

Potensi Bekasam Bandeng (*Chanos chanos*) sebagai Sumber Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitor

The Potency of Milkfish (*Chanos chanos*) Bekasam As Source of Angiotensin I Converting Enzyme Inhibitor

Prima Retno Wikandari^{*1,2}, Suparmo², Y. Marsono², dan Endang S. Rahayu²

¹Fakultas MIPA, Universitas Negeri Surabaya, Surabaya 60231

²Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

E-mail: wikandari@yahoo.com *Penulis untuk korespondensi

Abstract

Bekasam is a fermented fish product. Bekasam was perceived to has an ACE- inhibitory activity due to the bioactive peptide from degradation product of fish protein by endogenous-proteolytic enzymes or from the proteolytic activity of lactic acid bacteria. The changes of the population of lactic acid bacteria, pH, total acid, soluble proteins and the ACE- inhibitory activity during the bekasam fermentation were studied. The population of lactic acid bacteria increased from 5,16 to 8,15 log CFU/g, followed by decreasing of pH from the initial value (6,15) at raw milkfish to 4,41 after 9 days of fermentation and it was followed by the increasing of the total acid. Bekasam showed an antihypertensive activity of 51.77% at 6 days of fermentation and it was not showed an ACE- inhibitory activity for the next days of fermentation. There were a correlation between the increasing of soluble protein and the ACE- inhibitory activity during the bekasam fermentation.

Key words: Bekasam, fermented fish, lactic acid bacteria, soluble Protein, ACE- inhibitory activity

Abstrak

Bekasam adalah produk fermentasi ikan. Bekasam diduga mempunyai aktivitas *Angiotensin I Converting Enzyme* (ACE) inhibitor, yang disebabkan oleh terbentuknya peptida ACE inhibitor hasil aktivitas proteolitik enzim endogenous ikan dan bakteri asam laktat. Penelitian ini bertujuan mengetahui perubahan populasi bakteri asam laktat, pH, total asam, perubahan protein terlarut dan besarnya aktivitas ACE inhibitor selama proses fermentasi bekasam. Jumlah populasi bakteri laktat meningkat dari 5,16 menjadi 8,15 log CFU/g, nilai pH menurun dari 6,5 menjadi 4,41 disertai dengan peningkatan total asam. Bekasam bandeng menunjukkan aktivitas antihipertensi sebesar 51,77% yang terbentuk pada hari ke 6, dan tidak menunjukkan aktivitas penghambatan pada proses fermentasi selanjutnya. Besarnya aktivitas ACE inhibitor berkorelasi dengan terjadinya kenaikan protein terlarut selama proses fermentasi bekasam.

Kata kunci: Bekasam, fermentasi ikan, bakteri asam laktat, protein terlarut, aktivitas ACE inhibitor

Diterima: 01 September 2010, disetujui: 02 Februari 2011

Pendahuluan

Bekasam adalah salah satu hasil produk fermentasi tradisional Indonesia yang terbuat dari campuran ikan, garam dan nasi yang difermentasi selama 5 sampai 7 hari dalam wadah tertutup pada suhu ruang. Produk yang dihasilkan mempunyai karakteristik daging ikan kenyal seperti ikan segar, berasa asam dan beraroma asam.

Perkembangan penelitian tentang produk fermentasi saat ini banyak mendapatkan perhatian, terutama dengan diketahuinya manfaat produk fermentasi dalam mengatasi berbagai masalah kesehatan. Degradasi protein oleh enzim proteolitik endogenous maupun mikrobial pada produk fermentasi dapat menghasilkan peptida bioaktif yang berfungsi sebagai komponen antihipertensi, antimikrobia, antithrombotik, antioksidatif, dan

immunomodulator (First-Gerald dan Meisel, 2003).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa bakteri asam laktat mampu mendegradasi bahan pangan berprotein menghasilkan peptida yang mempunyai sifat dapat menghambat aktivitas *Angiotensin I Converting Enzyme* (ACE), enzim yang bertanggung jawab terhadap terjadinya hipertensi. Penghambatan terhadap aktivitas ACE akan mencegah terjadinya hipertensi. Penelitian tentang ACE inhibitor pada produk fermentasi telah banyak dilakukan pada susu (Yamamoto *et al.*, 1994; Maeno *et al.*, 1996; Nakamura *et al.*, 1995; Gobetti *et al.*, 2000; Seppo *et al.*, 2003; Minervini *et al.*, 2003; Oeno *et al.*, 2004; Muguerza *et al.*, 2006). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa produk fermentasi laktat pada ikan menunjukkan aktivitas ACE inhibitor (Itou dan Akahane, 2004; Lee, 2003; Yin *et al.*, 2004).

