

PROFIL ASAM AMINO MAKANAN PENDAMPING ASI (MP-ASI) PROTEIN HIDROLISAT IKAN KUNIRAN

Nuryanto^{1*}, Astrid Rossalia Putri², Ekowati Chasanah², Muhammad Sulchan¹, Diana Nur Afifah¹, Pujoyuwono Martosuyono³, Nazulatul Asmak¹

¹Departemen Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro, Indonesia

² Research Center for Marine and Inland Bioproducts, Research Organization (RO) of Earth and Maritime, National Research and Innovation Agency (BRIN), Indonesia

³Kementrian Kelautan Republik Indonesia

ABSTRACT

Background: Kuniran fish is a high source of protein which can be used as complementary feeding (CF). So that the protein digestibility value is high, protein hydrolysate can be used.

Objectives: This study aims to analyze the amino acid content in CF kuniran fish hydrolyzed protein.

Methods: Experimental study with a completely randomized design (CRD) with 2 replications. The sample of this research was CF product kuniran fish protein hydrolysate which was divided into three CF formulas, Formulation 1 (F1), Formulation 2 (F2) and Formulation 3 (F3) with the raw material composition of kuniran fish protein hydrolyzed (KFPH), skimmed milk, red rice and green beans, which are different for each formulation. The independent variables in this study were formulations F1, F2 and F3, while the dependent variable in this study was the content of amino acids. Amino acid analysis using the AOAC 2005 method, with HPLC. The data analysis used includes descriptive analysis and is presented in graphical form

Results: The FC-KFPH formula contains 15 amino acids consisting of 9 essential amino acids namely histidine, arginine, threonine, valine, methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, lysine and 6 non-essential amino acids namely glutamic acid, aspartic acid, serine, glycine, alanine, and tyrosine. The high content of essential amino acids is leucine and lysine while the highest non-essential amino acids are glutamic acid found in F2.

Conclusion: The highest content of amino acids are leucine, lysine and glutamic acid found in F2.

Keywords: Amino acids; Complementary feeding; Hydrolyzate; Kuniran fish; Protein,

ABSTRAK

Latar belakang: Ikan kuniran merupakan sumber protein yang tinggi yang dapat digunakan sebagai bahan makanan pendamping ASI (MP-ASI). Agar nilai cerna protein tinggi maka dapat dilakukan hidrolisat protein.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan asam amino pada MP-ASI protein hidrolisat ikan kuniran.

Metode: Penelitian eksperimen dengan design rancangan acak lengkap (RAL) dua kali ulangan. Sampel penelitian ini adalah produk MP-ASI Protein hidrolisat ikan kuniran yang di bagi menjadi tiga formula MP-ASI yaitu formulasi 1 (F1), formulasi 2 (F2) dan Formulasi 3 (F3) dengan komposisi bahan baku protein hidrolisat ikan (PHIK), susu skim beras merah dan kacang hijau yang berbeda setiap formulasi. Variabel bebas penelitian ini adalah formulasi F1, F2 dan F3, sedangkan variabel terikat penelitian ini adalah kandungan asam amino. Analisis asam amino menggunakan metode AOAC 2005, dengan HPLC. Analisis data yang digunakan meliputi analisis deskriptif dan di sajikan dalam bentuk grafik

Hasil: Formula MP-ASI PHIK mengandung 15 asam amino yang terdiri dari 9 asam amino esensial yaitu histidin, arginin, treonin, valin, metionin, isoleusin, leusin, fenilalanin, lisin dan 6 asam amino non esensial yaitu asam glutamat, asam aspartat, serin, glisin, alanin, dan tirosin. Kandungan asam amino esensial yang tinggi adalah leusin dan lisin sedangkan asam amino non esensial tertinggi yaitu asam glutamat yang terdapat pada F2.

Simpulan: Kandungan asam amino yang tertinggi adalah leusin, lisin dan asam glutamat yang terdapat pada MP-ASI F2.

