

Kandungan Protein dan Isoflavon pada Kedelai dan Kecambah Kedelai

A Study on Protein and Isoflavone Content of the Soy and Soy Germ

Hery Winarsi^{1*}, Agus Purwanto², dan Hidayah Dwiyanti³

¹ Fakultas Biologi Unsoed Purwokerto, Jl Suparno 63, Karangwangkal, Purwokerto 53122

² RSUD Margono Soekarjo Purwokerto, Jl Dr. Gumberg 1, Purwokerto 53146

³ Fakultas Pertanian Unsoed Purwokerto, Jl Suparno 63, Karangwangkal, Purwokerto 53122

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

Abstract

The research was conducted to explore protein and isoflavone content on soy non germed and soy germed. Soybean “slamet” was rinsed, dipped over night, drained, put in a moist room, and water sprinkled once in a while until germed. The husk of soy and soy germ were removed, and then the soy and soy germ were extracted by NaCl physiologic to become slurry. The slurry pH was arranged to 5.0, centrifugated at 10.000 rpm, and the precipitation was dried in 70°C to obtain the soy protein and the soy germ protein flour. The levels of protein and isoflavone flour were determined. The result showed that protein content of soy was 36.5%, while protein of soy germ was 42%. The isoflavone of soy protein was 26.7 ppm, consisting of 11.5 ppm genistein, 10.2 ppm daidzein and 5 ppm glicitein, but the soy germ protein was 39.1 ppm, consisting of 14.6 ppm genistein, 16.9 ppm daidzein and 7.6 ppm glicitein. The conclusion is that germed process could increase protein and isoflavone content. The soy protein isoflavone was dominated by genistein and daidzein, while soy germ protein isoflavone was dominated by daidzein and glicitein.

Key words: Soy protein, soy germ protein, daidzein, glisitein, genistein

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi kandungan protein dan isoflavon pada kedelai dan kecambah kedelai. Kacang kedelai slamet dicuci bersih, direndam semalam, ditiriskan, diletakkan dalam ruangan cukup lembab, dan sesekali disiram air, hingga mulai berkecambah. Kedelai dan Kecambah kedelai dibersihkan kulit arinya, kemudian diekstrak menggunakan NaCl fisiologis hingga terbentuk *slurry*. *Slurry* diatur keasamannya hingga pH 5, kemudian disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm, untuk diambil endapannya, lalu dikeringkan dalam oven suhu 70°C, sehingga diperoleh tepung isolat protein kedelai (IPK) dan tepung isolat protein kecambah kedelai (IPKK). Kedua macam tepung tersebut ditentukan kandungan protein dan isoflavonnya. Hasil menunjukkan bahwa kandungan protein IPK sebesar 36,5%, sedangkan IPKK sebesar 42%. Kandungan isoflavon dalam IPK sebesar 26,7 ppm, tersusun atas 11,5 ppm genistein, 10,2 ppm daidzein, dan 5 ppm glisitein, sedangkan dalam IPKK sebesar 39,1 ppm, tersusun atas 14,6 ppm genistein, 16,9 ppm daidzein, dan 7,6 ppm glisitein. Dapat disimpulkan bahwa proses perkecambahan dapat meningkatkan kandungan protein dan isoflavon. Isoflavon dalam protein kedelai didominasi genistein dan daidzein, sedangkan dalam protein kecambah kedelai didominasi daidzein dan glisitein.

Kata kunci: Protein kedelai, protein kecambah kedelai, daidzein, glisitein, genistein

Diterima: 12 Mei 2009, disetujui: 22 Maret 2010

Pendahuluan

Kedelai merupakan komoditas pangan potensial. Pada umumnya masyarakat memanfaatkan kedelai sebagai sumber gizi terutama proteinnya, karena murah, dan mudah

didapat (Djukri, 2005). Hal ini tidak mengherankan karena kandungan protein kedelai cukup tinggi, dan nilai gizinya mirip dengan protein hewani yang memiliki nilai biologik tinggi (Winarsi, 2007). Selain itu isolat protein kedelai umumnya memiliki nilai asam amino

1.0, sama dengan protein kasein dan putih telur (FDA, 1991; FAO/WHO, 1985).

