

**PENGARUH PERKECAMBAHAN DAN KOMBINASI
PERKECAMBAHAN-ELISITASI MENGGUNAKAN JAMUR TEMPE
TERHADAP PROFIL ASAM AMINO NON PROTEIN PADA KORO
PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)**

SKRIPSI

diajukan untuk memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia



Oleh
Asri Ardiantika
1500922

**PROGRAM STUDI KIMIA
DEPARTEMEN PENDIDIKAN KIMIA
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU
PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA
BANDUNG
2019**

**PENGARUH PERKECAMBAHAN DAN KOMBINASI
PERKECAMBAHAN-ELISITASI MENGGUNAKAN JAMUR TEMPE
TERHADAP PROFIL ASAM AMINO NON PROTEIN PADA KORO
PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)**

Oleh
Asri Ardiantika

Sebuah skripsi yang diajukan untuk memenuhi sebagian dari syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

© Asri Ardiantika 2019
Universitas Pendidikan Indonesia
2019

Hak Cipta dilindungi undang-undang.
Skripsi ini tidak boleh diperbanyak seluruhnya atau sebagian,
dengan dicetak ulang, difotokopi, atau cara lainnya tanpa ijin dari penulis

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “**Pengaruh Perkecambahan dan Kombinasi Perkecambahan-Elisitasi Menggunakan Jamur Tempe terhadap Profil Asam Amino Non Protein pada Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* L.)**” beserta seluruh isinya adalah benar-benar karya saya sendiri. Saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika ilmu yang berlaku dalam masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini, saya siap menanggung resiko atau sanksi yang dijatuhkan kepada saya apabila kemudian ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam karya saya ini, atau ada klaim dari pihak lain terhadap keaslian karya saya.

Bandung, 29 Agustus 2019

Yang membuat Pernyataan

Asri Ardiantika

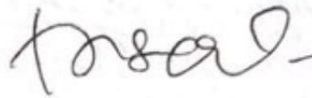
NIM. 1500922

ASRI ARDIANTIKA

**PENGARUH PERKECAMBAHAN DAN KOMBINASI
PERKECAMBAHAN-ELISITASI MENGGUNAKAN JAMUR
TEMPE TERHADAP PROFIL ASAM AMINO NON PROTEIN
PADA KORO PEDANG (*Canavalia ensiformis* L.)**

Disetujui dan disahkan oleh:

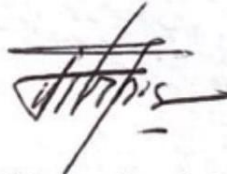
Pembimbing I,



Dr. Siti Aisyah, M.Si

NIP. 197509302001122001

Pembimbing II,



Dr. F.M. Titin Supriyanti, M.Si.

NIP. 195810141986012001

Mengetahui,

Ketua Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA UPI



Dr. Hendrawan, M.Si.

NIP. 196309111989011001

ABSTRAK

Koro pedang (*Canavalia ensiformis* L.) adalah jenis kacang-kacangan yang mengandung senyawa anti nutrisi termasuk asam amino non protein. Asam amino non protein merupakan sumber nitrogen organik yang memiliki efek terhadap kesehatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh perendaman, perkecambahan, kombinasi perkecambahan dan elisitasi menggunakan jamur tempe terhadap perubahan kandungan asam amino non protein pada koro pedang (*Canavalia ensiformis* L.). Metode yang digunakan meliputi preparasi sampel koro pedang, ekstraksi koro pedang dengan menggunakan pelarut metanol:air (1:1), analisis kandungan asam amino non protein dengan menggunakan instrumen HPLC/UV dan UPLC-ESI-QTOF. Hasil analisis dengan HPLC/UV menunjukkan bahwa ekstrak koro pedang yang diberi perlakuan berbeda memiliki jumlah puncak dan intensitas puncak yang berbeda. Analisis lebih lanjut menggunakan UPLC-ESI-QTOF menunjukkan bahwa terdapat 7 puncak senyawa yang secara tentative diduga merupakan asam amino non protein. Senyawa asam amino non protein tidak mengalami perubahan ketika koro pedang direndam selama 6 jam. Perkecambahan koro pedang menyebabkan hilangnya beberapa senyawa asam amino non protein dan menyebabkan terbentuknya senyawa baru yaitu lisinamida dan N8-asetilpermidina. Hilangnya beberapa senyawa asam amino non protein lebih lanjut terjadi pada saat koro pedang dielisitasi selain itu terdapat puncak senyawa baru yaitu L-fenilalanin, ectoin, asam p-aminohipurat dan asam 4-hidroksifenilpropionat. Senyawa-senyawa tersebut diduga merupakan senyawa fitoaleksin dari kelompok asam amino non protein.