Kata Kunci: Asam Amino; Hidrolisat; Ikan kuniran; MP-ASI; Protein

PENDAHULUAN

Malnutrisi merupakan salah satu masalah gizi terbesar yang hingga saat ini masih belum teratasi dengan baik di beberapa negara berkembang seperti Indonesia.¹ Salah satu masalah gizi dengan prevalensi tinggi di Indonesia adalah *stunting* atau perawakan pendek. *Stunting* merupakan gagal

pertumbuhan pada bayi atau anak, dimana tinggi badan terlalu rendah tidak sesuai dengan perbandingan usia dengan z-skor tinggi badan berdasarkan usia $<-2SD$.^{2,3}

Prevalensi stunting pada anak usia kurang dari lima tahun secara global sebesar 25%. Jika dilihat dari beberapa kawasan seperti di Afrika Timur

prevalensi *stunting* sebesar 43%, Afrika Barat sebesar 34%, Asia Tengah dan Selatan sebesar 35% dan Asia tenggara sebesar 28%.^{4,5} Hasil survei status gizi Indonesia tahun 2022, prevalensi *stunting* di Indonesia sebesar 21.6%.⁶ *Stunting* bukan hanya berdampak terhadap hilangnya potensi pertumbuhan fisik, tetapi *stunting* mempunyai dampak yang luas seperti keterlambatan perkembangan kognitif dan prestasi sekolah yang rendah, serta meningkatnya risiko penyakit tidak menular seperti diabetes melitus (DM) dan penyakit jantung koroner (PJK).^{7,5}

Stunting pada usia setelah enam bulan sering dihubungkan dengan kurang zati gizi dari makanan pendamping ASI (MP-ASI) yang sangat rendah. Penelitian di India didapatkan hasil bahwa, praktek pemberian MP-ASI merupakan prediktor paling signifikan terjadinya *stunting* pada anak usia 2 tahun.⁸ Protein dibutuhkan untuk pemenuhan kecukupan asam amino dalam tubuh. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa profil asam amino terutama lisin dan leusin sering dikaitkan dengan terjadinya *stunting*. Hal ini sesuai dengan Penelitian di Afrika menunjukkan bahwa makanan yang dikonsumsi anak dengan risiko *stunting* mempunyai kandungan asam amino esensial (tryptophan dan lisin) yang rendah pada makanannya.⁹ Begitu juga penelitian pada anak balita di Malawi didapatkan hasil bahwa 9 asam amino esensial dalam serum darah anak-anak *stunting* ternyata sangat rendah yang berakibat pada represi sintesis protein dan lemak yang dapat menghambat pertumbuhan sel.¹⁰ Menurut WHO 2012, target global terpenting dalam menurunkan prevalensi *stunting* sebesar 40% pada 2025 adalah dengan memastikan MP-ASI untuk anak usia 6 – 24 bulan yang berkualitas dari segi frekuensi dan nilai zat gizinya.¹¹

Standar MP-ASI bubuk instan menurut SNI-01-7111.4-2005, umumnya terbuat dari campuran tepung beras, susu skim, gula halus dan minyak nabati. Supaya dapat meningkat kandungan gizi maka MP-ASI tersebut dapat disubstitusi dengan bahan pangan lain terutama pangan lokal yang ada di Indonesia. Sumber pangan lokal yang mengandung protein tinggi yang dapat digunakan sebagai bahan MP-ASI adalah ikan kuniran (*Upeneus moluccensis*). Kandungan protein ikan kuniran sebesar 21,62%.¹² Supaya kandungan protein ikan ini mudah dicerna, maka protein ikan ini perlu dihidrolisis. Bentuk terhidrolisis (terpotong) membuat protein ikan menjadi mudah dicerna, diserap, dan digunakan oleh tubuh dibanding protein secara utuh. Potongan protein berupa peptida dan asam amino bebas baik untuk pertumbuhan bayi dan anak terutama untuk memenuhi kebutuhan zat gizi anak *stunting*.^{13, 14} Selain ikan, pangan lokal lain dengan kandungan protein tinggi adalah kacang hijau. Kacang hijau

mengandung sekitar 20,97–31,32% protein, lebih tinggi dibandingkan kacang kedelai (18–22%) dan kacang merah (20–30%) untuk kandungan protein. Bahan lain yang digunakan dalam MP-ASI adalah susu skim.^{15, 16}