Selain kandungan protein yang telah dikenal oleh masyarakat luas, kandungan isoflavonnya sangat baik untuk komponen *enrichment* pangan fungsional. Winarsi *et al.*, (2004a) menyatakan bahwa isoflavon kedelai yang dikemas dalam minuman fungsional bersama Zn mampu memperbaiki aktivitas hormon timulin wanita premenopause. Winarsi *et al.*, (2004b) juga melaporkan bahwa sindrom menopause para wanita dapat ditekan bahkan beberapa di antaranya menghilang. Aktivitas enzim antioksidan para wanita premenopause dilaporkan meningkat oleh suplementasi isoflavon kedelai selama 2 bulan, sebaliknya kadar MDA plasmanya menurun (Winarsi *et al.*, 2003). Hal ini membuktikan komponen kedelai berpotensi sebagai antioksidan, baik intraseluler maupun ekstraseluler (Winarsi, 2004a; Winarsi, 2004b; Astuti dan Sutyarso, 2010). Kelompok responden yang memiliki *chance* menderita atherosclerosis juga diperbaiki profil lipidnya (Winarsi, 2007).

Song *et al.*, (2003) menambahkan bahwa isoflavon kedelai akan menampilkan potensinya ketika senyawa tersebut berikatan dengan protein. Dalam penelitiannya juga dilaporkan bahwa kedelai yang dikecambahkan kandungan protein dan isoflavonnya meningkat. Astawan (2003) melaporkan kandungan protein, karbohidrat, dan lemak kedelai terhidrolisis selama proses perkecambahan, sehingga mempermudah proses pencernaan. Kandungan vitamin terlarut seperti vitamin B1, B2, B3, B6, asam folat, B12 dan C, serta vitamin E juga meningkat. Kandungan isoflavon dalam protein kedelai didominasi oleh genistein dan daidzein. Berbeda halnya dengan isoflavon yang terkandung dalam protein kecambah kedelai, dalam molekul tersebut kaya daidzein dan glisitein (Song *et al.*, 2003). Menurut Korc *et al.*, (1981), Hermansen *et al.*, (2001) dan del Carmen Crespillo *et al.*, (2003) protein kecambah kedelai mampu memacu sel pankreas hipertropi, kemudian merangsang sekresi insulin.

Penelitian ini bertujuan mengetahui kandungan protein dan isoflavon dalam kedelai dan kedelai yang telah dikecambahkan.

Metode Penelitian

Kedelai “Slamet” yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Fakultas Pertanian Unsoed. Mula-mula kacang kedelai dicuci bersih, direndam semalam, ditiriskan dalam wadah anyaman bambu, dan diletakkan dalam ruangan cukup lembab. Kedelai lembab dalam wadah sesekali disiram air, sampai mulai berkecambah. Kedelai yang telah berkecambah dibersihkan dari kulit ari. Kedelai ataupun Kecambah kedelai diekstrak dengan NaCl fisiologis hingga terbentuk *slurry*. Kemudian *Slurry* diatur pH 5, disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm. Endapan dipisahkan dan dikeringkan dalam oven suhu 70°C, dihaluskan, hingga diperoleh tepung halus berwarna putih. Tepung isolat protein kedelai (IPK) atau tepung isolat protein kecambah kedelai (IPKK) dianalisis kandungan proteinnya dengan metode Lowry *et al.*, (1951). Pada kondisi alkali (metode Lowry), ion Cu⁺⁺ membentuk kompleks dengan ikatan peptida, kemudian berikatan dengan asam-asam amino penyusun protein. Kandungan isoflavon ditentukan dengan metode Boham dan Kocipai (1994).

Hasil dan Pembahasan

Hasil analisis kandungan protein dan isoflavon dalam isolat protein kedelai (IPK) dan isolat protein kecambah kedelai (IPKK), dibandingkan isolat protein kedelai yang telah dikomersialkan (IPK-c) dapat dilihat pada Tabel 1.

Kadar protein dalam tepung isolat protein kecambah kedelai lebih besar dibanding kadar protein dalam tepung isolat protein kedelai maupun isolat protein kedelai komersial. Temuan ini membuktikan bahwa proses perkecambahan mampu meningkatkan kadar protein. Selama perkecambahan berlangsung terjadi hidrolisis seluruh komponen penyusun kedelai, ikatan-ikatan antarpolymer termasuk protein yang awalnya terikat kuat oleh senyawa lain dapat terbebaskan sehingga kadarnya meningkat (Astawan, 2003). Kandungan asam amino dalam protein kecambah kedelai didominasi oleh arginin (Kanetro *et al.*, 2008). Arginin merupakan asam amino esensial bagi anak-anak, tetapi bagi orang dewasa merupakan asam amino non esensial.

