

Ketersediaan Hayati Isoflavon dalam Plasma dan Pengaruhnya Terhadap Nilai Biokimia Darah pada Tikus Hiperglikemia

(BIOAVAILABILITY OF ISOFLAVONE PLASMA AND THEIR EFFECT OF THE VALUE OF BLOOD BIOCHEMISTRY IN HYPERGLYCEMIC RAT)

I Nyoman Suarsana¹⁾, Srikayati Widyastuti²⁾, Bambang Pontjo Priosoeryanto³⁾

¹⁾Laboratorium Biokimia, ²⁾Laboratorium Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Jalan Sudirman, Denpasar, Bali,

³⁾Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi FKH IPB, Bogor.

ABSTRAK

Senyawa isoflavon telah diketahui mempunyai efek biologis dalam meningkatkan kesehatan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ketersediaan hayati isoflavon di dalam plasma dan pengaruhnya terhadap nilai biokimia darah pada tikus hiperglikemia. Penelitian ketersediaan hayati isoflavon plasma menggunakan 18 ekor tikus jantan galur *Sprague dawley* umur 3 bulan dengan berat badan rerata 200 g dan diberi isoflavon murni dosis tunggal 300 ppm/ekor/oral. Analisis isoflavon plasma dilakukan pada jam ke: 0, 1, 6, 12, 18 dan 24 menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). Penelitian pengaruh isoflavon tempe terhadap nilai biokimia darah menggunakan 25 ekor tikus. Tikus percobaan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif (K1) yang diberi aquades, kelompok kedua sebagai kontrol positif hiperglikemia (K2) yang hanya diberi glukosa, sedangkan kelompok perlakuan (K3, K4, dan K5) adalah kelompok yang mengalami hiperglikemia dan diberi isoflavon tempe dosis berbeda, yaitu 1,0; 1,5 dan 2,0 mg/200g bb/hari per oral. Analisis kadar glukosa menggunakan metode biosensor glukose oksidase dengan menggunakan alat *Blood glucose Test Meter GlucoDr™*, sedangkan kolesterol, HDL (*high density lipoprotein*) dan trigliserida dianalisis secara enzimatik menggunakan spektrofotometer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isoflavon genistein lebih banyak diabsorpsi dibanding dengan daidzein dan glisitein. Konsentrasi tertinggi isoflavon di dalam plasma ditemukan pada jam ke-6 setelah pemberian secara oral, yaitu genistein sebesar 11,17 ppm, daidzein 2,86 ppm dan glisitein 2,47 ppm. Pemberian isoflavon tempe dosis 2 mg/200g bb/hari dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus dalam keadaan hiperglikemia, dan mempunyai efek hipokolesterolemia.

Kata-kata kunci: isoflavon, hiperglikemia, biokimia darah

ABSTRACT

Isoflavone compounds have been known to have biological effects in improving health. The purpose of this study was to determine the bioavailability of isoflavone in plasma and its role as lowering blood glucose levels in hyperglycemia rats. Bioavailability of isoflavones in plasma was performed in 18 rats strains *Sprague Dawley* age 3 months with 200 g of body weight on average and were given 300 ppm oral of isoflavone single dose. The analysis of isoflavon as done at 0, 1, 6, 12, 18 and 24 hours using HPLC method. Study effect on blood biochemical values used 25 male rats, which was divided into 5 treatment groups. One group as a negative control (K1) was given aquades; positive group hyperglycemia (K2), and 3 other groups (K3, K4 and K5) were a positive groups of hyperglycemia and given isoflavone different doses, i.e. 1.0, 1.5 and 2.0 mg/200g bw per oral. Blood glucose were analyzed by using glucose oxidase biosensor, while cholesterol, HDL (*High-density lipoprotein*) and triglycerides were analyzed enzymatically using a spectrophotometer. The results showed the analyzes isoflavone genistein was more efficiently absorbed than daidzein and glisitein. Isoflavone as found at highest concentration in plasma at 6 hours after oral administration i.e: genistein of 11,17 ppm, daidzein of 2,86 ppm and glisitein of 2,47 ppm. The administration isoflavones at dose 2 mg/200g bw could decrease blood glucose levels in hyperglycemia rats, and also has hypocholesterolemia effect.

Key words: isoflavone, hyperglycemia, blood of biochemistry.