Bekasam bandeng diduga mempunyai aktivitas ACE inhibitor yang disebabkan adanya degradasi proteolitik protein ikan oleh bakteri asam selama proses fermentasi. Tujuan penelitian ini mengetahui perubahan populasi bakteri asam laktat, perubahan protein terlarut dan besarnya aktivitas ACE inhibitor selama proses fermentasi bekasam. Hasil digunakan sebagai dasar penelitian untuk mendapatkan jenis-jenis bakteri asam laktat dari bekasam yang berpotensi dalam menghasilkan ACE inhibitor.

Metode Penelitian

Pembuatan Bekasam

Ikan bandeng dibeli dari pasar lokal di Yogyakarta, dengan berat \pm 150 gram, dibersihkan sisik, insang, isi perut lalu dicuci, dan ditambah garam sebanyak 10% (b/b), selanjutnya difermentasi dalam wadah tertutup selama 2 hari pada suhu ruang. Proses selanjutnya adalah penambahan nasi dengan rasio ikan:nasi = 1:1. Proses fermentasi dilanjutkan hingga 7 hari. Bekasam ini dibuat 3 kali ulangan.

Analisa pH dan Total Asam

Sebanyak \pm 20 gr sampel bekasam ditambahkan 100 ml aquadest dan dihomogenkan menggunakan stomacher selama 10 menit. Selanjutnya, pH ditentukan menggunakan pH meter yang sudah dikalibrasi. Untuk analisis total asam dilakukan menggunakan metode titrasi (AOAC, 2000), dengan cara 10 ml suspensi ditambah tiga tetes indikator fenolphthalein, kemudian dititrasi menggunakan larutan NaOH 0.1N. Dtitrasi ini dilakukan 3 ulangan. Total asam dihitung berdasarkan rumus:

$$\% \text{ asam laktat} = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times \frac{1}{10} \times 90}{\text{ml sampel}}$$

Penentuan Kadar Protein Terlarut

Penentuan kadar protein terlarut dilakukan dengan mengacu pada metode Lowrey (AOAC, 2000). Ke dalam 10 ml suspensi ekstrak bekasam ditambahkan 5 ml asam trikloro asetat, selanjutnya sampel disentrifus pada 5000 x g selama 20 menit. Diambil 0,1 ml supernatan, ditambahkan 3,9 ml aquadest dan 5,5 ml reagen Lowrey, didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar, ditambah 0,5 ml reagen Folin. Direaksikan selama 30 menit pada suhu kamar. Kadar protein terlarut diukur pada panjang gelombang 600 nm. Kurva standart digunakan Bovine Serum Albumin (BSA). Setiap analisis dilakukan sebanyak 3 ulangan.

Enumerasi Populasi Bakteri Asam Laktat

Metode enumerasi dilakukan menurut Robert *et al.*, (1995). Sebanyak 10 gram sampel bekasam diencerkan dalam 90 ml larutan steril NaCl 0,86% dan dihomogenkan menggunakan stomacher. Selanjutnya, dilakukan sederet pengenceran dari 10^{-1} sampai 10^{-7} menggunakan larutan steril NaCl 0,86%. Setiap pengenceran diinokulasikan pada tiap-tiap medium pertumbuhan MRS agar + CaCO_3 dengan metode "poured plate" dan diinkubasi pada suhu 35–37°C selama 48 jam. Cawan yang memberikan hitungan koloni 30–300 dipakai sebagai penghitungan total koloni. Setiap pengujian dilakukan 3 kali ulangan.