Selain itu, protein kecambah kedelai juga menyediakan asam amino esensial dalam jumlah yang memadai bagi kesehatan manusia. Asam amino esensial protein kecambah kedelai ini kualitasnya tidak berbeda dengan protein dalam susu, telur, dan daging ayam (Krajcovicova-Kudlackova *et al.*, 2005).

Selain asam amino esensial, protein kecambah kedelai juga mengandung asam amino non esensial yang kadarnya lebih tinggi (113%) dibanding kebanyakan protein hewani (100%) (Krajcovicova-Kudlackova *et al.*, 2005). Asam amino non esensial lebih cocok untuk produksi glukagon, sedangkan asam amino esensial berperan menginduksi sekresi insulin (McCarthy, 1999).

Menurut McCarthy (2000) protein legumes (kedelai dan lainnya) lebih lambat diserap dibandingkan protein hewani. Dalam pengujian *single meal*, protein tersebut menunjukkan efek *thermogenic* dan *satiety* lebih besar dibanding karbohidrat (Mikkelsen *et al.*, 2000), artinya bahwa protein kedelai membentuk *calorie expenditure* lebih besar dibanding karbohidrat. Oleh sebab itu, protein kecambah kedelai berpotensi menurunkan berat badan, sehingga bermanfaat bagi penderita obesitas.

Tingginya kandungan asam amino non esensial dalam protein kedelai, akan memacu pelepasan hormon glukagon lebih besar. Hormon glukagon bertanggung jawab menghancurkan enzim penyimpan lemak, meningkatkan metabolisme lemak (pembakaran lemak), serta menurunkan sintesis kolesterol (produksi kolesterol). Dengan demikian diet protein nabati dapat diharapkan menurunkan kadar lipid serum (trigliserida dan kolesterol), dan menurunkan berat badan (Bosello *et al.*, 1988; Jenkins *et al.*,

1989; McCarthy, 1999). Hal yang sama ditemukan Winarsi dan Purwanto (2009) bahwa *Body Mass Index* penderita DMT-2 menurun dari 25,65 kg/m² menjadi 24,84 kg/m² setelah konsumsi protein kecambah kedelai.

Ekstraksi kecambah kedelai secara alami kaya senyawa bioaktif fitokimia, seperti isoflavan, saponin, fitosterol dan tokoferol, yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan (Winarsi, 2007). Menurut Monje *et al.*, (2006), kapasitas *radical scavenging* ekstrak kecambah kedelai lebih tinggi dibanding ekstrak kotiledonnya. Dikatakan pula bahwa hasil akhir ekstraksi kecambah kedelai meningkatkan kadar senyawa bioaktif lebih tinggi dibandingkan produk fermentasi kedelai secara konvensional. Knight dan Eden (1996) dan Liu (1999) menambahkan bahwa beberapa senyawa bioaktif tersebut ditemukan dalam protein kedelai kaya isoflavan.

Isoflavan dalam protein kedelai tersebut adalah genistein dan daidzein (Erdman dan Fordyce, 1989). Genistein dilaporkan oleh banyak ahli memiliki berbagai aktivitas biokimia, seperti menghambat protein tirosin kinase (Akiyama *et al.*, 1987), antioksidan (Winarsi *et al.*, 2003; Winarsi *et al.*, 2004a; Winarsi *et al.*, 2005; Wei *et al.*, 1993), modulasi transforming growth factor- β (TGF- β) (Kim *et al.*, 1998), menghambat DNA-topoisomerase II (Okura *et al.*, 1988), estrogenik lemah (Molteni *et al.*, 1995; Winarsi *et al.*, 2004b), dan secara *in vitro* menghambat aktivasi sel-T (Atluru dan Atluru, 1991; Atluru dan Gudapaty, 1993). Kenyataannya isoflavan menampakkan potensinya ketika senyawa tersebut berikatan dengan protein. Oleh sebab itu, meningkatnya protein selama perkecambahan juga meningkatkan kandungan isoflavan didalamnya (Tabel 2).

Tabel 1. Kadar protein dan isoflavan IPK, IPKK, dan IPK-c (*).

Komponen	IPK	IPKK	IPK-c
Protein (%)	36,5	42,0	39,4
Isoflavan (ppm)	26,7	39,1	34,3

(*) nilai rata-rata dari 3 kali ulangan.

Tabel 2. Jenis isoflavan dalam IPK, IPKK, dan IPK-c.