PENDAHULUAN

Tempe telah lama digunakan sebagai bagian dari diet, selain karena kandungan zat gizi juga mengandung senyawa isoflavon yang mempunyai aktivitas biologis terhadap peningkatan kesehatan. Kedelai sebagai sumber senyawa bioaktif, dan produk fermentasinya diketahui mengandung 3 senyawa isoflavon, yaitu daidzein, genistein dan glisitein baik dalam bentuk bebas (aglikon) maupun dalam bentuk terikat (glukosida) (Nakajima *et al.*, 2005).

Analisis ketersediaan hayati (*bioavailability*) dari suatu bahan bioaktif merupakan cara untuk mengetahui nilai biologis serta fungsi fisiologisnya di dalam tubuh serta untuk mengevaluasi metabolisemnya di dalam tubuh sehingga dapat digunakan oleh manusia atau hewan untuk kepentingan kesehatan. Ketersediaan hayati adalah sejumlah komponen suatu zat di dalam darah atau organ yang dapat diukur setelah penyerapan pada suatu jaringan (Langseth, 2000).

Struktur isoflavon sangat menentukan aktivitas biologis, ketersediaan hayati, dan efek fisiologis di dalam tubuh. Menurut Cassidy *et al.* (2005) dan Kano *et al.* (2006), isoflavon bentuk glukosida di dalam usus akan dihidrolisis oleh enzim α -glukosidase sehingga terbentuk aglikon (daidzein, genistein dan glisitein). Akibat proses ini maka jumlah isoflavon aglikon akan bertambah sehingga ketersediaan dalam tubuh mencukupi dan lebih mudah diserap bila dibandingkan dalam bentuk glukosida.

Konsumsi protein kedelai telah terbukti secara signifikan mengurangi konsentrasi total kolesterol, LDL (*Low density lipoprotein*) dan trigliserida dalam serum (Scheiber *et al.* (2001). Komponen bioaktif yang terkandung pada protein kedelai yang memiliki efek menurunkan lipid darah adalah, isoflavon (Jenkins *et al.*, 2002), dan conglycinin (7S fraksi protein globulin) (Adams *et al.*, 2004)

Hiperglikemia adalah suatu keadaan kadar glukosa darah sangat tinggi melebihi kadar normal. Keadaan hiperglikemia umumnya merupakan gejala penyakit diabetes. Diabetes adalah kelompok penyakit metabolik kompleks yang ditandai oleh suatu keadaan hiperglikemia yaitu meningkatnya kadar glukosa darah melebihi kadar normal (Auroma *et al.* 2006).

Hiperglikemia selain sebagai faktor predisposisi diabetes juga dapat mempengaruhi nilai biokimia darah lainnya, seperti kadar kolesterol dan lipoprotein darah. Beberapa

peneliti membuktikan bahwa efek hiperglikemia terhadap profil kolesterol dan lipoprotein dapat dijelaskan secara sistematis. Penelitian El-Soud *et al.*, (2007), menunjukkan bahwa tikus hiperglikemia dapat mempengaruhi kadar total kolesterol, trigliserida, dan lipoprotein

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian larutan glukosa 50% secara *ad libitum* dapat meningkatkan kadar glukosa darah hewan percobaan. Pada minggu pertama sampai dengan minggu ketiga tikus mengalami hiperglikemia yang bersifat fisiologis, kemudian mulai minggu keempat setelah pemberian glukosa, tikus mengalami hiperglikemia bersifat patologis dengan rata-rata kadar glukosa darah 151 mg/dl (Srikayati *et al.*, 2009)

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ketersediaan hayati (*bioavailability*) isoflavon di dalam plasma dan kemampuannya dalam memperbaiki nilai biokimia darah (glukosa darah, kolesterol, trigliserida dan HDL) pada tikus dalam kondisi hiperglikemia.