Pengujian Aktivitas ACE Inhibitor

Pengujian aktivitas ACE inhibitor dilakukan dengan modifikasi metode Cheung dan Chusman, (1971). Ke dalam 65 µl ekstrak bekasam ditambahkan 75 µl substrat Hip-His-Leu 5 mM di dalam buffer borat (pH 8,3) yang mengandung 1 M NaCl dan 25 µl enzim pengubah angiotensin (2,5 mU). Larutan ini diinkubasi pada 37°C selama 1 jam. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 125 µl HCl 1M. Untuk mengekstrak asam hipurat, ditambahkan 750 µl etil asetat. Selanjutnya, sebanyak 200 µl ekstrak diuapkan sampai kering. Residu yang terbentuk selanjutnya dilarutkan di dalam 1 ml aquadest. Absorbansi diukur pada 228 nm. Analisis dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Aktivitas penghambatan diukur sebagai % penghambatan dengan rumus:

$$\% \text{ penghambatan} = (B-A)/(B-C) \times 100\%$$

Keterangan:

A = absorbansi dengan adanya enzim dan senyawa inhibitor enzim pengubah angiotensin

B = absorbansi enzim tanpa adanya senyawa inhibitor

C = absorbansi tanpa adanya enzim dan inhibitor enzim

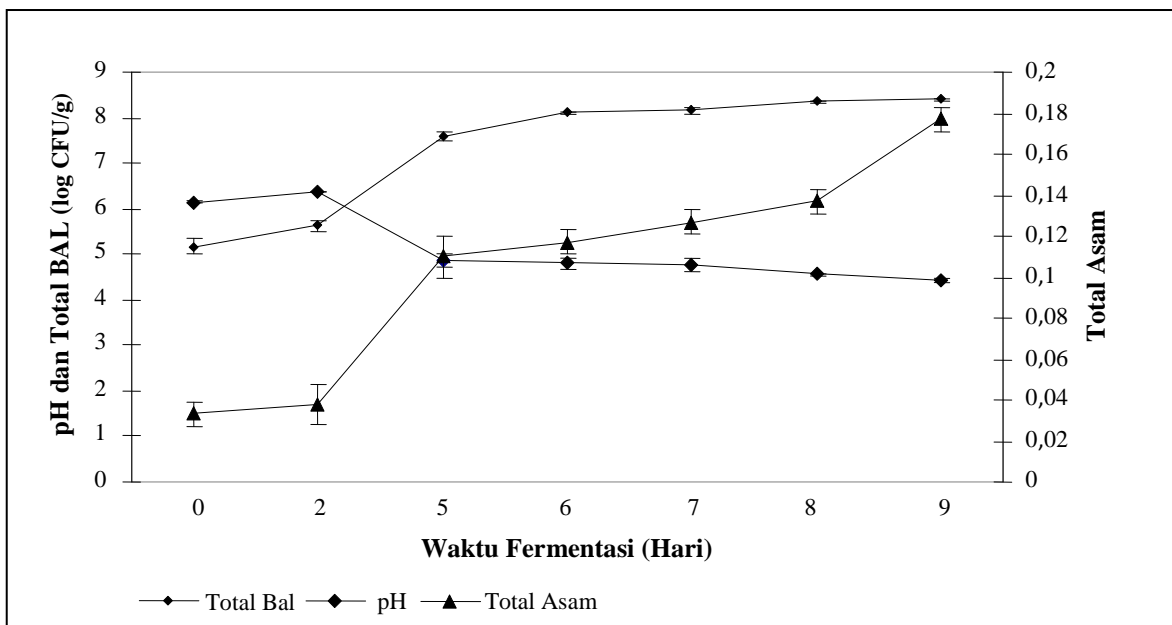
Analisis Data

Data dianalisis dengan analisis varian satu arah dengan SPSS versi 13. Perbedaan secara signifikan ditetapkan pada taraf $p < 0,05$.

Hasil dan Pembahasan

Perubahan Bakteri Asam Laktat, pH dan Total Asam

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan jumlah populasi bakteri asam laktat selama proses fermentasi yang diikuti dengan penurunan nilai pH dan peningkatan asam tertitrasi. Hubungan antara pH, asam tertitrasi dan pertumbuhan populasi bakteri asam laktat bekasam ditunjukkan Gambar 1.



Gambar 1. Hubungan antara total BAL, pH dan total asam.