Isoflavan (ppm)	IPK	IPKK	IPK-c
a. Genistein	11,5	14,6	11,8
b. Daidzein	10,2	16,9	16,0
c. Glisitein	5,0	7,6	6,5
Total	26,7	39,1	34,3

Keterangan: IPK, isolat protein kedelai; IPKK, isolat protein kecambah kedelai; IPK-c, isolat protein kedelai yang telah dikomersialkan.

Kandungan isoflavon dalam isolat protein kecambah kedelai didominasi oleh daidzein dan glisitein, sedangkan dalam isolat protein kedelai didominasi oleh genistein dan daidzein. Kandungan glisitein dalam tepung isolat protein kecambah kedelai paling besar dibandingkan dalam isolat protein kedelai. Hasil penelitian ini mendukung temuan Song *et al.*, (2003). Dalam penelitian ini yang menarik adalah isoflavon dalam isolat protein kecambah kedelai didominasi daidzein kemudian glisitein. Tampaknya isoflavon glisitein lebih tereksplorasi ketika biji kedelai dikecambahkan, dibandingkan kedelai yang tidak dikecambahkan. Temuan ini memperjelas bahwa proses perkecambahan mampu mendegradasi seluruh komponen di dalamnya termasuk komponen penyusun isoflavon.

Selama masa inkubasi, kecambah kedelai mampu mengubah profil isoflavon terkonjugasi dan saponinnya. Konformasi isoflavon terglukosilasi menjadi aglikon, yang ditunjukkan oleh aktivitas beta glukosidase. Hasil penelitian sebelumnya mengatakan bahwa produk fermentasi kedelai kaya isoflavon aglikon (Tsangalis *et al.*, 2002). Perubahan konformasi ini penting mengingat bioavailabilitas dan metabolisme isoflavon berkaitan erat dengan struktur molekulnya.

Beberapa penelitian pada manusia membuktikan bahwa isoflavon diet diserap lebih efisien sebagai bentuk aglikon dibandingkan bentuk glukosida (Izumi *et al.*, 2000). Namun dalam hal sistem pencernaan, isoflavon lebih baik dicerna sebagai bentuk terkonjugasi, karena glukosida berperan sebagai gugus protector untuk mengantisipasi terjadinya biodegradasi isoflavon sebelum mencapai usus (Zubik dan Meydani, 2003). Oleh sebab itu, selama perkecambahan kedelai, perlu waktu inkubasi yang tepat, supaya kadar bioaktif isoflavon terkonjugasi dan aglikon dapat dikontrol.

Menurut Hubert *et al.*, (2008) glisitein merupakan isoflavon yang mampu meredam radikal oksigen paling besar di antara jenis isoflavon lainnya. Beberapa ahli menambahkan bahwa molekul aglikon glisitein berperan penting dalam pencegahan penyakit yang berkaitan dengan oksidasi termasuk atherosclerosis, hipertensi (Park *et al.*, 2005), kanker mammae (DiSilvestro *et al.*, 2005), maupun *inflammatory*

bowel syndrome (Wiseman, 2006). Dengan demikian, perlakuan perkecambahan ini akan melengkapi potensi kedelai bagi kesehatan melalui kandungan glisiteinnya.

Selama ini para peneliti lebih tertarik untuk menelusuri potensi isoflavon genistein, dan daidzein. Isoflavon tersebut terbukti sebagai antioksidan (Winarsi *et al.*, 2004a; Winarsi *et al.*, 2005; Wiseman *et al.*, 1998), imunostimulan (Winarsi *et al.*, 2004a), maupun penginduksi estrogen endogenus (Winarsi *et al.*, 2004b). Tampaknya potensi isoflavon glisitein belum menjadi perhatian para peneliti. Dengan demikian, ke depannya terbuka kesempatan luas untuk mengungkap potensi glisitein.

Selain kandungan isoflavon dan protein, dalam tepung protein kedelai juga terdapat saponin. Saponin merupakan komponen kedelai lain yang terglukosilasi, strukturnya dipengaruhi oleh proses perkecambahan. Aktivitas biologis saponin bergantung pada konformasinya, terutama oleh panjang, jumlah dan komposisi gula rantai sampingnya (Gurfinkel dan Rao, 2003). Saponin berkonjugasi dengan gugus 2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4Hpyran-4-one (DDMP), yang secara progresif berubah menjadi non-DDMP selama inkubasi. Mikroorganisme yang ada di dalamnya dapat melipat bagian DDMP kemudian mengubah gugus b-saponin menjadi maltol. Terbentuknya senyawa maltol memperbaiki *taste* ekstrak kecambah kedelai lebih manis dibanding sebelumnya (Okubo *et al.*, 1992). Hubert *et al.*, (2008) juga melaporkan bahwa saponin mengalami sedikit penurunan glukosilasi, mungkin karena senyawa gula terhidrolisis secara enzimatik, kemudian berubah menjadi struktur lain yang belum teridentifikasi.