Tepung susu skim adalah produksi susu berbentuk bubuk yang diperoleh dengan proses pengeringan susu skim pasteurisasi. Susu jenis ini kadar lemaknya rendah yaitu tidak lebih dari 1,5% dan kadar airnya tidak lebih dari 5%. Susu merupakan sumber protein dengan mutu yang sangat tinggi. Protein susu dibagi menjadi dua fraksi utama berdasarkan kelarutannya yaitu kasein dan protein *whey*. Kasein, yang terdiri dari sekitar 80% dari total nitrogen dalam susu dan sekitar 15% merupakan protein *whey* dan sisanya merupakan komponen nitrogen non-protein.^{17,18} Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan asam amino MP-ASI protein hidrolisat ikan kuniran (PHIK).

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan design rancangan acak lengkap (RAL) 2 kali ulangan. Sampel penelitian yang digunakan adalah produk MP-ASI Protein hidrolisat ikan kuniran (PHIK) yang di bagi menjadi tiga formula MP-ASI.

Komposisi bahan yang terkandung dalam pembuatan formula mengacu pada Standar MP-ASI bubuk instan menurut SNI-01-7111.4-2005. Dimana bahan baku terbuat dari campuran tepung beras, susu skim, gula halus dan minyak nabati (Tabel 1). Supaya dapat meningkat kandungan gizi maka MP-ASI tersebut dapat diganti atau dapat disubstitusi dengan bahan pangan lain. Adapun beras yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung beras merah, ditambah dengan tepung kacang hijau dan tepung protein hidrolisat ikan kuniran (PHIK).

Pembuatan PHIK menggunakan enzim protease lokal dari *Bacillus licheniformis*. Metode mengacu pada penelitian sebelumnya.¹⁴ Daging ikan kuniran (*fillet atau dressed fish*) dihaluskan menggunakan *food processor*. Daging dihomogenisasi dengan akuades (termasuk enzim) dengan perbandingan 1:2. Kekuatan enzim yang digunakan adalah 500 U/25 g daging ikan. Proses hidrolisis dilakukan pada suhu 55°C selama 6 jam. Setelah dihidrolisis, reaksi enzimatik dihentikan dengan pemanasan pada suhu 100°C 10 menit. PHIK cair diperoleh dengan cara memfiltrasi menggunakan saringan 300 mesh dan 600 mesh, kemudian filtrat disimpan beku dan difiltrasi menggunakan ultrafiltrasi, lalu dilanjutkan dengan penambahan filler sebanyak 20% sebelum dikeringkan secara cepat menggunakan *spray drier*.

Tabel 1. Komposisi Formulasi MP-ASI Protein Hidrolisat Ikan Kuniran

Formulasi	Jenis Bahan (g)					
	Beras Merah	Susu Skim	PHIK	Kacang Hijau	Minyak	Gula
F1	21,6	18	7,6	37,8	10	5
F2	16,8	15	7,6	45,6	10	5
F3	15,2	18	6,2	45,6	10	5

.Variabel bebas penelitian ini adalah formulasi MP-ASI Protein hidrolisat Ikan kuniran F1, F2 dan F3. Variabel terikat penelitian ini adalah kandungan asam amino. Asam amino adalah senyawa yang membentuk protein. Analisis asam amino yang mana dalam pengujiannya menggunakan metode AOAC dengan menggunakan alat HPLC. Hasil analisis asam amino ditingkatkan dengan memanfaatkan reaksi pra kolom gugus amino dengan pereaksi tertentu membentuk suatu derivat yang dapat menyerap sinar UV atau berfluoresensi. Pereaksi yang digunakan adalah ortoftalaldehid (OPA), OPA akan bereaksi dengan asam amino primer dalam suasana basa yang mengandung merkaptotanol membentuk senyawa berfluoresensi. Analisis kadar asam amino total berdasarkan metode HPLC, dengan kondisi kolom ultra techspere, laju aliran fase mobil : 1 mL/menit, detektor fluoresensi dan fase mobilbuffer A dan buffer B dengan gradien.