Kata Kunci: Koro pedang; perkecambahan; elisitasi; jamur tempe; asam amino non protein; spektrum spektroskopi massa.

ABSTRACT

Jack bean (Canavalia ensiformis L.) is a type of legume that contains anti-nutritional compounds including non-protein amino acids. Amnio acid non-protein is a source of organic nitrogen which has an effect on health. The purpose of this study was to determine the effect of soaking, germination, combination of germination and elicitation using tempeh fungus on changes in non-protein amino acid content in jack bean (Canavalia ensiformis L.). The methods used include preparation of jack bean samples, extraction of jack bean using methanol: water (1: 1) solvent, analysis of non-protein amino acid content using HPLC/UV instruments and UPLC-ESI-QTOF. The analysis result by HPLC/UV showed jack bean with different treatment has different peak number and intensity. Further analysis using UPLC-ESI-QTOF showed jack bean has 7 peaks compound which tentatively were non-protein amino acids. Non-protein amino acid compounds not change in soaked jack bean. Germination jack bean causes lost some amino acid compound. Interestingly germinated jack bean has the new compound such as lysinamide and N8-acetylspermidine. The futher lost of some non-protein amino acid compound is further occur when jack bean is elicited, but there are also new compounds such as L-phenilanaline, ectoine, p-aminohippuric acid and 4-hydroxyphenylpropionic acid. These compounds are thought to be phytoalexin compounds from non-protein amino acid groups.

Keywords: *Jack bean; germination; elicitation; tempeh fungus; non-protein amino acids; mass spectroscopy spectrum.*

KATA PENGANTAR

Segala puji penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahlimpahkan kepada junjungan kita nabi Muhammad SAW beserta keluarga, para sahabat dan umatnya hingga akhir jaman.

Penulisan skripsi ini diajukan untuk memenuhi sebagian dari syarat memperoleh gelar Sarjana Sains Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia. Judul skripsi ini yaitu **“Pengaruh Perkecambahan dan Kombinasi Perkecambahan-Elisitasi Menggunakan Jamur Tempe terhadap Profil Asam Amino Non Protein pada Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* L.)”**. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat secara umum bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan secara khusus bagi penulis.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, oleh karena itu penulis memohon maaf atas segala kekurangan dan kesalahan yang terjadi. Demi perbaikan kedepannya, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Semoga dikesempatan berikutnya penulis dapat menghasilkan karya yang lebih baik lagi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan kasih sayang-Nya, dan juga ucapan terimakasih kepada yang berbagai pihak yang terlibat dalam penyusunan skripsi ini baik secara langsung maupun tidak langsung, yaitu:

1. Ibu Dr. Siti Aisyah, M.Si selaku pembimbing I yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan dengan sabar senantiasa memberikan saran, kritik, motivasi dan membimbing penulis dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.
2. Ibu Dr. F.M. Titin Supriyanti, M.Si selaku pembimbing II dan ketua KBK Kimia Makanan yang senantiasa membimbing dan memberikan kritik serta saran selama proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Hendrawan M.Si selaku ketua Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA UPI dan Ibu Fitri Khairunnisa, Ph.D. selaku ketua Program Studi Kimia FPMIPA UPI.
4. Bapak dan Ibu Dosen serta Laboran Departemen Pendidikan Kimia FPMIPA UPI yang telah memberikan ilmunya dan membantu penulis dalam melakukan penelitian.
5. Bapak Dadang Sunandar dan Ibu Nurjanah selaku orang tua yang senantiasa memberikan kasih sayang, do'a, bimbingan, motivasi dan dukungan kepada penulis hingga saat ini. Serta kakak Dani Nurdiansyah dan Muhammad Luthfi yang selalu memberikan dukungan kepada penulis.
6. Bapak H. Maman dan Ibu Hj. Nina Nurlina selaku paman dan bibi yang telah memberikan dukungan, do'a dan motivasi kepada penulis.
7. Teman-teman KBK Kimia Makanan khususnya tim germinasi (Indira, Rita dan Jasmine) yang selalu saling membantu dan memotivasi dalam melakukan penelitian ini.
8. Teman-teman terdekat (Shofa Dita, Nur Asyifa, Fira, Intan, Rossa, Adisti, Nur Asiah) yang telah bersama-sama berjuang dari awal perkuliahan sampai penulis dapat menyelesaikan penelitain ini.