METODE PENELITIAN

Absorpsi Isoflavon pada Plasma Tikus

Absorpsi isoflavon pada plasma tikus dilakukan menggunakan metode Anupongsanugool *et al.*, (2005). Sebanyak 18 ekor tikus masing-masing diberi isoflavon murni (mengandung daidzein, glisitein, dan genistein) dosis tunggal 300 ppm per ekor. Kadar isoflavon dianalisis pada jam ke: 0, 1, 6, 12, 18 dan 24. Pada setiap kelompok, sebanyak 3 ekor tikus diambil darahnya dari jantung yang sebelumnya dianestesi dengan obat bius ketamin-HCl. Darah diambil sekitar 0,5 cc dimasukkan ke dalam tabung yang telah berisi EDTA (*ethylene diamine tetraacetic acid*). Darah yang telah diambil selanjutnya di sentrifugasi 5.000 rpm, 15 menit pada suhu 4°C, kemudian plasma diambil dan dimasukkan ke dalam tabung ependorf. Sebanyak 125 μ l plasma dimasukkan ke dalam vial plastik kemudian ditambahkan 0,25 μ L β -glucuronidase, 0,75 μ l ammonium asetat bufer 0,2 M dan dipanaskan dalam penangas air pada suhu 37°C selama 15-18 jam. Setelah hidrolisis sempurna, sampel disentrifugasi kecepatan 10.000 rpm selama 5 menit. Sebanyak 20 μ l supernatan diinjeksikan ke alat kromatografi cair kinerja tinggi (HPLC). Standar isoflavon yang digunakan terdiri atas daidzein[®], glisitein[®], dan genistein[®].

Hewan Percobaan dan Pengambilan Sampel

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus jantan galur *Sprague dawley* umur 3 bulan dengan berat badan rata-rata 200 g. Sebanyak 25 ekor tikus percobaan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, tiap perlakuan terdiri dari 5 ekor. Satu kelompok sebagai kontrol negatif (K1) diberi aquades; kelompok positif hiperglikemia (K2); dan 3 kelompok lainnya (K3, K4 dan K5) adalah kelompok positif hiperglikemia dan diberi isoflavon tempe dosis yang berbeda-beda, yaitu 1,0; 1,5 dan 2,0 mg/200g bb per oral. Untuk membuat tikus dalam kondisi hiperglikemia, tikus diberi larutan glukosa murni 50% diberikan *adlibitum* setiap hari mulai jam 8 pagi, yang diberikan selama 8 minggu. Kadar glukosa, kolesterol, HDL (*high density lipoprotein*) dan trigliserida di analisis pada akhir penelitian. Sebelum pemeriksaan kadar gula darah, semua tikus perlakuan dipuaskan 12 jam (Aybar *et al.*, 2001). Setelah dibius dengan ketamin-HCl, darah diambil melalui jantung dan dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi EDTA. Plasma dipisahkan dengan cara sentrifugasi 5.000 rpm, 15 menit suhu 4°C.

Analisis Biokimia Darah

Analisis kadar glukosa darah

Kadar glukosa darah tikus percobaan dianalisis dengan metode biosensor glukose oksidase, menggunakan alat *Blood glucose Test Meter GlucoDr™* model AGM-2100 (diproduksi oleh allmedicus Co Ltd., Korea). Darah diambil melalui ujung ekor tikus yang sebelumnya

dibersihkan dengan alkohol 70%, diurut perlahan-lahan kemudian ujung ekor ditusuk dengan jarum kecil (Kerato *et al.* 2006). Darah yang keluar kemudian disentuhkan pada strip glukometer. Kadar glukosa darah akan terbaca di layar *GlucoDr™* setelah 11 detik dan kadar glukosa darah dinyatakan dalam mg/dl.

Analisis kadar total kolesterol, HDL, dan trigliserida

Analisis kolesterol total plasma ditentukan dengan kit Fluitest REF 4241 LOT D393, analisis trigliserida plasma ditentukan dengan kit Fluitest TG REF 5748 LOT D716 menggunakan metode GPO-PAP dan analisis HDL-kolesterol plasma ditentukan dengan kit Fluitest HDL-CHOL REF 410 LOT D312 yang merupakan uji kolorimetrik enzimatik menggunakan spektrofotometer dengan 1 546 nm.