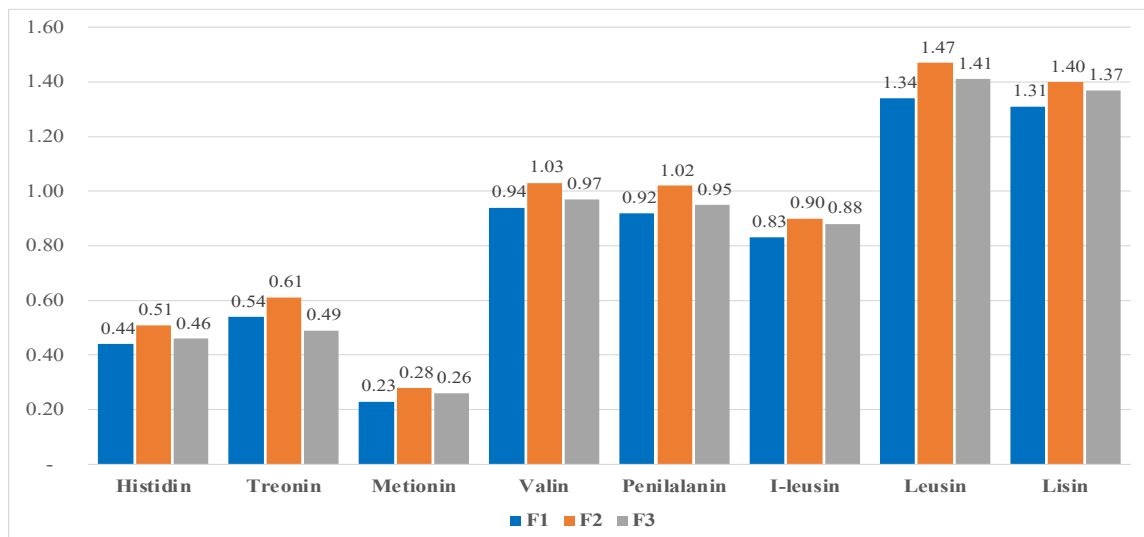
Buffer A terdiri dari OPA (50 mg), methanol (4 mL), merkaptotanol (0,025 mL), Brij-30 30% (0,050 mL), buffer borat 1M; pH 10,4 (1 mL) dilarutkan dalam 1 liter air. Buffer ini harus disaring dengan kertas millipore 0,45 µm dan akan stabil selama 5 hari pada suhu kamar bila disimpan dalam botol berwarna gelap yang diisi dengan gas He atau nitrogen. Buffer B terdiri dari methanol 95% dan air. Penyaringan dilakukan dengan kertas Millipore 0,45 µm. Perhitungan persen Asam Amino dalam sampel adalah : % Asam Amino = (µmolAA x Mr AA x 100)/ µg sampel. Analisis data yang digunakan pada penelitian ini meliputi analisis deskriptif dan disajikan dalam bentuk grafik.