9. Teman-teman Kost Al-Imam (Irsalina, Rifa, Friska, Atika, Barara) yang telah saling membantu dalam berbagai hal.
10. Teman-teman Kimia 2015 yang selalu saling menyemangati dan membantu satu sama lain selama perkuliahan dan juga dalam melakukan penelitian di laboratorium.
11. Semua pihak yang belum bisa penulis tulis satu persatu yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan terbaik kepada semuanya. *Aamiin Yaa Rabbal 'Alamiin.*

Bandung, 29 Agustus 2019

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Batasan Masalah.....	5
1.6 Struktur Organisasi Skripsi.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Koro Pedang (<i>Canavalia ensiformis</i> L.).....	7
2.2 Komposisi Kimia Pada Koro Pedang.....	9
2.3 Senyawa Asam Amino Non Protein.....	9
2.3.1 Senyawa L-DOPA.....	10
2.3.2 Senyawa Canavanin.....	11
2.3.3 Senyawa GABA.....	12
2.3.4 Senyawa Taurin.....	13
2.3.5 Senyawa Serotonin.....	13
2.3.6 Senyawa γ -Hidroksi-arginin.....	14
2.4 Perkecambahan Kacang-Kacangan.....	15
2.5 Elisitasi Kacang-Kacangan.....	17
2.6 Jamur Tempe.....	19
2.7 <i>High Performance Liquid Chromatography</i> (HPLC).....	21
2.7.1 Mikroprosesor kontrol.....	22
2.7.2 Pompa.....	22

2.7.3	Injektor.....	23
2.7.4	Kolom	23
2.7.5	Detektor.....	24
2.7.6	Recorder dan Data processing.....	24
2.8	<i>Liquid Chromatography (LC/MS)</i>	24
2.8.1	<i>Electrospray ionization</i>	26
2.8.2	Analisis Massa.....	27
2.9	Penentuan Struktur Menggunakan Spektroskopi Massa.....	27
BAB III METODE PENELITIAN		29
3.1	Waktu dan Lokasi Penelitian.....	29
3.2	Alat dan Bahan	29
3.2.1	Alat	29
3.2.2	Bahan	30
3.3	Prosedur Penelitian	30
3.4	Bagan Alir	32
3.5	Cara Kerja	33
3.5.1	Tahap Pembersihan Sampel	33
3.5.2	Tahap Proses Perkecambahan	33
3.5.3	Tahap Ekstraksi	36
3.5.4	Tahap Analisis dengan HPLC/UV	37
3.5.5	Tahap Analisis dengan UPLC-ESI-QTOF.....	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....		39
4.1	Hasil Perkecambahan dan Elisitasi Menggunakan Jamur Tempe Pada Koro Pedang	39
4.2	Optimasi Ekstaksi Bubuk Koro Pedang.....	40
4.3	Analisis Senyawa Asam Amino Non Protein Pada Koro Pedang	41
4.3.1	Pengukuran Asam Amino Non Protein Pada Ekstrak Koro Pedang Menggunakan HPLC/UV	41
4.3.2	Pengukuran Asam Amino Non Protein Pada Ekstrak Koro Pedang Menggunakan UPLC-ESI-QTOF.....	43
4.3.3	Pengaruh Perkecambahan dan Elisitasi Menggunakan Jamur Tempe Terhadap Profil Asam Amino Non Protein Pada Koro Pedang.....	46

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	51
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	62
RIWAYAT HIDUP	70