Total bakteri asam laktat menunjukkan peningkatan yang berbeda nyata dari awal proses fermentasi sebesar $5,16 \pm 0,17$ log CFU/g meningkat menjadi $8,11 \pm 0,03$ log CFU/g pada hari ke 6 dan tidak menunjukkan kenaikan yang berbeda secara nyata sampai akhir proses fermentasi. Hasil ini didukung oleh beberapa penelitian. Total bakteri asam laktat pada beberapa produk bekasam mencapai 4,80–6,15 log CFU/g (Ijong dan Ohta, 1995). Pada *pla-som* (produk fermentasi ikan dari Thai) bakteri asam laktat adalah bakteri yang tumbuh dominan dan dapat mencapai 10^8 – 10^9 CFU/g (Christine *et al.*, 2002).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa hari fermentasi berpengaruh terhadap pH produk. Nilai pH awal ikan bandeng adalah $6,15 \pm 0,04$ dan mencapai pH akhir $4,41 \pm 0,05$ setelah 9 hari proses fermentasi. Hasil penelitian ini didukung oleh hasil penelitian pada beberapa bekasam dan produk serupa bekasam yang rata-rata menunjukkan nilai pH sekitar 4. Bekasam nila dan tuna mempunyai nilai pH masing-masing menurun dari 6,32 menjadi 5,25 dan 6,12 menjadi 4,24 (Wikandari *et al.*, 2009a,b). Bekasam ikan mujair menurun dari 6,54 menjadi 4,52 (Chamidah *et al.*, 2000). Nilai pH dari ikan *sardina philchardus* yang diinokulasi dengan *L.delbruekii* subs *delbruekii* menurun dari 6,08–4,30 (Ndaw *et al.*, 2008). Pada *pla-som* (produk ikan fermentasi dari Thai), pH menurun dari 6,5 menjadi 4,3 (Christine *et al.*, 2002).

Total asam menunjukkan beda yang nyata antara awal dan akhir fermentasi. Pada akhir proses fermentasi total asam mencapai $0,18 \pm 0,06\%$. Pada *momoni*, produk fermentasi ikan dari Ghana menunjukkan adanya peningkatan asam tertitrisasi dari 0,14%–0,46% selama 72 jam fermentasi (Sanni *et al.*, 2002).

Penurunan pH dan peningkatan total asam pada bekasam diduga diawali dengan proses sakarifikasi pada nasi menjadi glukosa dan selanjutnya glukosa akan dimetabolisme terutama oleh bakteri asam laktat menjadi asam laktat dan asam-asam organik lainnya. Proses sakarifikasi diduga hasil degradasi amilolitik oleh jamur, khamir, bakteri asam laktat yang tumbuh selama proses fermentasi bekasam.

Beberapa jenis khamir dan jamur diketahui mempunyai aktivitas amilolitik (Nurhartadi, 2005; Santana, 2007; Tapai *et al.*, 2010). Beberapa jenis bakteri asam laktat seperti *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. fermentum* juga diketahui mempunyai aktivitas amilolitik (Etoa *et al.*, 2005; Sanni *et al.*, 2002; Tanapasuwat, 2009). Pada proses sakarifikasi pati akan dihidrolisis oleh α -amilase menghasilkan campuran maltosa dan glukosa, selanjutnya enzim maltase akan bekerja memecah maltosa menjadi glukosa. Glukosa yang terbentuk dari hasil proses sakarifikasi akan diubah oleh bakteri asam laktat menjadi asam laktat dan asam-asam organik lainnya yang akan menurunkan nilai pH dan meningkatkan jumlah total asam.

Perubahan Jumlah Protein Terlarut dan Aktivitas ACE Inhibitor

Adanya peningkatan populasi bakteri asam laktat, penurunan nilai pH dan peningkatan total asam menunjukkan bahwa proses fermentasi berjalan dengan baik. Diduga beberapa strain bakteri asam laktat yang tumbuh selama proses fermentasi bekasam bandeng merupakan bakteri asam laktat proteolitik yang akan mendegradasi protein ikan menjadi peptida dan asam-asam amino yang juga berkontribusi dalam menghasilkan cita rasa bekasam. Diantara peptida yang terbentuk diduga terdapat peptida bioaktif yang mempunyai aktivitas sebagai ACE inhibitor.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat peningkatan protein terlarut yang di dalamnya diduga terkandung peptida bioaktif yang mempunyai aktivitas sebagai ACE inhibitor. Adanya aktivitas proteolitik akan menyebabkan terjadinya degradasi protein menjadi protein dengan berat molekul lebih kecil atau peptida yang bersifat larut dalam air. Hidrolisis protein otot akan dicerna menjadi protein larut air dan peptida, yang akan didegradasi lebih lanjut menjadi asam-asam amino (Quaglia dan Orban, 1987). Ada pengaruh nyata, kadar protein terlarut pada awal proses fermentasi sebesar $0,46 \pm 0,04$ mg/ml, dan meningkat menjadi $0,74 \pm 0,01$ mg/ml (Tabel 1).