HASIL

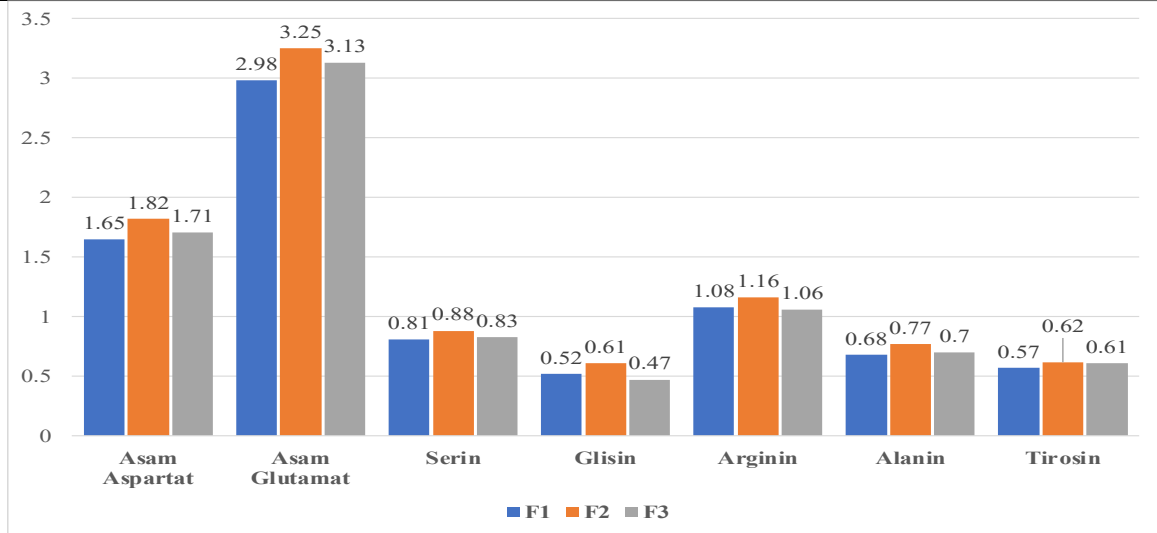
Analisis asam amino dilakukan untuk mengetahui jenis dan kadar asam amino yang terdapat pada formula bubuk instan dengan substitusi protein hidrolisat ikan kuniran (HPIK) menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Formula bubuk instan dengan substitusi PHIK menghasilkan beberapa asam amino. Asam amino menentukan mutu protein yang terkandung dalam formula. Protein yang bermutu tinggi adalah protein yang mengandung semua jenis asam amino dalam proporsi yang sesuai untuk pertumbuhan.

Asam amino dibagi menjadi dua, yaitu asam amino esensial dan asam amino non esensial. Asam amino esensial merupakan asam amino yang tidak dapat dibentuk oleh tubuh manusia (*nutritive food*) dan asam amino non esensial merupakan asam amino yang dapat dibentuk oleh tubuh manusia. Penelitian ini didapatkan hasil terdapat 15 asam amino (9 asam amino esensial dan 6 asam amino non-esensial) yang terkandung dalam formulasi MP-ASI. Asam amino esensial yang terdapat pada formula MP-ASI adalah histidin, arginin, treonin, valin, metionin, isoleusin, leusin, fenilalanin, lisin (Gambar 1). Asam amino non esensial yang terdapat pada formula MP-ASI adalah asam aspartat, asam glutamat, serin, glisin, alanin, dan tirosin (Gambar 2).

Gambar 1 menunjukkan bahwa kandungan asam amino esensial tertinggi adalah pada formula 2. Jenis asam amino esensial yang tertinggi adalah asam amino leusin (1,47%) dan asam amino lisin (1,40%) yang ada di formula 2 (F2).



Gambar 1. Asam Amino Esensial Formulasi MP-ASI Protein Hidrolisat Ikan Kuniran



Gambar 2. Asam Amino Non-Esensial Formulasi MP-ASI Protein Hidrolisat Ikan Kuniran

Gambar 2 menunjukkan bahwa kandungan asam amino non-esensial tertinggi adalah pada formula 2. Jenis asam amino non-esensial yang tertinggi adalah asam glutamat (3,25%) dan asam aspartat (1,82) yang ada di formula 2 (F2).

PEMBAHASAN

Penelitian ini didapatkan hasil ada 15 asam amino yang terkandung dalam formula MP-ASI protein hidrolisat ikan kuniran, dengan komposisi 9 asam amino esensial yaitu histidin, arginin, treonin, valin, metionin, isoleusin, leusin, fenilalanin, lisin dan 6 asam amino non esensial yaitu asam glutamat, asam aspartat, serin, glisin, alanin, dan tirosin. Kandungan asam amino esensial dan non esensial tertinggi terdapat pada formula 2.