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Koro pedang	7
Gambar 2.2 Struktur L-3,4-dihidroksi-fenilalanin (L-DOPA)	10
Gambar 2.3 Struktur canavanin	12
Gambar 2.4 Struktur gamma-amino butyric acid (GABA).....	12
Gambar 2.5 Struktur taurin.....	13
Gambar 2.6 Struktur serotonin	14
Gambar 2.7 γ -hidroksi-arginin	14
Gambar 2.8 Komponen alat LC/MS	25
Gambar 2.9 Electrospray ionization	26
Gambar 3.1 Bagan alir penelitian	32
Gambar 3.2 Skema alat perkecambahan	34
Gambar 4.1 Koro pedang yang dikecambahkan 7 hari (g); (B) Koro pedang yang dikecambahkan 2 hari dan dielisitasi menggunakan jamur tempe (EG).....	40
Gambar 4.2 Kromatogram HPLC ekstrak koro pedang.....	42
Gambar 4.3 Kromatogram LC-MS ekstrak koro pedang.....	44
Gambar 4.4 Struktur senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak koro pedang ...	49

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi kimia tepung biji koro pedang.....	9
Tabel 2.2 sifat-sifat jamur tempe.....	19
Tabel 2.3 Identifikasi <i>Rhizopus sp.</i> dari berbagai asal isolat	20
Tabel 3.1 Kesimpulan perbedaan perlakuan pada koro pedang	35
Tabel 4.1 Data absorbansi pada pelarut yang berbeda.....	41
Tabel 4.2 Komponen yang terkandung dalam ekstrak koro pedang	45
Tabel 4.3 Data spektroskopi massa ekstrak koro pedang dengan menggunakan UPLC-ESI-QTOF.....	46

DAFTAR PUSTAKA

- [BPMBTPH] Balai Pengkajian Mutu Benih Tanaman Pangan dan Hortikultura. (2005). Evaluasi kecambah-pengujian daya berkecambah. Direktorat Jenderal Tanaman Pangan Direktorat Perbenihan. Jakarta. 220 p.
- Adom, K. K., Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 6182-6187.
- Alsadon, A., Yule, L. J., & Powell, A. A. (1995). Influence of seed aging on the germination, vigour and emergence in module trays of tomato and cucumber seeds. *Seed Science and Technology (Switzerland)*. v. 23 (3).
- Aisyah, S., Gruppen, H., Madzora, B., & Vincken, J. (2013). Modulation of Isoflavonoid Composition of *Rhizopus oryzae* Elicited Soybean (*Glycine max*) Seedlings by Light and Wounding, (August).
- Aisyah, S., Vincken, J., Andini, S., Mardiah, Z., & Gruppen, H. (2016). Phytochemistry Compositional changes in (iso) flavonoids and estrogenic activity of three edible *Lupinus* species by germination and *Rhizopus*-elicitation. *Phytochemistry*, 122, 65–75.
- Akrapunam, M. A. (1997). Some physicochemical properties and anti-nutritional factors of raw, cooked and germinated Jack bean (*Canavalia ensiformis*), 59(I), 121–125.
- Ansori, R. (1989). Pengantar teknologi fermentasi. Departemen pendidikan kebudayaan dirjen dikti pusat antar. Universitas Pangan dan Gizi IPB, Bogor.
- Apaydin, H., Ertan, S., & Özekmekçi, S. (2000). Broad bean (*Vicia faba*) A natural source of L-dopa—Prolongs “on” periods in patients with Parkinson's disease who have “on–off” fluctuations. *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, 15(1), 164-166.
- Babar, V. S., & Chavan, J. K. (1988). (*Canavalia ensiformis* L). 324, 319–324.
- Bau, H., Villaume, C., Nicolas, J., Me, L., & Alimentaire, C. (1997). Effect of Germination on Chemical Composition, Biochemical Constituents and Antinutritional Factors of Soybean (*Glycine max*) Seeds, 00.