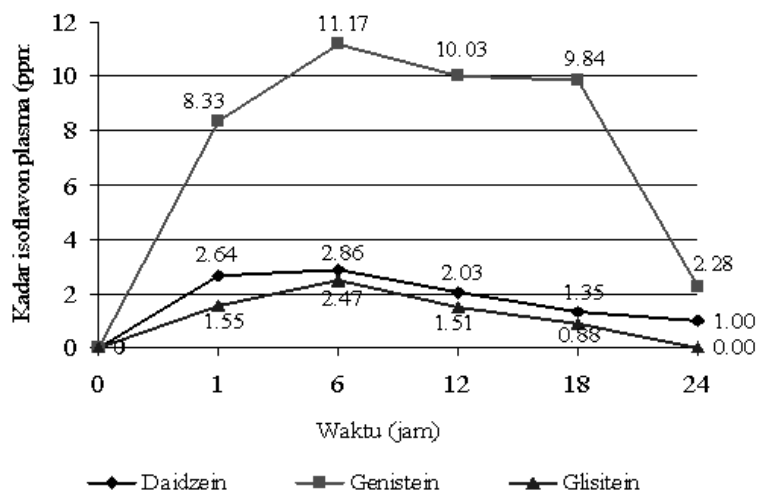
Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Semua data pengamatan dianalisis secara statistik dengan analisis ragam (ANOVA). Jika perlakuan memberikan pengaruh nyata, maka pengujian dilanjutkan dengan analisis beda Duncan pada taraf 5% untuk mengetahui pengaruh antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ketersediaan Hayati Isoflavon Plasma

Analisis isoflavon tempe bertujuan untuk melihat ketersediaan hayati isoflavon di dalam plasma. Pengukuran ketersediaan hayati



Gambar 1. Kadar isoflavon genistein, dadzein dan glisitein dalam plasma tikus selama 24 jam.

(*bioavailabilitas*) suatu bahan pangan merupakan cara untuk mengetahui nilai biologis dan evaluasi nilai gizi serta untuk menunjukkan daya cernanya sehingga dapat dimanfaatkan oleh organisme yang mengkonsumsinya.

Analisis ketersediaan hayati isoflavon di dalam plasma seperti disajikan pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan bahwa 1 jam setelah diberikan ke tikus percobaan, isoflavon genistein sudah ditemukan di dalam plasma dan kadar tertinggi dicapai pada jam ke-6. Setelah jam ke-6, kadar isoflavon dalam plasma kemudian menurun dan masih ditemukan sampai pada jam ke-24 namun kadarnya sangat kecil. Jika dilihat dari jumlah isoflavon yang diberikan ke tikus percobaan sebesar 300 ppm, maka jumlah isoflavon (daidzein=2,86, genestein=2,47, dan glisitein=11,17 ppm) yang terabsorpsi pada jam ke-6 adalah sebesar 16,5 ppm atau sekitar 1,65%. Di antara ketiga jenis isoflavon (daidzein, genistein dan glisitein), genistein diserap lebih baik bila dibandingkan dengan yang lainnya dan penyerapan oleh usus diduga ada hubungannya dengan struktur masing-masing isoflavon.

Menurut hasil penelitian Toru *et al.*, (2000), menyatakan bahwa isoflavon bentuk aglikon diabsorpsi lebih baik bila dibandingkan dengan isoflavon bentuk glukosida. Diantara bentuk Isoflavon aglikon, genistein diserap lebih efisien dan konsentrasinya di dalam plasma jauh lebih tinggi bila dibandingkan dengan daidzein. Demikian juga menurut Anupongsanugool, *at al.* (2005), melaporkan kadar genistein lebih tinggi dalam plasma bila dibandingkan dengan daidzein dan konsentrasi tertinggi diperoleh setelah 6-8 jam pemberian oral.

Isoflavon di dalam bahan pangan (kedelai dan produk kedelai seperti tempe) terdapat dalam dua bentuk yaitu isoflavon glukosida dan isoflavon aglikon (Nakajima *et al.*, 2005). Setelah dicerna, isoflavon bentuk glukosida dihidrolisis oleh enzim α -glukosidase intestinal yang akan melepaskan bentuk glukosida menjadi bentuk aglikon (daidzein, genestein dan glisitein).

Diperkirakan isoflavon dapat masuk ke dalam sirkulasi darah dalam bentuk telah terglukoronidasi, selanjutnya tersulfatasi dalam hati serta termetilasi dalam hati dan ginjal. Sebagian isoflavon yang tidak diabsorpsi diekskresi melalui feses dan sebagian diekskresi melalui urin (Azuma *et al.*, 2002). Oleh karena itu dalam proses analisis sampel (plasma) perlu dilakukan tahapan dekonjugasi menggunakan enzim α -glukoronidase sehingga di dapatkan kembali bentuk aglikon.