Asam amino dapat diklasifikasikan berdasarkan fungsi fisiologi dalam tubuh, yaitu asam amino esensial dan non-esensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi oleh tubuh sehingga harus disuplai melalui makanan, sedangkan asam amino non-esensial dapat diproduksi dalam tubuh. Asam amino esensial antara lain valin, leusin, isoleusin, fenilalanin, triptofan, metionin, treonin, histidin, lisin dan arginin. Asam amino non-esensial antara lain glisin, alanin, prolin, serin, sistein, tirosin, asparagin, asam glutamat, asam aspartat dan glutamin.^{19,20}

Protein terdiri atas asam amino yang tergabung melalui ikatan peptida. Protein memiliki empat jenis struktur, yaitu struktur primer, sekunder, tersier dan kuartener. Sebuah asam amino terdiri dari sebuah gugus amino (NH₂), sebuah gugus karboksil (COOH), sebuah atom hidrogen dan gugus R (rantai cabang) yang terikat pada sebuah atom karbon. Sebagian besar protein mengandung sulfur dan beberapa mengandung komponen tambahan, yaitu fosfor, besi dan seng.^{19,21}

Penelitian ini juga didapatkan hasil bahwa kandungan asam amino esensial tertinggi adalah asam amino leusin dan lisin sedangkan asam amino non-esensial tertinggi adalah asam glutamate yang ada di formula 2. Tingginya leusin, lisin dan glutamate ini dipengaruhi oleh adanya penambahan protein hidrolisat ikan kuniran. Penambahan PHIK pada formula 2 sebanyak 7,6 g menghasilkan kadar asam amino leusin sebesar 1,47%, lisin sebesar 1,4% dan asam glutamate sebesar 3,25%. Formulasi 3, penambahan PHIK di kurangi menjadi 6,2 g, dan kandungan asam amino leusin turun menjadi 1,41%, lisin menjadi 1,37% dan asam glutamate menjadi 3,13%. Pengolahan ikan menjadi hidrolisat protein bertujuan untuk mengatasi kerusakan ikan dan untuk mendapatkan bahan pangan yang lebih mudah dicerna. Adanya hidrolisat menjadikan protein terpotong dan terurai menjadi asam amino dan peptida-peptida yang lebih sederhana.^{20, 22} Produk PHIK pada penelitian ini menggunakan bakteri *Bacillus licheniformis* yang menghasilkan enzyme protease. Protease dalam proses hidrolisat, maka enzyme tersebut akan menghidrolisis protein menjadi senyawa lebih sederhana seperti peptida dan asam amino.^{23, 24}

Selain itu kandungan asam amino lisin dan leusin juga dapat dipengaruhi oleh bahan baku lain terutama kacang hijau. Asam amino esensial yang terdapat pada kacang hijau seperti leusin, lisin dan fenilalanin/tirosin yang dominan, diikuti oleh valin, isoleusin dan histidin. Selain itu, kandungan asam amino aromatik adalah 12,1%, di mana fenilalanin dan tirosin merupakan 11,3%. Sebaliknya, nilai untuk treonin, triptofan dan asam amino yang mengandung sulfur total (metionin dan sistein) yang bergizi tidak memadai.²⁵

Leusin juga merupakan salah satu asam amino yang paling banyak ditemui pada bahan pangan sumber protein seperti ikan. Hal ini diduga

karena adanya kandungan HPI yang berbahan dasar ikan yang menyebabkan kandungan Leusin pada formula tinggi. Leusin diperlukan dalam perkembangan anak-anak yang mana asam amino leusin dapat membantu regulasi pembentukan dan pemecahan protein serta menyediakan energi untuk otot dan mencegah kerusakan pada otot.²⁰ Asam amino merupakan zat gizi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan. Hormon pertumbuhan seperti *growth hormone* (GH) dan *insulin-like growth factor 1* (IGF-1) tersusun atas asam amino.²⁶ Berkurangnya salah satu asam amino dalam GH dan IGF-1 akan mempengaruhi pertumbuhan seseorang. Asam amino Lisin dan leusin merupakan reseptor GH yang akan meningkatkan kinerja dari IG-1 sehingga didalam jaringan GH akan meningkatkan fungsi dan ekspresi IGF-1 dalam pembelahan dan diferensiasi sel dengan mekanisme autokrin yang akan mempengaruhi pertumbuhan tulang.²⁷