- Beguin, P., & Aubert, J. P. (1994). The biological degradation of cellulose. *FEMS Microbiology Review*, 13(1), 25–58.
- Bell, E. A. (2003). Nonprotein amino acids of plants: significance in medicine, nutrition, and agriculture. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(10), 2854-2865.
- Berger, M., Gray, J. A., & Roth, B. L. (2009). The Expanded Biology of Serotonin. *Annu. Rev. Med.*
- Bezkorovainy, A., & Rafelson, M. E., Jr. (1996). Protein and amino acid metabolism. In *Concise biochemistry* (pp. 535–579). New York: Marcel Dekker.
- Budi Widianarko, Rika P. dan Retnaningsih. 2000. Tempe, Makanan Populer dan Bergizi Tinggi. *Seri Iptek Pangan Volume 1: Teknologi, Produk, Nutrisi dan Keamanan Pangan*. Jurusan Teknologi Pangan. Unika Soegijapranata. Semarang.
- Buga, G. M., Wei, L. I. U. H. U. A., Bauer, P. M., Fukuto, J. O. N. M., Ignarro, L. J., Georgette, M. (2019). NG-hydroxy-L-arginine and nitric oxide inhibit Caco-2 tumor cell proliferation by distinct mechanisms.
- Buitelaar, R. M., & Tramper, J. (1992). Strategies to improve the production of secondary metabolites with plant cell cultures: a literature review. *Journal of Biotechnology*, 23(2), 111-141.
- Bruce, D. W. (1960). Serotonin in pineapple. *Nature*, 188(4745), 147.
- Campbell, N.A. (2003). *Biologi*. Alih Bahasa : L. Rahayu, E.I.M Adil, N Anita, Andri, W.F Wibowo, W. Manalu. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Dewi, R. S., & Aziz, S. (2011). Isolasi *Rhizopus oligosporus* pada beberapa inokulum tempe di Kabupaten Banyumas. *Molekul*, 6(2), 93-104.
- Djavadian, R. L. (2004). Serotonin and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of adult mammals, 189–200.
- Dillen, L., Cools, W., Vereyken, L., Lorreyne, W., Huybrechts, T., de Vries, R. & Cuyckens, F. (2012). Comparison of triple quadrupole and high-resolution

- TOF-MS for quantification of peptides. *Bioanalysis*, 4(5), 565-579.
- Doss, A., Pugalenti, M., & Vadivel, V. (2011). Antioxidant Activity Of Raw And Differentially Processed Under-Utilized Tropical Legume *Canavalia ensiformis* L. DC IIOAB-India.
- Ekanayake, S. (2007). Canavanine content in sword beans (*Canavalia gladiata*): Analysis and effect of processing, 45, 797–803.
- Ekanayake, S., Jansz, E. R., & Nair, B. M. (2000). Nutritional evaluation of protein and starch of mature *Canavalia gladiata* seeds. *International journal of food sciences and nutrition*, 51(4), 289.
- Eilert, U. (1987). Elicitation: methodology and aspects of application. *Cell culture and somatic cell genetics of plants*, 4, 153-96.
- Ervin, G. N., & Wetzel, R. G. (2002). Note Effects Of Sodium Hypochlorite Sterilization And Dry Cold Storage On Germination Of *Juncus Effusus* L. 22(1), 191–195.
- Fait, A., Yellin, A., & Fromm, H. (2005). GABA shunt deficiencies and accumulation of reactive oxygen intermediates: insight from *Arabidopsis* mutants, 579, 415–420.
- Feng, S., Saw, C. L., Lee, Y. K., & Huang, D. (2007). Fungal-stressed germination of black soybeans leads to generation of oxooctadecadienoic acids in addition to glyceollins. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(21), 8589-8595.
- Fitriasari, R. M. (2010). *Kajian Penggunaan Tempe Koro Benguk (Mucuna Pruriens) dan Tempe Koro Pedang (Canavalia ensiformis L.) dengan Perlakuan Variasi Pengecilan Ukuran (Pengirisan dan Penggilingan) terhadap Karakteristik Kimia dan Sensoris Nugget Tempe Koro* (Doctoral dissertation, Universitas Sebelas Maret).
- Guajardo-flores, D., Serna-saldívar, S. O., & Gutiérrez-uribe, J. A. (2013). Evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities of extracted saponins and flavonols from germinated black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 141(2), 1497–1503.