Pada manusia, absorpsi aglikon terjadi disepanjang usus secara difusi pasif masuk ke dalam pembuluh darah. Di dalam plasma, senyawa isoflavon aglikon berkonjugasi menjadi bentuk asam glukoronik, reaksinya dikatalisasi oleh isoenzim UDP-glukoroniltransferase. Asam glukoronik ini kemudian dibawa ke hati (Cassidy *at al.*, 2005; Anupongsanugool *at al.*, 2005). Penelitian pada tikus menunjukkan bahwa glukoronidasi diperkirakan terjadi selama transportasi melintasi dinding usus (Sfakianos *at al.*, 1997).

Nilai Biokimia Darah

Hasil analisis nilai biokimia darah (kadar glukosa, kolesterol, trigliserida dan HDL) disajikan pada Tabel 1.

Kadar glukosa darah yang diamati pada kelompok hiperglikemik (K2) selama 8 minggu

Tabel 1. Pengaruh isoflavon tempe terhadap kadar glukosa darah, kolesterol, trigliserida dan HDL pada tikus hiperglikemia selama 8 minggu percobaan.

Perlakuan	Nilai biokimia darah (mg/dl)				rasio kolesterol : HDL
	Glukosa darah	Kolesterol	Trigliserida	HDL	
K1	96,7 \pm 4,9a	55,4 \pm 3,00a	26,0 \pm 3,31a	39,2 \pm 1,50a	1,43 : 1
K2	168,3 \pm 3,1c	92,1 \pm 6,03c	59,8 \pm 7,47c	32,6 \pm 0,98b	2,80 : 1
K3	165,7 \pm 7,6b	81,4 \pm 6,00b	39,3 \pm 3,15b	31,9 \pm 3,54b	2,55 : 1
K4	145,7 \pm 6,0a	63,4 \pm 5,29a	37,1 \pm 2,60b	32,1 \pm 3,48b	1,98 : 1
K5	121,7 \pm 6,1a	56,7 \pm 6,11a	35,2 \pm 5,64b	35,7 \pm 3,29a	1,59 : 1

K1: kontrol ; K2: hiperglikemia; K3-5 :hiperglikemia dan diberi isoflavon, masing-masing 1, 1,5 dan 2 mg/200g bb. Angka yang diikuti dengan huruf *superscript* yang sama kearah kolom menunjukkan tidak berbeda nyata ($P>0,05$)

perlakuan memperlihatkan tikus dalam keadaan hiperglikemia dengan kadar glukosa mencapai 168,3 mg/dl dan berbeda nyata ($P < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok kontrol (perlakuan K1). Menurut Gulfraz *et al.* (2007) kadar glukosa tikus diatas 127 mg/dl menunjukkan bahwa selama percobaan tikus telah mengalami keadaan hiperglikemia.

Data Tabel 1, menunjukkan bahwa pemberian isoflavon dosis 1,5 dan 2 mg/200g bb (perlakuan K4 dan K5) ternyata mampu menurunkan kadar glukosa darah. Mekanisme ini dimungkinkan karena senyawa bioaktif isoflavon pada dosis 1,5 sampai 2 mg/200g bb dapat memacu peningkatan metabolisme glukosa di dalam tubuh melalui peningkatan pemasukan glukosa ke dalam sel. Pemberian dosis 1 mg/200g bb (perlakuan K3) belum mampu menurunkan kadar glukosa darah secara nyata meskipun terlihat ada penurunan kadar glukos darah tetapi sangat kecil. Penelitian Liu *et al.* (2006) menunjukkan bahwa genistein mampu meningkatkan sekresi basal hormon insulin secara *in vitro* menggunakan kultur jaringan pankreas. Hormon insulin membantu meningkatkan pemasukan glukosa ke dalam sel sehingga kadar glukosa secara perlahan kembali mendekati kadar normal.

Pemberian isoflavon dosis 2 mg/200g bb (perlakuan K5) dapat menurunkan kadar kolesterol dan trigleserida sebaliknya kadar HDL meningkat bila dibanding tikus positif hiperglikemia (K2). Bagaimana mekanisme penurunan kadar kolesterol ini belum dapat dijelaskan secara baik, namun menurut Potter *et al.*, (1998) diduga isoflavon mempunyai efek meningkatkan ekskresi asam empedu dan mengubah kecepatan sintesis asam empedu pada tikus, sehingga mempercepat metabolisme kolesterol.