Asam amino esensial merupakan faktor utama yang menentukan nilai gizi protein makanan. Protein yang berasal dari sumber hewani dianggap lebih baik daripada yang protein nabati hal ini karena sumber hewani mengandung protein dan asam amino esensial yang mudah dicerna. Daging ikan mengandung komposisi asam amino yang sangat baik dan merupakan sumber protein bergizi dan mudah dicerna.^{28, 29}

SIMPULAN

Formula MP-ASI hidrolisat protein ikan kuniran mengandung 15 asam amino yang terdiri dari 9 asam amino esensial yaitu histidin, arginin, treonin, valin, metionin, isoleusin, leusin, fenilalanin, lisin dan 6 asam amino non esensial yaitu asam glutamat, asam aspartat, serin, glisin, alanin, dan tirosin. Kandungan asam amino tertinggi adalah leusin, lisin dan asam glutamat yang terdapat pada formula 2.

DAFTAR PUSTAKA

1. Unicef. MDG Update. Accelerate Progress For Children. Toward a Post-2015 Development Agenda For All Children Unicef. Unit for Children. 2015
2. Bloem MW, Pee SD, Hop LT, Khan NC, Laillou A, Minarto, et. al. Key strategies to further reduce stunting in Southeast Asia: Lessons from the ASEAN countries workshop. Food and Nutrition Bulletin. 2013;34(S2):8-16. <https://doi.org/10.1177/15648265130342S103>
3. UNICEF. Improving Child Nutrition, The achievable imperative for global progress. 2013. Available from www.unicef.org/media/files/nutrition_report_2013.pdf
4. World Health Organization (WHO). Resolution WHA65.6. Maternal, infant and young child nutrition. In Sixty-fifth World Health Assembly, Geneva, 21–26 May. Resolutions and decisions, annexes (WHA65/2012/ REC/1)). Geneva. Switzerland: WHO. 2012
5. deOnis M, Branca F. Childhood stunting: a global perspective. World Health Organization; licensed by JohnWiley & Sons Ltd. Maternal & Child Nutrition. 2016;12 (S1):12–26. <https://doi.org/10.1111/mcn.12231>
6. Kemenkes. Buku saku survei status gizi Indonesia tahun 2022. Direktorat Gizi Masyarakat Direktorat Jenderal Kesehatan Masyarakat Kementerian Kesehatan. 2023
7. Black RE, Victora CG, Walker SP, Bhutta ZA, Christian P, de Onis M, Ezzati M, Grantham-McGregor S, Katz J, Martorell R, et al. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. Lancet. 2013;382(9890):427–451. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60937-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60937-X)
8. Aguayo VM, Nair R, Badgaiyan N, Krishna V. Determinants of stunting and poor linear growth in children under 2 years of age in india: An in-depth analysis of maharashtra's comprehensive nutrition survey. Maternal & Child Nutrition. 2016;12(S1):121-140. <https://doi.org/10.1111/mcn.12259>
9. Nus ET & Tanumihardjo SA. Quality protein maize for Africa: Closing the protein inadequacy gap in vulnerable population. American Society for Nutrition. Adv. Nutr. 2011;2(3):217–224. <https://doi.org/10.3945/an.110.000182>
10. Semba RD, Shardell M, Sakr FA, Moaddel R, Trehan I, Maleta KM, et al. Child stunting is associated with low circulating essential amino acids. E Bio Med, 2016;6:246–52. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.02.030>
11. World Health Organization (WHO). Resolution WHA65.6. Maternal, infant and young child nutrition. In Sixty-fifth World Health Assembly, Geneva, 21–26 May. Resolutions and decisions, annexes (WHA65/2012/ REC/1)). Geneva. Switzerland: WHO. 2012
12. Sivaraman G, et al. Proximate composition and fatty acid profiling of four marine fish species of Gujarat Coast. Society of Fisheries Technologists (India). 2016;53(4):326–329. Available from: <https://krishi.icar.gov.in/jspui/handle/123456789/41540>
13. Nurhayati T, Salamah E dan Hidayat T. Karakteristik hidrolisat protein ikan selar (*Caranx leptolepis*) yang diproses secara