Komponen bioaktif fitosterol dan tokoferol secara signifikan juga berubah selama perkecambahan. Setelah 48 jam inkubasi, lebih dari 85% tokoferol terdegradasi. Diduga adanya oksigen yang terlarut dalam media inkubasi mendorong terjadinya perubahan tersebut. Perubahan terjadi pada lingkungan kaya oksigen, karena substrat terpapar sinar UV ataupun panas, sehingga dalam jumlah yang tertentu fitosterol hilang selama perkecambahan.

Ekstrak kecambah kedelai berpotensi *scavenging* terhadap radikal oksigen. Dikatakan pula bahwa korelasi kadar isoflavon aglikon dan efek *scavenging* radikal anion superoksida

adalah linier (Russo *et al.*, 2006). Isoflavon menghambat kerusakan oksidatif DNA yang diinduksi oleh sinar UV melalui mekanisme *SOD-like*. Hasil ini sangat menarik karena radikal anion superoksida merupakan prekursor intrasel yang potensial sebagai senyawa oksigen reaktif yang sangat berbahaya, sehingga keberadaannya harus dikendalikan.

Isoflavon diketahui merupakan senyawa protektor yang potensial melawan berbagai penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif. Aktivitasnya sangat tergantung pada jumlah dan posisi gugus hidroksil yang mampu menstabilkan radikal fenoksil yang dibentuk oleh hidrogen. Hubert *et al.*, (2008) menemukan genistein dan daidzein aktivitas antioksidannya cenderung sama, sedangkan glisitein aktivitasnya berbeda dari yang lain, karena adanya gugus methoxil pada cincin fenolat. Melalui methilasi, glisitein membloking radikal hidroksil lebih besar dibandingkan dengan daidzein maupun genistein (Ruffer dan Kulling, 2006). Dari berbagai pendapat di atas, tampak bahwa glisitein yang banyak ditemukan dalam tepung isolat protein kecambah kedelai sangat berpotensi sebagai komponen *enrichment* produk pangan fungsional, untuk diberikan kepada penderita penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif.

Simpulan dan Saran

Simpulan

Kedelai yang dikedambahkan mengandung protein dan isoflavon lebih tinggi dibanding kedelai yang tidak dikedambahkan. Kandungan isoflavon dalam protein kecambah kedelai didominasi oleh daidzein dan glisitein. Kandungan protein kedelai didominasi genistein dan daidzein.

Saran

Kecambah kedelai mudah dibuat maupun diupayakan, karena banyak dijumpai di pasar, dengan harga yang relatif murah. Dengan mengonsumsi bahan makanan tersebut dapat meningkatkan asupan gizi protein dan isoflavon yang diyakini bermanfaat bagi kesehatan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis berterima kasih kepada Ditbinlitabmas Dirjen Dikti atas pendanaan penelitian melalui proyek Hibah Kompetensi Nomor Kontrak 012/HIKOM /DP2M/2008.