- Gudbjarnason, S. (1999). Bioactive marine natural products. *RIT FISKIDEILD*, 16, 107-110.
- Hamzah, R. Sifat Fungsional Teknis Tepung Koro Dari Berbagai Varietas Dengan Lama Perendaman.
- Hapsari, R. T., & Widajati, E. (2013). Studi Karakteristik Perkecambahan Beberapa Lot Benih Koro Pedang Tipe Tegak (*Canavalia ensiformis* L.), Tipe Merambat (*Canavalia gladiata*) dan Koro Benguk (*Mucuna pruriens* L. DC). In *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi* (Vol. 2013, pp. 742-755).
- Hasegawa, T., Ishii, T., Takahashi, K., Saijo, M., Fukiwake, T., & Nagata, T. (2011). Quantitative Determination of L-DOPA in Dietary Supplements Containing *Mucuna pruriens* by High Performance Liquid Chromatography, 53–56.
- Hesseltine, C. W. (1965). A millennium of fungi, food, and fermentation. *Mycologia*, 57(2), 149-197.
- Hwang, D. F., Wang, L. C., & Cheng, H. M. (1998). Brief Communications Effect of Taurine on Toxicity of Copper in Rats, 36.
- Ishihara, A., Hashimoto, Y., Tanaka, C., Dubouzet, J. G., Nakao, T., & Matsuda, F. (2008). The tryptophan pathway is involved in the defense responses of rice against pathogenic infection via serotonin production, 481–495.
- Jeon, H. Y., Seo, D. B., Shin, H., & Lee, S. (2012). Effect of *Aspergillus oryzae* - Challenged Germination on Soybean Isoflavone Content and Antioxidant Activity.
- Jones, B. V. M., & Boulter, D. (1968). Amino Acid Analyses Of Germinating Seeds Of Some Members Of The Leguminosae.
- Kang, S., Kang, K., Lee, K., & Back, K. (2007). Characterization of tryptamine 5-hydroxylase and serotonin synthesis in rice plants. *Plant cell reports*, 26(11), 2009-2015.
- Kataoka, H., & Ohnishi, N. (1986). Occurrence of Taurine in Plants, 50(7), 1887–

1888.

- Kite, G. C., & Ireland, H. (2002). Non-protein amino acids of Bocoa (Leguminosae ; Papilionoideae), 59, 163–168.
- Krakauer, J., Long, Y., Kolbert, A., Thanedar, S., & Southard, J. (2015). Presence of L-canavanine in Hedysarum alpinum seeds and its potential role in the death of Chris McCandless. *Wilderness & environmental medicine*, 26(1), 36-42.
- Kumarasamy, Y., Middleton, M., Reid, R. G., & Nahar, L. (2003). Biological activity of serotonin conjugates from the seeds of Centaurea nigra, 74(03), 609–612.
- Kuo, Y., Rozan, P., Lambein, F., & Frias, J. (2004). Food Chemistry Effects of different germination conditions on the contents of free protein and non-protein amino acids of commercial legumes, 86, 537–545.
- Lee, Y. R., Kim, J. Y., Woo, K. S., Hwang, I. G., Kim, K. H., Kim, K. J., ... & Jeong, H. S. (2007). Changes in the chemical and functional components of Korean rough rice before and after germination. *Food Science and Biotechnology*, 16(6), 1006-1010.
- Marti, A., Di, F., Molla, E., & Esteban, R. M. (2008). Food Chemistry Influence of germination on the soluble carbohydrates and dietary fibre fractions in non-conventional legumes, 107, 1045–1052.
- Mason, T. J. (1990). Introduction, Chemistry with Ultrasound. London : Elsevier Applied Science.
- Misra, L., & Wagner, H. (2007). Extraction of bioactive principles from Mucuna pruriens seeds, 44(February), 56–60.
- Mochizuki, H., Oda, H., & Yokogoshi, H. (1998). Increasing effect of dietary taurine on the serum HDL-cholesterol concentration in rats. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 62(3), 578-579.
- Mohan, V. R., & Janardhanan, K. (1994). The biochemical composition and nutrient assessment of less known pulses of the genus Canavalia. *International journal of food sciences and nutrition*, 45(4), 255-262.