- enzimatis. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia. 2007;10(1):23-34. Available from: <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jphpi/article/view/966>
14. Chasanah E., Fawzya YN., Zilda DS, Susilowati R. Laporan Teknis: Penelitian Teknologi Produksi Hidrolisat Protein Ikan (Hpi) Secara Enzimatis. BBRP2BKP. 2016
 15. Anwar F, Latif S, Przybylski R, Sultana B, Ashraf M. Chemical composition and antioxidant activity of seeds of different cultivars of mung bean. Journal of Food Science. 2007;72(7):S503-510. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00462.x>
 16. Purwono dan Hartono, R. Kacang hijau. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta ; 2005
 17. Winarno F G. Pangan, Gizi, teknologi dan konsumen. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama; 1993.
 18. Regan J O, M P Ennis, D M Mulvihill. Handbook of hydrocolloids (second edition): Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition; 2009
 19. Luo Y, Jin X, Hao Z, Wang Q, Zhu L, and He Y. Effect of sprouting on amino acids, protein solubility and availability in green and white faba bean (*Vicia faba* L.). Adv. J. Food Sci and Technol. 2014; 4:531-536 <http://dx.doi.org/10.19026/ajfst.6.67>
 20. Grooper SS, Smith JL, Groff JL. Carbohydrates, In: Down E, editor. Advanced Nutrition and Human Metabolism. Seventh Edition. USA: Wadsworth, Gengange Learning. 2018
 21. Kumar V, Rani A, Pandey V, and Chauhan GS. Changes in lipoxygenase isozyme and trypsin inhibitor activity in soybean during germination at different temperatures. Food Chemistry. 2006;99(3):563-568. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.024>
 22. Depkes RI. Pedoman Umum Gizi Seimbang. Direktorat Jenderal Bina Kesehatan Masyarakat. Jakarta; 2002
 23. Nurhayati T, Salamah E, Hidayat T. Karakteristik hidrolisat protein ikan selar (*Caranx leptolepis*) yang diproses secara enzimatis. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia(JPHI). 2007;10(1): 23-34. Available from: <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jphpi/article/view/966>
 24. Sudaryati Soeka Y, Rahayu SH, Setianingrum N, Naiola E. Kemampuan *Bacillus Licheniformis* dalam memproduksi enzim protease yang bersifat alkalin dan termofilik. Media Litbang Kesehatan. 2011;21:89-95. Available from: <https://www.neliti.com/id/publications/150524/kemampuan-bacillus-licheniformis-dalam-memproduksi-enzim-protease-yang-bersifat>
 25. FAO/WHO. Protein quality evaluation. Joint FAO/WHO. FAO Food Nutr Paper 1991;51:1-66
 26. Giustina A, Veldhuis JD. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. Endocrine reviews. 1998;19(6):717-797. <https://doi.org/10.1210/edrv.19.6.0353>
 27. Smith CM, Marks AD, Lieberman MA. Marks' Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach, 2nd Edition. Lippincot Williams&Wilkins. e-books. 2005.
 28. Kristinsson HG, Rasco BA. Fish protein hydrolysates: production, biochemical , and functional properties. Critical Review in Food Science and Nutrition, 2000;20(1):43-81. <https://doi.org/10.1080/10408690091189266>
 29. Hoffman DJ, Sawaya AL, Verreschi I, Tucker KL, Roberts SB. Why are nutritionally stunted children at increased risk of obesity? Studies of metabolic rate and fat oxidation in shantytown children from Sao Paulo, Brazil. Am. J. Clin. Nutr. 2007;72:702-707. <https://doi.org/10.1093/ajcn/72.3.702>