Daftar Pustaka

- Akiyama, T., Ishida, J., Nakagawa, S., Ogawara, H., Watanabe, S., Itoh, N., Shibuya, M. dan Fukami, Y. 1987. Genistein, a Specific Inhibitor of Tyrosine-specific Protein Kinases. *J. Biol. Chem.*, 262: 5592–5595.
- Astawan, M. 2003. Mari, Ramai-ramai Makan Tauge..! <http://www.kompas.com/kehatan/news/0304/23/003738.htm>. 20/01/2008.
- Astuti, S. dan Sutjarso. 2010. Pengaruh Tepung Kedelai Kaya Isoflavon terhadap Testosteron Serum, Jumlah Sel Leydig dan Jumlah Sel Spermatogenik pada Tubuli Seminiferi Testis Tikus (*Rattus norvegicus*). *Biota*, 15 (1): 31–40.
- Atluru, S. dan Atluru, D. 1991. Evidence that Genistein, a Protein-tyrosine Kinase Inhibitor, Inhibits CD28 Monoclonal-antibody-stimulated Human T Cell Proliferation. *Transplantation*, 51: 448–450.
- Atluru, D. dan Gudapaty, S. 1993. Inhibition of Bovine Mononuclear Cell Proliferation, Interleukin-2 Synthesis, Protein-tyrosine Kinase and Leukotriene B4 Production by a Protein-Tyrosine Kinase Inhibitor, Genistein. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 38: 113–122.
- Boham, A.B. dan Kocipai, A.C. 1994. Flavonoid and Condensed Tannins from Leaves of Hawaiian *Vaccinium Vaticulum* and *Vicalycinium*. *Pacific Sci.*, 48: 458–463.
- Bosello, O., Cominacini, L., Zocca, L., Garbin, U., Compri, R., Davoli, A. dan Brunetti, L. 1998. Short and Long-term Effects of Hypocaloric Diets Containing Proteins of Different Sources on Plasma Lipids and Apoproteins of Obese Subjects. *Ann Nutr Metab.*, 32: 206–214.
- del Carmen Crespillo, M., Oliveira, G., de Adana, M.S., Rojo-Martinez, G., Garcia-Aleman, J., Olvera, P., Soriguer, F. dan Munoz, A. 2003. Metabolic Effects of an Enteral Nutrition Formula for Diabetes: Comparison with Standard Formulas in Patients with Type 1 Diabetes. *Clin Nutr.*, 22: 483–487.
- DiSilvestro, R.A., Goodman, J., Dy, E. dan Lavalley, G. 2005. Soy Isoflavone Supplementation Elevates Erythrocyte Superoxide Dismutase, But Not Plasma Ceruloplasmin in Postmenopausal Breast Cancer Survivors. *Breast Cancer Research Treatment.*, 89 (3): 251–255.