Adanya kenaikan jumlah protein terlarut selama proses fermentasi bekasam dalam

penelitian ini diduga sejalan dengan aktivitas proteolitik selama proses fermentasi. Aktivitas proteolitik dapat terjadi karena proses enzimatik dari enzim endogenous, ataupun berasal dari aktivitas proteolitik bakteri asam laktat indigenous yang tumbuh selama proses fermentasi bekasam. Aktivitas proteolitik bakteri asam laktat disebabkan karena bakteri asam laktat tidak mampu mensintesis asam-asam amino yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya sehingga harus mendapatkan dari medium pertumbuhannya.

Beberapa strain bakteri asam laktat diketahui mempunyai aktivitas proteolitik. *L. plantarum*, *L. pentosus*, *L. sakei*, *L. farciminis*, *Staphylococcus xylosus*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* adalah bakteri asam laktat yang telah diketahui mempunyai aktivitas proteolitik yang mampu mendegradasi protein ikan (Maurilo et al., 2002, Akta et al., 2004; Basso et al., 2004; Yin et al., 2004; Sriphochanart dan Wanwisa, 2005; Rai et al., 2008; Adriana et al., 2008).

Aktivitas penghambatan terhadap enzim pengubah angiotensin terjadi pada hari ke 5 dan ke 6 dengan persentase penghambatan 35,67% hingga 51,77%. Aktivitas penghambatan terhadap enzim pengubah angiotensin juga ditunjukkan oleh bekasam dengan bahan dasar ikan tuna (*Tunnus sp*) dan ikan nila (*Oreochromis niloticus* L). Aktivitas penghambatan terjadi pada hari ke 5 sampai hari ke 7 proses fermentasi dan sudah tidak menunjukkan efek penghambatan pada hari fermentasi selanjutnya (Wikandari et al., 2009a,b). Perbedaan aktivitas penghambatan ini diduga dapat disebabkan oleh keragaman bakteri asam laktat yang tumbuh terutama jenis bakteri asam laktat proteolitik yang berperan dalam menghasilkan peptida ACE inhibitor. Perbedaan lingkungan hidup pada tuna (laut), nila (tawar), dan bandeng (payau) akan sangat memengaruhi keragaman mikrob indigenous ikan. Beberapa bakteri asam *Lactobacillus*

helveticus diketahui mempunyai kemampuan tinggi dalam menghasilkan peptide bioaktif inhibitor enzim pengubah angiotensin (Fuglsang et al., 2003, Yamamoto et al., 1994, Nakamura et al., 1995). *Streptococcus bovis* yang diinokulasikan pada “dahi” diketahui mempunyai aktivitas penghambatan tertinggi terhadap aktivitas enzim pengubah angiotensin dibandingkan bakteri asam laktat lainnya seperti *L. fermentum*, *L. delbrueckii*, *Enterococcus faecalis*, *Leconostoc* yang mempunyai kemampuan penghambatan yang lebih kecil (Harun-ur-Rasyid et al., 2007).

Pada produk bekasam efek penghambatan terjadi pada hari ke 5 dan ke 6 proses fermentasi, dan tidak menunjukkan efek penghambatan pada hari fermentasi selanjutnya. Kemungkinan pada bekasam hilangnya efek penghambatan selama proses fermentasi terjadi karena adanya degradasi lebih lanjut dari peptide antihipertensi dengan berat molekul yang lebih besar menjadi peptida-peptida yang lebih pendek dan tidak mempunyai aktivitas ACE inhibitor. Pada susu yang difermentasi *Enterococcus faecalis*, setelah 24 jam fermentasi, aktivitas proteolisis lambat. Kenaikan aktivitas penghambatan enzim pengubah angiotensin sampai 6 jam fermentasi relatif kecil, aktivitas penghambatan tertinggi dicapai setelah 24 jam fermentasi, dan penambahan waktu fermentasi hingga 48 jam menunjukkan penurunan aktivitas penghambatan terhadap enzim pengubah angiotensin (Quirus et al., 2007).

Peningkatan aktivitas ACE inhibitor pada bekasam bandeng diketahui berkorelasi dengan peningkatan jumlah protein terlarut. Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa pada fermentasi susu, selama 5 jam fermentasi terjadi kenaikan jumlah protein terlarut dari 2.1 menjadi 32,8 mg/gr, dan penghambatan terhadap enzim pengubah angiotensin meningkat dengan menurunnya IC₅₀ dari 0,708 menjadi 0,266 mg/ml (Tsai et al., 2008).