- Morris, J. B. (2007). Swordbean (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.) genetic resources regenerated for potential medical , nutraceutical and agricultural traits, 585–592.
- Murch, S. J., Alan, A. R., Cao, J., & Saxena, P. K. (2009). Melatonin and serotonin in flowers and fruits of *Datura metel* L. *Journal of Pineal Research*, 47(3), 277-283.
- Murniasih, T. (2003). Metabolit Sekunder dari Spons sebagai Bahan Obat-Obatan, *Oseana*, 28, 3, 27-33.
- Murtiningsih. (2000). Mengenal HPLC : Perannya Dalam Analisa dan Proses Isolasi Bahan Kimia Alam. *Berita Biologi Volume 5, Nomor 2. Puslitbang Biologi - LIPI, Bogor.*
- Namdeo, A. G. (2007). Plant cell elicitation for production of secondary metabolites: a review. *Pharmacogn Rev*, 1(1), 69-79.
- Narayan, V. S., & Nair, P. M. (1990). Metabolism, enzymology and possible roles of 4-aminobutyrate in higher plants. *Phytochemistry*, 29(2), 367-375.
- Ningrum, D.C. (2009). Pengkajian Proses Pembuatan Tepung GBR (Germinated Brown Rice) Kombinasi Antara Lama Perkecambahan Gabah Dan Sistem Pengeringan. Skripsi. Jurusan Teknik Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya.
- Nofiani, R. (2008). Urgensi dan Mekanisme Biosintesis Metabolit Sekunder Mikroba Laut. *Jurnal Natur Indonesia*, 10(02), 120-125.
- Olivia, F., A. W. Gunawan., dan A. Suwanto., 1998, Isolasi dan Detekksi Lipase *Rhizopus* spp. (Isolation and Detection of Lipase from *Rhizopus* spp.), *Catatan Penelitian. Hayati*, Vol.5, No. 4, 113-115. Pitt, J.I. and A.D Hocking
- Olsson, J., Jennessen, J., Schnu, J., Samson, R. A., Dijksterhuis, J., & Hawksworth, D. L. (2008). Morphological characteristics of sporangiospores of the tempe fungus *Rhizopus oligosporus* differentiate it from other taxa of the *R. microsporus* group, 112, 547–563.
- Pawiroharsono, S. (1996). Aspek mikrobiologi tempe. Dalam. *Sapuan dan N.*

- Soetrisno (eds.). *Biology*, 169–204.
- Park, S., Kang, K., Lee, K., Choi, D., & Kyoungwhan, Y. K. (2009). Induction of serotonin biosynthesis is uncoupled from the coordinated induction of tryptophan biosynthesis in pepper fruits (*Capsicum annuum*) upon pathogen infection, 1197–1206.
- Pertiwi, S. F., & Aminah, S. Nurhidajah. 2013. Aktivitas Antioksidan, Karakteristik Kimia, dan Sifat Organoleptik Susu Kecambah Kedelai Hitam (Glycine soja) Berdasarkan Variasi Waktu Perkecambahan. *Jurnal Pangan dan Gizi*, 4(8), 1-8.
- Rajaram, N., & Janardhanan, K. (1992). Nutritional and chemical evaluation of raw seeds of *Canavalia gladiata* (Jacq) DC. and *C. ensiformis* DC: The under utilized food and fodder crops in India. *Plant Foods for Human Nutrition*, 42(4), 329-336.
- Randhir, R., Kwon, Y., & Shetty, K. (2009). Bioresource Technology Improved health-relevant functionality in dark germinated *Mucuna pruriens* sprouts by elicitation with peptide and phytochemical elicitors. *Bioresource Technology*, 100(19), 4507–4514.
- Randhir, R., Shetty, P., & Shetty, K. (2002). L -DOPA and total phenolic stimulation in dark germinated fava bean in response to peptide and phytochemical elicitors, 37, 1247–1256.
- Randhir, R., Vатtem, D., & Shetty, K. (2004). Solid-state bioconversion of fava bean by *Rhizopus oligosporus* for enrichment of phenolic antioxidants and L -DOPA, 5, 235–244.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Owen, S. C. (2006). Handbook of Pharmaceutical Excipients, 389-394, 449-452.
- Rosenthal, G. A. (1990). Metabolism of L-Canavanine and L-Canaline in Leguminous Plants, 1–3.
- Rozan, P., Kuo, Y., & Lambein, F. (2001). Amino acids in seeds and seedlings of the genus *Lens*, 58, 281–289.