Peningkatan HDL akan berpengaruh positif terhadap pencegahan terjadinya *plaque* aterosklerosis, karena banyak penelitian yang membuktikan bahwa meningkatnya HDL akan menurunkan morbiditas penyakit jantung koroner. HDL mampu menyerap kolesterol bebas dari dinding pembuluh darah maupun dari jaringan kemudian dibawa ke hati dan diubah menjadi kolesterol ester dengan bantuan LCAT (*lecithin cholesterol acylTransferase*) (Dominiczak, 2005).

Beberapa peneliti melaporkan bahwa pemberian protein tempe mampu memperbaiki kadar lipid dan lipoprotein plasma. Anderson *et*

al. (1995) mengamati efek protein kedelai terhadap profil lipid pada manusia, ternyata LDL menurun 13%, trigliserida 10%, dan HDL meningkat 2%, sedangkan menurut Clarkson (2002), protein kedelai mampu menurunkan kadar LDL plasma sebesar 10% pada subyek berkadar LDL tinggi, sementara kadar HDL hanya sedikit meningkat.

Hal yang menarik pada penelitian ini adalah bahwa pada pemberian isoflavon 2 mg/200g bb (tikus kelompok K5) ternyata mampu menurunkan kadar kolesterol, meningkatkan kadar HDL dan menurunkan kadar LDL mendekati kadar normal seperti pada tikus kelompok kontrol (K1). Keadaan ini sangat baik bagi kesehatan khususnya dalam mencegah terbentuknya *plaque* pada pembuluh darah atau yang lebih dikenal dengan aterosklerosis. Jika dilihat dari nilai perbandingan (rasio) antara kolesterol total dengan HDL yang rendah pada tikus kelompok K5 yaitu 1,59:1 dan nilai rasio ini mendekati nilai rasio kolesterol berbanding HDL pada tikus kelompok kontrol (K1) yaitu sebesar 1,43:1. Meskipun nilai rasio ini rendah dan secara teori tidak menimbulkan aterosklerosis, namun akan lebih baik bila dibuktikan dengan melakukan pengamatan gambaran histopatologis terhadap kemungkinan terbentuknya *plaque* aterosklerosis pada pembuluh darah arteri koronari.

SIMPULAN

Kadar isoflavon genistein, daidzen, serta glisitein dalam plasma berbeda dan genistein lebih tinggi kadarnya dibanding dengan isoflavon lainnya. Kadar isoflavon tertinggi di dalam plasma ditemukan pada jam ke-6 setelah pemberian secara oral. Pemberian isoflavon dosis 2 mg/200g bb dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus dalam keadaan hiperglikemia, mempunyai efek hipokolesterolemia, menurunkan kadar trigliserida, dan meningkatkan kadar HDL.

UCAPAN TERIMAKASIH

Pada kesempatan ini, ucapan terimakasih disampaikan kepada DP2M Dikti atas dana penelitian Hibah Bersaing yang dibiayai dari dana DIPA Universitas Udayana Tahun Anggaran 2009 dengan Surat Perjanjian Kontrak Nomor: 1491B.54/H14/HM/2009, tanggal 16 April 2009