Tabel 1. Perubahan jumlah protein terlarut pada proses fermentasi bekasam selama 9 hari pada suhu kamar.

Waktu (hari)	Protein Terlarut (mg/ml)	ACEI (%)
0	0,46±0,04 ^a	0,00±0,00 ^a
2	0,46±0,03 ^a	0,00±0,00 ^a
5	0,61±0,06 ^b	35,67± 6,78 ^b
6	0,62±0,04 ^b	51,77±8,80 ^c
7	0,74±0,01 ^c	0,00 ± 0,00 ^a
8	0,81±0,01 ^c	0,00±0,00 ^a
9	0,81±0,004 ^c	0,00±0,00 ^a

Nilai pada tabel adalah nilai rata-rata dari 3 ulangan. Nilai dengan abjad yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata.

Simpulan dan Saran

Simpulan

Pada proses fermentasi bekasam ikan bandeng terjadi peningkatan jumlah populasi bakteri asam laktat, penurunan pH, dan peningkatan total asam. Pada fermentasi bekasam bandeng terjadi peningkatan protein terlarut dan mampu menghasilkan peptida ACE inhibitor. Aktivitas penghambatan ACE mencapai 51,77%.

Saran

Dari hasil penelitian ini, tindak lanjut yang perlu dilakukan adalah mendapatkan strain bakteri asam laktat indigenous bekasam yang mampu menghasilkan peptide ACE inhibitor. Selanjutnya, perlu dilakukan pengujian secara *in vivo* untuk mengetahui aktivitas dalam menurunkan tekanan darah dari bekasam baik dari ekstrak bekasam maupun peptide ACE inhibitor yang dihasilkan oleh aktivitas bakteri asam laktat proteolitik, mengingat untuk menjalankan fungsinya dalam menurunkan tekanan darah maka peptide yang terbentuk dalam produk fermentasi harus stabil terhadap degradasi enzim pencernaan.

Daftar Pustaka

Adriana, L.B., Perez-Mugueta, S. dan Farres, A. 2008. Novel Extracellular Proteolytic in *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042. *Canadian J. of Microbiology*, 54 (8): 694–699.

Akta, N., Aksu, M.I. dan Kaya, M. 2004. Changes in Myofibrillar Protein During Processing of *Pastrima* (Turkey Dry Meat Product) Produced With Commercial Starter. *Food Chemistry*, 90 (4): 649–654.

AOAC International. 2000. Official Methods of Analysis of AOAC International, Gaithersburg, USA.

Basso, A.L., Picariello, G., Coppola, R., Tremonte, P., Musso, S.S. dan Luccia, A.D. 2004. Proteolytic Activity of *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus farciminis* and *Lactobacillus plantarum* on Sarcoplasmic Protein of Pork Lean. *J. of Food Biochemistry*, 28: 195–212.

Chamidah, A., Yahya dan Kartikaningsih, H. 2000. Pengembangan Makanan Fermentasi Tradisional "Bekasam Ikan Mujair (*Tilapia* spp)" Tinjauan Aspek Mikrobiologi dan Kimia. *J. Ilmu-Ilmu Teknik*, 12 (2): 186–193.

Christine, P-M., Mette, M., Pairat, S., Lone, G. dan Peter, L.M. 2002. Fermentation and Microflora of *plaa-som*, a Thai Fermented Food Product Prepared With Different Salt Concentration. *International J. of Food Microbiology*, 73 (1): 61–70.

Cushman D.W. dan Cheung H.S. 1971 Spectrophotometric Assay and Properties of The Angiotensin-Converting Enzyme of Rabbit Lung. *Biochem. Pharmacology*, 20: 1637–1648.

Ndaw, A.D., Faid, M., Bouseta, A. dan Zinedine, A. 2008. Effect of Controlled Lactic Acid Bacteria on The Microbiological and Chemical Quality of Moroccan Sardines (*Sardina pilchardus*). *International J. of Agriculture Biology*, 10: 21–27.

Etoa, F.X., Djoulde, R.D. dan Ngang, J.J.E. 2005. Growth and Alfa-amylase Production by Strain of *Lactobacillus plantarum* and *Rhizopus orizae* Culture in Cassava Starch of Medium. Cameroon. *J. of Experimental Biology*, 01 (2): 107–115.