- Sangronis, E. Ã., & Machado, C. J. (2007). Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus vulgaris* and *Cajanus cajan*, *40*, 116–120.
- Sardjono, R. E., Musthapa, I., & Subarnas, A. (2016). Evaluation Of Antiparkinson ' S Activity Of Indonesian Velvet Bean (*Mucuna pruriens*) Extract, *11*(18), 10856–10861.
- Siddhuraju, P., & Becker, K. (2001). Rapid reversed-phase high performance liquid chromatographic method for the quantification of L-Dopa tetrahydroisoquinoline compounds from *Mucuna* beans, *72*, 389–394.
- Suberbie, F., Mendizabal, D., & Mendizabal, C. (1981). Germination of soybeans and its modifying effects on the quality of full-fat soy flour. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *58*(3), 192-194.
- Sung, M. K., Jeon, H. S., & Park, T. (1999). Taurine possesses in vitro antimutagenic activity comparable to major antioxidants. *Preventive Nutrition and Food Science*, *4*(1), 43-46.
- Thaakur, S. (2007). Herbs containing L- Dopa : An update, (I), 50–55.
- Ti, H, *et al.* (2014). Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. *Food Chemistry*, *161*, 337–344.
- Tor, R. (2009). Dopaminergic Agonists and L -DOPA, 601–607.
- Usmanov, P. D. (1999). Aging of *Arabidopsis thaliana* seeds and its overcoming. *Russian journal of plant physiology*, *46*(3), 423-425.
- Vachhani, U. D., Trivedi, M. N., Bajaj, A., Shah, C. P., & June, A. (n.d.). Research Journal of Pharmaceutical , Biological and Chemical Sciences A HPTLC method for quantitative estimation of L-dopa from *Mucuna Pruriens* in polyherbal aphrodisiac formulation, *2*(2), 389–396.
- Voet, D., Voet, J. G., & Pratt, C. W. (2013). *Fundamentals of biochemistry: life at the molecular level* (No. 577.1 VOE).
- Vora, R., Joshi, A. N., & Joshi, N. C. (2017). International Journal of Bioassays Comparison of extraction efficiency of various methods to extract L-DOPA

from *Mucuna pruriens* (L .) DC ., 5343–5346.

- Vranova, V., Rejsek, K., Skene, K. R., & Formanek, P. (2011). Non-protein amino acids : plant , soil and ecosystem interactions, 31–48.
- Wahlberg, L. U. (2014). *Brain Implants. Principles of Tissue Engineering* (Fourth Edition). Elsevier.
- Wei, D., Kirimura, K., Usami, S., & Lin, T. (1996). Purification and Characterization of an Extracellular β -Glucosidase from the Wood-Grown Fungus *Xylaria regalis*, 33, 297–301.
- Woodward, J. (1982). Fungal and other glucosidases their properties and applications, 4, 73–79.
- Willard *et al.* (1988). *Instrumental Methods of Analysis 7th Ed. Wadworth. Inc. Belmont, California USA*, 580-613
- Wilkinson, L. O. (1991). Serotonin and animal behaviour. *Serotonin receptor subtypes: Basic and clinical aspects*. 1015-2
- Windrati, W. S., Bambang Herry, P., & Diniyah, N. (2015). Pengembangan Teknologi Pangan Berbasis Koro-Koroan Sebagai Bahan Pangan Alternatif Pensubstitusi Kedelai.
- Wu, Z., Song, L., & Huang, D. (2011). Food Grade Fungal Stress on Germinating Peanut Seeds Induced Phytoalexins and Enhanced Polyphenolic Antioxidants, 5993–6003.
- Zelikovic, I., Chesney, R. W., Friedman, A. L., & Ahlfors, C. E. (1990). Renal immaturity causes taurine depletion in very low birth weight infants fed with prolonged total parenteral nutrition. In *Amino Acids* (pp. 1095-1103). Springer, Dordrecht.
- Zhang, *et al.* (2010). Phenolic Profiles and Antioxidant Activity of Black Rice Bran of Different Commercially Available Varieties, *J.Agric.Food Chem.*, 58 (13):7580-7587.
- Zhou, Y. Z., Alany, R. G., Chuang, V., & Wen, J. (2012). Studies of the rate constant of L-dopa oxidation and decarboxylation by HPLC. *Chromatographia*, 75(11-12), 597-606