- Djukri. 2005. Pengaruh Perbedaan Jarak Tanam terhadap Pertumbuhan Tiga Varietas Kedelai (Baluran, Bromo, & Galunggung). *Biota*, X (3): 176–182.
- Erdman, J.W.Jr dan Fordyce, E.J. 1989. Soy Products and the Human Diet. *Am. J. Clin. Nutr.*, 49: 725–737.
- FAO/WHO/UNU Expert Consultation. 1985. Energy and Protein Requirements. Geneva: World Health Organization.
- Food dan Drug Administration. 1991. Federal Register. 21 CFR, Part 101 *et al.*, Part III. Food Labeling.
- Gurfinkel, D.M. dan Rao, A.V. 2003. Soyasaponins: The Relationship between Chemical Structure and Colon Anticarcinogenic Activity. *Nutrition and Cancer.*, 47: 24–33.
- Hermansen, K., Sondergaard, M., Hoie, L., Carstensen, M. dan Brock, B. 2001. Beneficial Effects of a Soy-based Dietary Supplement on Lipid Levels and Cardiovascular Risk Markers in Type 2 Diabetic Subjects. *Diabetes Care*, 24: 228–233.
- Howe, J.C. 1990. Postprandial Response of Calcium Metabolism in Postmenopausal Women to Meals Varying in Protein Level/Source. *Metabolism.*, 39: 1246–1252.
- Hubert, J., Berger, M., Nepveu, F., Paul, F. dan Daydé, J. 2008. Effects of Fermentation on the Phytochemical Composition and Antioxidant Properties of Soy Germ. *Food Chemistry*, 109 (4): 709–721.
- Izumi, T., Osawa, S., Obata, A., Tobe, K. dan Saito, M. 2000. Soy Isoflavone Aglycones are Absorbed Faster and in High Amounts Than Their Glucosides in Humans. *J. Nutr.*, 130: 1695–1699.
- Jenkins, D.J.A., Wolever, T.M.S., Spiller, G., Buckley, G., Lam, Y., Jenkins, A.L. dan Josse, R.G. 1989. Hypocholesterolemic Effect of Vegetable Protein in a Hypocaloric Diet. *Atherosclerosis*, 78: 99–107.
- Kanetro, B., Noor, Z., Sutardi dan Indrati, R. 2008. Potensi Protein Kecambah Kedelai dalam Menstimulasi Sekresi Insulin pada Pankreas Tikus Normal dan Diabetes. *Agritech*, 28 (2): 50–57.
- Kim, H., Peterson, T.G. dan Barnes, S. 1998. Mechanisms of Action of The Soy Isoflavone Genistein: Emerging Role for its Effects Via Transforming Growth Factor Beta Signaling Pathways. *Am. J. Clin. Nutr.*, 68: 1418S–1425S.
- Knight, D.C. dan Eden, J.A. 1996. A Review of The Clinical Effects of Phytoestrogens. *Obstet. Gynecol.*, 87: 897–904.
- Korc, M., Owerbach, D., Quinto, C. dan Rutter, W.J. 1981. Pancreatic Islet-acinar Cell Interaction: Amylase Messenger RNA Levels are Determined by Insulin. *Science.*, 213: 351–353.
- Krajcovicova-Kudlackova, M., Babinska, K. dan Valachovicova, M. 2005. Health Benefits and Risks of Plant Proteins. *Bratisl Lek Listy.*, 106 (6–7): 231–234.
- Lang, V., Bellisle, F., Alamowitch, C., Craplet, C., Bornet, F.R., Slama, G. dan Guy-Grand, B. 1999. Varying the Protein Source in Mixed Meal Modifies Glucose, Insulin and Glucagon Kinetics in Healthy Men, has Weak Effects on Subjective Satiety and Fails to Affect Food Intake. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 53: 959–965.
- Lang, V., Bellisle, F., Oppert, J.M., Craplet, C., Bornet, F. R., Slama, G. dan Guy-Grand, B. 1998. Satiating Effect of Proteins in Healthy Subjects: a Comparison of Egg Albumin, Casein, Gelatin, Soy Protein, Pea Protein, and Wheat Gluten. *Am. J. Clin. Nutr.*, 67: 1197–1204.
- Liu, K. 1999. Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization 1999 Aspen Publishers Gaithersburg, MD.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. dan Randall, R.J. 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *J. Biol. Chem.*, 193 (1): 265–75.
- McCarthy, M.F. 1999. Vegan Proteins may Reduce Risk of Cancer, Obesity, and Cardiovascular Disease by Promoting Increased Glucagons Activity. *Med. Hypotheses.*, 53 (6): 459–485.
- McCarthy, M.F. 2000. The Origins of Western Obesity: a Role for Animal Protein? *Med. Hypotheses.*, 54 (3): 488–494.
- Mikkelsen, B., Toubro, S. dan Astrup, A. 2000. Effect of Fat-reduced Diets on 24-h Energy Expenditure: Comparisons between Animal Protein, Vegetable Protein, and Carbohydrate. *American J. of Clinical Nutrition.*, 72 (5): 1135–1141.
- Molteni, A., Brizio-Molteni, L. dan Persky, V. 1995. In Vitro Hormonal Effects of Soybean Isoflavones. *J. Nutr.*, 125: 751S–756S.
- Monje, M.C., Berger, M., Farines, V., Reybier, K., Verger, A., Dayde, J., Théodorou, V. dan Nepveu, F. 2006. Antioxidant Capacity of Cotyledons and Germs of Soybean in Relation to Their Isoflavone Content. *Biotechnol.*, 44 (4): 493–498.
- Okubo, K., Ijima, M., Kobayashi, K., Yoshikoshi, M., Uchida, T. dan Kudou, S. 1992. Components Responsible for the Undesirable Taste of Soybean Seeds. *Bios. Biotech. and Biochem.*, 56: 99–103.
- Okura, A., Arakawa, H., Oka, H., Yoshinari, T. dan Monden, Y. 1988. Effect of Genistein on Topoisomerase Activity and on the Growth of [Val 12] Ha-ras-transformed NIH 3T3 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 157: 183–189.