FitzGerald, R.J., Murrari, B.A. dan Walls, D.J. 2004. Hypotensive Peptides from Milk Protein. *J. of Nutrition*, 134 (4): 980–19.

- Fuglsang, A., Rattray, F.P., Nilsson, D. dan Nyborg, N.C.B. 2003. Lactic Acid Bacteria: Inhibition of Angiotensin Converting Enzyme In Vitro and In Vivo. *Antonie van Leeuwenhoek*, 83: 27–34.
- Gobetti, M., Ferranti, P., Smacchi, E., Goffredi, F. dan Addeo, F. 2000. Production of Angiotensin-I-Converting-Enzyme-Inhibitory Peptides in Fermented Milk Started by *Lactobacillus delbrueckii* subs.*bulgaricus* SS1 and *Lactococcus lactis* subsp.*cremoris* FT4. *Appl. and Enviro. Microbiol.*, 3898–3904.
- Harun-ur-Rashid, Togo, K., Ueda, M. dan Miyamoto, T. 2007. Probiotic Characteristic of Lactic Acid Bacteria Isolated from Traditional Fermented milk "Dahi" in Bangladesh. *Pakistan J. of Nutrition*, 6 (6): 647–652.
- Ijong, F.G. dan Ohta, Y. 1995. Microflora and Chemical Assesment of an Indonesian Traditional Fermented Fish Sauce "Bekasang". *J. Fac. Appl. Biol. Sci.*, 34: 95–100.
- Itou, K., dan Akahane, Y. 2004. Antihypertensive Effect of *Heshiko*, a Fermented Mackarel Product, on Spontaneously Hypertensive Rat. *Fisheries Science*, (70) 1121. *Design*, 9: 1309–1323.
- Lee, H.C. 2003. Creative Fermentation Technology for The Future. <http://seafooduedavis.edu/iufost/lee.htm>.
- Maeno, M., Yamamoto, N. dan Takeno, T. 1996. Identification of an Antihypertensive Peptides from Casein Hydrolyzate Proceeded by a Proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. *J. Dairy Science*, 79: 1316–1321.
- Mauriello, G., Casaburi, A., Villani, F. 2002. Proteolytic Activity of *Staphylococcus xylosus* Strain on Pork Myofibrillar and Sarcoplasmic Protein and Use of The Selected Strain in The Production of "Naple -Type" Salami. *J. Applied Microbiology*, 93 (3): 482–490.
- Meisel, H. 2005. Biochemical Properties of Peptides Encrypted in Bovine Milk Protein. *Current Medicinal Chemistry*, 12: 1905–1919.
- Minervini, F., Algaron, F., Rizzello, C.G., Fox, P.F., Monnet, V. dan Gobetti, M. 2003. Angiotensin I-Converting-Enzyme-Inhibitory and Antibacterial of Milk from Six Species. *Appl. Enviro. Microbiol.*, 69 (9): 5297–5305.
- Muguerza, B., Ramos, M., Sanches, E., Manso, M.A., Miguel, M., Alexandre, A., Delgado, M.A. dan Recio, I. 2006. Antihypertensive activity of milk fermented by *Enterococcus faecalis* strains isolated from raw milk. *International Dairy J.*, 16: 64–69.
- Nakamura, Y., Yamamoto, N., Sakai, K. dan Takano, T. 1995. Antihypertensive effect of Sour Milk and Peptide Isolated from It that are Inhibit Angiotensin –I-Converting –Enzyme. *J. Dairy Science*, 78: 1253–1257.
- Ndaw, A.D., Faid, M., Bouseta dan Zinedine. 2008. Effect of Controlled Lactic Acid Bacteria Fermentation on Microbiological and Chemical Quality of Morocan Sardines (*Sardina pilchardus*). *International J. Agriculture Biology*, 10: 21–27.
- Nurhartadi, E. 2005. Isolasi dan Karakterisasi Khamir Amilolitik Dari Ragi Tape. *Thesis*. Jurusan Ilmu Pangan. Universitas Gadjah Mada.
- Oeno, K., Mizano, S. dan Yamamoto, N. 2004. Purification and Characterization of an Endopeptidase That Has An Important Role in Carboxyl Terminal Processing of Antihypertensive Peptide in *L.helveticus* CN 4. *Letters in Appl. Microbiol.*, 39: 513
- Quirus A., Ramos, M., Muguerza, B., Delgado, M.A., Miguel, M., Alexandre, A. dan Recio, I. 2007. Identification of Novel Antyhypertensive Peptides in Milk Fermented with *Enterococcus faecalis*. *International Dairy J.*, 17 (1) : 33–41.
- Rai, K.P., Shresta, A.K. dan Xia, W. 2008. Proteolytic Effect of Culture Starter Culture on Dry Fermented Chinese-Style Sausage. *J. of Food Science and Technology Nepal.*, 4: 64–69.
- Robert, D., William, H. dan Melody, G. 1995. *Practical Food Microbiology*. Second edition. Public Health Service, London.
- Sanches, P.C. 2008. *Philiphine Fermnted Food:Principle and Technology*. The University of The Philipine Press, Qoezon City 1101, Philiphine.
- Sanni, A.I., Asiedu, M. dan Ayernor, G.S. 2002. Microflora and Chemical Composition of Momoni, a Ghanaian Fermented Fish Condiment. *Food Composition and Analysis*, 15 (5): 577–583.
- Sanni, A., Morlon- Guyot, J. dan Guyot, P. 2002. New Efficient Amylase-Producing Strains of *L. plantarum* and *L. fermentum* Isolated from Different Nigerian Traditional Fermented Foods. *International J. Food Microbiology*, 72: 53–62.
- Santana, N.B. 2007. Efficiency of Cassava Starch Hydrolysis by Different Sources of Enzymes and Alcoholic-Fermentation Yield for Ethanol Production. *Thesis*. Universidade Federal de Vicosa. Brazil.

