tinggi²³ yang dibuktikan pada nilai PER (*Protein Efficiency Ratio*) tempe sebesar 2,79 yang seimbang dengan nilai PER kasein yang sebesar 2,81 dan lebih besar dibanding kedelai (sebelum difermentasi) dengan nilai PER 2,41²⁴.

SIMPULAN

Pemberian tempe berpengaruh positif terhadap penurunan gula darah dan kecepatan kesembuhan luka pada tikus diabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami berterima kasih kepada Dr Tan Chuan Cheng, Dr. Ir Endang S Sunaryo, MSc., Mashudi (Laboratorium Gizi Masyarakat-IPB), Drh. Adi Winarto PhD.(Dosen Fakultas Kedokteran Hewan-IPB), Drh. IGN Sudisma MSi., (Dosen Fakultas Kedokteran Hewan – Universitas Udayana Bali), Widawati Suherman (Mahasiswa S2 Psikologi Kaunseling- Universitas Kebangsaan Malaysia)

DAFTAR PUSTAKA

1. Karyadi D. Prospek Pengembangan Tempe dalam Upaya Peningkatan Status Gizi dan Kesehatan Masyarakat. Simposium Pemanfaatan Tempe dalam Peningkatan Upaya Kesehatan dan Gizi. Puslitbang Gizi. 1985.
2. Lee J-S. Effects of soy protein and genistein on blood glucose, antioxidant enzyme activities, and lipid profile in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sciences* 2006;79:1578-84.
3. Lu.M-P, Wang Rui, Song X et al. Dietray soy isoflavones increase insulin secretion and prevent the development of diabetic cataracts in streptozotocin-induced diabetic rats . *Nutrition Res.* 2008; 28:464-71
4. Saono S, Hull RR, Dhamcharee B. A Concise Handbook of Indigenous Fermented Foods in The Asia Countries. In: *The Complete Handbook of Tempe*, J. Agranoff. (ed.), pp.14. History of The Development of Tempe, American Soybean Association. 1986.
5. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 Purified diets for laboratory Rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad

hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet, Committee Report. *J. Nutrition* 1993;123: 1939- 51.

6. Gutierrez RM, Perez R, Vargas S. Evaluation of the wound healing properties of *Acalyphalangi-ana* in diabetic rats. *Fitoterapia* 2006;77: 286– 9.
7. Kohli R, Meininger CJ, Haynes TE, Wene Y, Self JT, Wu G. Dietary l-arginine supplementation enhances endothelial nitric oxide synthesis in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Nutrition* 2004;134: 600–8.
8. Witte MB, Thornton FJ, Udaya Tantry, Adrian Barbul. L-arginine supplementation enhances diabetic wound healing: involvement of the nitric oxide synthase and arginase pathways. *Metabolism* 2002; 51(10): 1269- 73
9. Lu M-P, Wang R, Song X., Wang X, Qing H, Wu ML. Modulation of methylglyoxal and glutathione by soybean isoflavones in mild streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Numecc.* 2007:1-7.
10. Lee DS, Lee SH. Genistein, a soy isoflavone, is a potent α -glucosidase. *FEBS Letters* 2001;501:84-6.
11. Wu H.-J,Chan W-H. Genistein protects methylglyoxal-induced oxidative DNA damage and cell injury in human mononuclear cells. *Toxicology in Vitro* 2007;21:335-42.
12. Atkins TW, Thornally PJ. Erythrocyte glyoxalase activity in genetically obese (ob/ob) and streptozotocin diabetic mice. *Diabetes Res.*1989;11:125–9.
13. McLellan AC, Thornalley PJ, Benn J, Sonksen PH. Glyoxalase system in clinical diabetes mellitus and correlation with diabetic complications. *Clinical Sci.* 1994;87:21–9.
14. Kim Y-S, Kim N-H, Jung D-H et al. Genistein inhibits aldose reductase activity and high glucose-induced TGF- β 2 expression in human lens epithelial cells. *Europ. J. Pharmacol.* 2008;594:18–25.
15. Park SA., Choi M.-S.,Cho S-Y et al. Genistein and daidzein modulate hepatic glucose and lipid regulating enzyme activities in C57BL/KsJ-db/db mice. *Life Sciences* 2006;79:1207– 13.
16. Kwon G, Pappan KL, Marshall CA, Schaffer JE, McDaniel ML. CAMP dose-dependently prevents palmitate-induced apoptosis by both protein kinase A- and CAMP – guanine nucleotide exchange factor-dependent pathways in beta-cells. *J. Biol. Chem.*2004;279: 8938e45.
17. Jhala US, Canettieri G, Sreaton RA, Kulkarni RN, Krajewski S, Reed J. CAMP promotes pancreatic beta-cell survival via CREB-mediate dinduction of IRS2. *Genes* 2003;17:1575.

18. Mezei O, Banz WJ, Steger RW, Peluso MR, Winters TA, Shay N. Soy isoflavones exert antidiabetic and hypolipidemic effect through the PPAR pathways in obese Zucker rats and murine raw 264.7 cells. *J. Nutrition* 2003;133:1238-43.
19. Wang H-J, Murphy PA. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. *J.Agric. Food Chem.* 1994;44:2377-88.
20. Ikeda R, Ohta N, Watanabe T. Changes of isoflavones at various stages of fermentation in defatted soybeans. *J. Jap. Soc. Food Sci. Tech.* 1995;42(3):322-27.
21. Coward L, Barnes NC, Satchell KDR, Barnes S. Genistein, daidzein, and their β -glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J.Agric. Food Chem.*1993;41:1961-67.
22. St-Onge M-P, Nancy C, Carlawolper, Steven-BH. Supplementation with soy-protein rich foods does not enhance weight loss. *J Am Diet Assoc.* 2007;107:500-505.
23. Zamora RG, Veum TL. The nutritive value of dehulled soybeans fermented with *aspergillus oryzae* or *rhizopus oligosporus* as evaluated by rats. *J. Nutr.*1994;109:1333-39.
24. Wang HL, Ruttle DI, Hesseltine CW. Protein quality of wheat and soybeans after *Rhizopus oligosporus* fermentation. *J. Nutr.* 1969;96:109- 114.
25. Ghozali DS. Pengaruh Tempe terhadap Kesembuhan Luka pada Tikus Diabetes yang Diinduksi Streptozotocin (STZ). Skripsi tidak dipublikasikan. Departemen Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga, Fakultas Pertanian IPB. 2008.