- Park, E., Shin, J.I., Park, O.J. dan Kang, M.H. 2005. Soy Isoflavone Supplementation Alleviates Oxidative Stress and Improves Systolic Blood Pressure in Male Spontaneously Hypertensive Rats. *J. of Nutritional Science and Vitaminology*, 51 (4): 254–259.
- Ruffer, C. dan Kulling, S.E. 2006. Antioxidant Activity of Isoflavones and Their Major Metabolites using Different in Vitro Assays. *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (8): 2926–2931.
- Russo, A., Cardile, V., Lombardo, L., Vanella, L. dan Acquaviva, R. 2006. Genistin Inhibits UV Light-induced Plasmid DNA Damage and Cell Growth in Human Melanoma Cells. *J. of Nutritional Biochemistry*, 17 (2): 103–108.
- Sanchez, A. dan Hubbard, R.W. 1991. Plasma Amino Acids and the Insulin/glucagon Ratio as an Explanation for the Dietary Protein Modulation of Atherosclerosis. *Med Hypoth*, 36: 27–32.
- Song, T., Lee Sun-Ok, Murphy, P.A. dan Hendrich, S. 2003. Soy Protein with or Without Isoflavones, Soy Germ and Soy Germ Extract, and Daidzein Lessen Plasma Cholesterol Levels in Golden Syrian Hamsters. *Experimental Biology and Medicine*, 228: 1063–1068.
- Tsangalis, D., Ashton, J.F., McGill, A.E.J. dan Shah, N.P. 2002. Enzymic Transformation of Isoflavone Phytoestrogens in Soymilk by Beta-glucosidase-producing Bifidobacteria. *J. of Food Science*, 67 (8): 3104–3113.
- Wei, H., Wei, L., Frenkel, K., Bowen, R. dan Barnes, S. 1993. Inhibition of Tumor Promoter-induced Hydrogen Peroxide Formation in Vitro and in Vivo by Genistein. *Nutr. Cancer*, 20: 1–12.
- Winarsi, H. 2004a. Status Antioksidan Enzimatis Intraseluler dan Ekstraseluler Wanita Premenopause yang disuplementasi dengan isoflavon kedelai & Zn. Seminar Nasional dan Kongres PATPI. Jakarta, 17–18 Desember 2004.
- Winarsi, H. 2004b. Minuman fungsional yang Disuplementasi Isoflavon Kedelai dan Zn, Sebagai Imunostimulan Bagi Wanita Premenopause. Proseding Seminar Nasional Pangan Fungsional Indigenous Indonesia: Potensi, Regulasi, Keamanan, Efikasi dan peluang Pasar. Bandung, 6–7 Oktober.
- Winarsi, H. 2007. Isoflavon Kedelai yang Diperkaya dengan Zn sebagai Antiaterosklerosis pada Wanita Premenopause. *Biota*, 12 (2): 70–77.
- Winarsi, H., Muchtadi, D., Zakaria, F.R. dan Purwantara, B. 2003. Status Antioksidan Wanita Premenopause yang Diberi Minuman Suplemen “Susumeno”. *Proseding Seminar Nasional PATPI*. Yogyakarta. 22–23 Juli 2003.
- Winarsi, H., Muchtadi, D., Zakaria, F.R. dan Purwantara, B. 2004a. Respons Hormonal-imunitas Wanita Premenopause yang Diintervensi Minuman Fungsional Berbasis Susu Skim yang Disuplementasi Isoflavon Kedelai & Zn. *J. Teknol Industri Pangan*, 15 (1): 28–34.
- Winarsi, H., Muchtadi, D., Zakaria, F.R. dan Purwantara, B. 2004b. Efek Susu Skim yang Disuplementasi Isoflavon Kedelai dan Zn terhadap Sindrom Menopause pada Wanita Premenopause. *J. Teknol Industri Pangan*, 15 (3): 179–187.
- Winarsi, H., Muchtadi, D., Zakaria, F.R. dan Purwanto, A. 2005. Efek Suplementasi Zn terhadap Status Imun Wanita Premenopause yang Diintervensi dengan Minuman Berisoflavon. *J. Hayati*, 12 (2): 82–85.
- Winarsi, H. dan Purwanto, A. 2009. Efek Protein Kecambah Kedelai terhadap *Body Mass Index* Wanita Penderita DMT-2 di Purwokerto. *Laporan Hibah Kompetensi I*. Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto.
- Wiseman, A. 2006. Crohn’s Disease Leading to Bowel Cancer may be Avoided by Consumption of Soya Isoflavones: Adjunct-chemotherapy with Oxaliplatin. *Medical Hypotheses*, 66 (5): 934–935.
- Wiseman, H., O’Reilly, J., Lim, P., Garnett, A.P., Huang, W.C. dan Sanders, T.A.B. 1998. Antioxidant Properties of the Isoflavone Phytoestrogen Functional Ingredient in Soya Products. In: Sadler, M. & Saltmarsh, M. (Eds.). *Functional Foods, the Consumer, the Products and the Evidence*. Cambridge, United Kingdom: Royal Society of Chemistry: 80–86.
- Zubik, L. dan Meydani, M. 2003. Bioavailability of Soybean Isoflavones from Aglycone and Glucoside Forms in American Women. *Am J. Clin Nutr.*, 77 (6): 1459–1465.