Potensi Bekasam Bandeng sebagai Sumber ACE Inhibitor

- Seppo, L., Jauhinen, T., Poussa, T. dan Korpela, R. 2003. A Fermented Milk High in Bioactive Peptides has Blood Pressure-Lowering Effect in Hypertensive Subjects. *American J. of Clinical Nutrition*, 77 (2): 326–330.
- Songisepp, E., Marika, M., Merle, R., Mihkel, Z., Pirje, H., Meene, U., Kersti, Z., Janne, U. dan Silsi, K. 2009. Isolated Microorganism strain *L.plantarum* Tensia DSM 21380 as Antimicrobial and Antihypertensive Probiotic, Food Product and Composition Comprising Said Microorganism and Use of Said Microorganism for Preparation of Antihypertensive Medicine and Methode for Suppressing Patogen and Non Starter *Lactobacilli* in Food Product. *Bolivent Patent-WO2009138091*.
- Sripochanart, W. dan Wanwisa, S. 2010. Characterization of Proteolytic Effect of Lactic Acid Bacteria Starter Cultures on Thai Fermented Sausages. *Food Biotechnology*, 24 (4): 293–311.
- Tanapasuwat, S. 2009. Thai Lactic Acid Bacteria: Diversity and Application. *SWU Science J.*, 25 (1): 1–14.
- Tapai, M., Campeanu, G.H., Jurcoane, S. dan Balan, D. 2010. Influence of The Culture Medium on the Biosynthesis of The Amilolytic Enzymes Obtained from *Aspergillus* Strain. *Romanian Biotechnological Letter*. 15 (3): 5260–5266.
- Wikandari, P.R., Suparmo, Marsono, Y., Rahayu, E.S. 2009a. Tinjauan Aspek Kimia, Mikrobiologi dan Sifat Antihipertensi Bekasam Nila (*Oreochromis niloticus* L). Makalah Seminar ISLAB, UGM-Yogyakarta.
- Wikandari, P.R., Suparmo, Marsono, Y., Rahayu, E.S. 2009b. Characteristics of Microbiological, Chemical and Antihypertensive Activity of *Tummus* sp *Bekasam*. Paper on Asian Conference on Lactic Acid Bacteria. National University of Singapore, Singapore.
- Yamamoto, Akino dan Takano. 1994. Antihypertensive Effect of The Peptides Derived From Casein by Extracellular Proteinase of *L.helveticus* CP 790. *J. of Dairy Science*, 77: 917–922.
- Yin, L.J., Pan, C.L. dan Jiang, S.T. 2004. Effect of Lactic Acid Bacterial Fermentation on the Characteristics of Minced Mackerel. *J. Food Science*, 67 (2): 786–92.