DAFTAR PUSTAKA

- Adams MR, Golden DL, Franke AA, Potter SM, Smith HS, Anthony MS. 2004 Dietary soy beta-conglycinin (7S globulin) inhibits atherosclerosis in mice. *J Nutr.* 134:511–5116
- Anderson JW, Johstone BM, Cook-Newell ME. 1995. Meta-analysis of the effects of soy protein intake. *Am. J Clin Nutr.* 70:464s-474s.
- Auroma OI, Neergheen VS, Bahorun T, Jen LS. 2006. Free radicals, antioxidants and diabetes: embryopathy, retinopathy, neuropathy, nephropathy and cardiovascular complications. *Neuroembryol Aging* 4:117-137.
- Aybar JM, Sanchez Riera N, Grau A, Sanchez SS. 2001. Hypoglycemic effect of water extract of *Sallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J. of Ethnopharmacology.* 74:125-132.
- Anupongsanugool E, Teekachunhatean S, Rojanasthien N, Pongsatha S, Sangdee C. 2005. Pharmacokinetics of isoflavones, daidzein and genistein, after ingestion of soy beverage compared with soy extract capsules in postmenopausal Thai women. *BMC Clinical Pharmacology*, 5:2
- Azuma K, Katsunari I, Hidekazu I, Hisao H, Junji T. 2002. Combination of lipids and emulsifiers enhanced the absorption of orally administered quercetin in rats. *J. Agric Food Chem.* 50:1706-1712.
- Cassidy A. 2005. Factor Affecting the Bioavailability of Soy Isoflavones in Humans after Ingestion of Physiologically Relevant Levels from Different Soy Foods. *Am. Society for nutrition*: 45-51.
- Clarkson TB. 2002. Soy, soy phytoestrogens and cardiovascular disease. *J. Nutr.* 132: 566s-569s
- Dominiczak MH. 2005. Lipids and Lipoproteins. Di dalam *Medical Biochemistry*. Second edition. Editors: John W. Baynes, Marek H. Dominiczak. Elsevier Mosby. Philadelphia, London, New York, Oxford, Sydney, Toronto. Hlm: 225-244.
- El-Soud NHA, Khalil MY, Hussein JS, Oraby FSH, Farrag ARH. 2007. Antidiabetic Effects of Fenugreek Alkaloid Extract in Streptozotocin Induced Hyperglycemic Rats. *J. of App Sci Research*, 3(10): 1073-1083
- Gulfraz M, Qadir G, Noshhen F, Parveen Z. 2007. Antihyperglycemic effects of *Berberis lyceum royle* in alloxan induced diabetic rats. *Diabetologia croatica* 36 (3):49-54.
- Jenkins DJ, Kendall CW, Jackson CJ. 2002. Effects of high- and low isoflavone soy foods on blood lipids, oxidized LDL, homocysteine, and blood pressure in hyperlipidemic men and women. *Am J Clin Nutr.* 76:365-372.
- Kano M., Takayanagi T, Haraga K, Sawada S, Ishikawa, F. 2006. Bioavailability of isoflavone after ingestion of soybean beverages in healthy adults. *J. Nutr* 136:2291-2296.
- Kerato M, Yamaguchi K, Takei S, Kino T, Yazawa K. 2006. Inhibitory effects of *Pasuchaca* (*Geranium dielsianum*) extract on α -glucosidase in mouse. *Biosci Biotechnol Biochem.* 70:1482-1484.
- Langseth L. 2000. *Antioxidant and their effect on health*. Di dalam Schidl MK, Labiza TP, Editor. *Essential of functional foods*. USA. Aspen Publisher Inc, Maryland. Hlm. 303-317.
- Liu D, Zhen W, Yang Z, Carter JD, Si H, Reynolds, KA. 2006. Genistein acutely stimulates insulin secretion in pancreatic-cells through a camp-dependent protein kinase pathway. *Diabetes* 55:1043-1050.
- Nakajima N, Nozki N, Ishihara K. 2005. Analysis Isoflavone Content in Tempeh, a Fermented Soybean and Preparation of a New Isoflavone-Enriched Tempeh. *J. of Biosci. Bioeng.* 100:685-687
- Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JW. 1998. Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr.* 68(suppl):1375S–1379S.
- Sfakianos J, Coward L, Kirk M, Barnes S. 1997. Intestinal uptake and biliary secretion of the isoflavone genistein in the rat. *J. Nutr.* 127:1260-1268.
- Toru I, Akio O, Sachiko O, aichiro T, Makato S, mamoru K, Yoshiro K. 2000. The absorption of soy isoflavone aglycone and glucoside in humans. Di dalam: *Proceedings The Third International Soybean Processing and Utilization Conference*. October, 15 2000, Tsukuba, Ibaraki, Japan. Hlm: 246-247.
- Scheiber MD, Liu JH, Subbiah MT, Rebar RW, Setchell KD. 2001 Dietary inclusion of whole soy foods results in significant reductions in clinical risk factors for osteoporosis and cardiovascular disease in normal postmenopausal women. *Menopause.* 8:384 -392.
- Srikayati W, Suarsana N, Priyosoeryanto BP. 2009. Bioavailabilitas Isoflavon Asal Tempe Untuk Penanganan Penyakit Degeneratif. Laporan Penelitian Hibah Bersaing Tahap I, tahun anggaran 2009. Universitas Udayana. 48 halaman.